



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Desarrollo y validación del método analítico para evaluación de perfiles de disolución y determinación del contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas por espectrofotometría UV

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

CÁRDENAS OLVERA EDITH

ASESORES:

DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO

Q.F.B. JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2012.



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Desarrollo y Validación de un método analítico para evaluación de perfiles de disolución y determinación
Del contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas por espectrofotometría UV

Que presenta el pasante: Edith Cárdenas Olvera

Con número de cuenta: 406018717 obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

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 ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de febrero de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Raquel López Arellano	
VOCAL	Dra. Gabriela Vargas Martínez	
SECRETARIO	QBP. Martha Elena García Corrales	
1er SUPLENTE	M. en C. Miriam Aidé Castillo Rodríguez	
2do SUPLENTE	M. en C. María Zaida Urbán Morlán	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm

AGRADECIMIENTOS

A mis *padres y hermanos* por haberme apoyado en todos los aspectos, especialmente durante el transcurso de la carrera de Q.F.B. y la paciencia que me tuvieron sobre todo durante el periodo que estuve realizando mi tesis y quienes se convirtieron en el uno de los mayores motivos para realizar la licenciatura, los cuales siempre me impulsan para seguir mis sueños.

A mi novio y amigo; *Michael Becerril Barrionuevo*, por estar con migo, apoyarme, brindarme su cariño, compartir momentos inolvidables, por esperarme horas y horas después de clase, por tenerme tanta paciencia y muchas cosas más.

A ti *Janette Ramírez Lonngi*, por ser una gran amiga y un gran apoyo durante estos 6 años, donde hemos compartido tantas cosas; alegrías, tristezas y desvelos, me dio mucho gusto conocerte, tener tu amistad, gracias por ayudarme y tenerme paciencia al explicarme cosas que no entendía.

A *Mariana Dolores* por darme su amistad y sobre todo por ser una excelente compañera, por haber ayudarme en mi proyecto, lavar mi material para poder terminar a tiempo, por esperarme, por pasar hambres con migo, por ayudarme a validar mi método, por tantos momentos agradables y tantas cosas más, mejor que tu no hay otra, gracias.

A *Uriel Jerssain Baltazar* por ser buen compañero de equipo durante mi tesis y amigo, por escucharme, darme ánimos, escribirme canciones, hacerme reír, confiar en mí durante nuestro trabajo, por no llegar “tarde”, por contagiarme de la gripe.

A *todos mis amigos* porque gracias a ellos mi permanencia en la universidad fue más agradable, porque no solo compartimos trabajo y esfuerzo si no también momentos y recuerdos maravillosos.

A mi profesor y asesor *José Antonio Garduño Rosas* que con su paciencia me ayudo a la realización de esta tesis, resolviendo todas mis dudas, y sobre todo por haber sido un gran profesor.

A la doctora *Raquel López Arellano* por haberme brindado todo su apoyo, su ayuda, su tiempo y la confianza que deposito en mí durante todo el periodo que estuve realizando esta tesis y principalmente por ser una gran persona y una gran guía.

Al profesor *Juan José Díaz Esquivel* por su paciencia, apoyo y confianza.

A la profesora *Elvia Adriana Morales Hipólito* por haberme brindado su apoyo y ayuda en gran parte de esta tesis.

A los integrantes de mi jurado por haberse tomado el tiempo para ayudarme en la conclusión de mi tesis, resolviendo mis dudas y algunos de ustedes por haber aportado una gran parte a mi formación académica.

Solo me resta decirles *gracias!*, por haber formado parte importante en mi vida.

Fighting ! ...

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. OBJETIVOS.....	7
2.1. OBJETIVO GENERAL	8
2.2. OBJETIVOS PARTICULARES	8
4.1 GENERALIDADES DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	10
4.1.2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	10
4.1.3. ESTABILIDAD DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	11
4.1.4. INDICACIONES TERAPÉUTICAS DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	12
4.1.5. MECANISMOS DE ACCIÓN	12
4.1.6 PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS	12
4.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	13
4.2.1. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	14
4.3. ESPECTROFOTOMETRÍA UV	19
4.3. QUIMIOMETRÍA.....	21
4.3.1. ANÁLISIS MULTIVARIANTE	22
4.3.2. REGRESIÓN LINEAL MULTIVARIANTE POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES	24
4.3.3. CALIBRACIÓN	25
4.3.4. ETAPA DE PREDICCIÓN	26
4.3.5. VENTAJAS DEL MÉTODO MULTIVARIANTE POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES	26
4.3.6. LIMITACIONES DEL MÉTODO DE PLS.....	27
4.4. ASPECTOS GENERALES DE LA DISOLUCIÓN	27
4.4.1. PERFILES DE DISOLUCIÓN	28
4.4.2. APARATOS PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN	28
4.4.3. CONDICIONES DE ENSAYO PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN	30
4.4.4. APLICABILIDAD DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN	31
4.4.5. FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN DE LOS FÁRMACOS.....	32
4.5. MEDICAMENTOS GENÉRICOS	35
4.6. ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA.....	35
4.6.1 SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA	36
4.6.2. CORRELACIÓN <i>IN VIVO</i> - <i>IN VITRO</i>	36
4.6.3. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SIMILITUD DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN	37
4.6.3.1. FACTOR SIMILITUD	37
4.6.4. ESPECIFICACIONES DE DISOLUCIÓN PARA PRODUCTOS GENÉRICOS	38
4.7. MARCO LEGAL	38

5. PLANTEAMIENTO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	40
5.1. MATERIAL	41
5.2. EQUIPOS	41
5.3 REACTIVOS.....	42
2.4. SOFTWARES	42
6. RESU ANALISIS DE RESULTADOS.....	44
6.1. DESARROLLO DEL METODO	45
6.1.1 SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE PRUEBA	45
6.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN	53
6.2.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA	53
6.2.1.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA	53
6.2.1.3. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL SISTEMA	55
6.2.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	56
6.2.2.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA EL PRODUCTO DE PRUEBA.....	56
6.2.2.1.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO.....	56
6.2.2.1.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO	59
6.2.2.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA EL PRODUCTO DE REFERENCIA (ASPIRINA).....	60
6.2.2.2.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO.....	60
6.2.2.2.2 PRECISIÓN Y EXACTITUD	63
6.2.3. ESTABILIDAD	63
6.2.4. EESPECIFICIDAD	65
6.2.5. PRECISIÓN INTERMEDIA	68
6.2.6. SENSITIVIDAD	70
6.2.7. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	71
6.2.8. ROBUSTEZ.....	72
6.2.9. TOLERANCIA	73
6.2.10. VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DISLUCIÓN	74
6.2.10.1. VALIDACIÓN DE LA DISOLUCIÓN 1/25	74
6.2.10.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD	76
6.2.11. VALIDACIÓN DE LA DILUCIÓN 1/10	77
6.3. APLICACIÓN DEL MÉTODO PARA ESTUDIO DE DISOLUCIÓN DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN TABLETAS	79

6.3.1. COMPARACIÓN DE PERFILES DE DISOLUCIÓN DEL PRODUCTO DE PRUEBA Y DE REFERENCIA.....	92
6.3.2. PERFILES DE DISOLUCIÓN EN EL APARATO II USP.	96
6.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTENIDO DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN TABLETAS DEL PRODUCTO DE PRUEBA.....	100
6.4.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA	100
6.4.1.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.....	100
6.4.1.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL SISTEMA	102
6.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	103
6.5.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO	103
6.5.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO.....	105
6.5.3. SELECTIVIDAD	106
6.5.4. PRECISIÓN INTERMEDIA.....	106
6.5.5. ROBUSTEZ.....	108
6.5.4. INFLUENCIA DEL FILTRO	109
6.6. APLICACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTENIDO DE ASA EN TABLETAS.....	110
7. CONCLUSIONES.....	112
8.- ABREVIATURAS	114
9. ÍNDICE DE TABLAS.....	115
10. ÍNDICE DE FIGURAS.....	118
11. REFERENCIAS	121
12. ANEXOS	123



1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de métodos para el análisis de preparaciones farmacéuticas es crítico en la industria farmacéutica, debido a que implica una elección apropiada de los métodos a utilizar, basada en su aplicación, sus ventajas y sus limitantes, para ello hay una serie de criterios que deben tomarse en cuenta como son, las características fisicoquímicas del fármaco y de los demás componentes de la formulación, así como la disponibilidad de instrumentos, equipos, materiales, la rapidez con la que se obtienen los resultados, la sencillez y el costo.

Al desarrollar un nuevo producto, implica que también se debe desarrollar o adecuar un método que permita la determinación de contenido químico, que nos permita avalar que tan eficientes son los procedimientos de manufactura. Cuando los recursos son limitados y no se cuenta con un método o bien con las condiciones establecidas en la FEUM, se sugiere el desarrollo de alternativas simples y confiables que proporcionen resultados exactos, precisos con un aumento en el rendimiento y una menor intervención humana (M. Blanco, 2005), lo que significa que estos métodos deben ser validados.

La validación es el proceso que determina la capacidad del método para proporcionar datos confiables a partir del análisis (Taylor, 1983). La exactitud y fiabilidad de los resultados son fundamentales para garantizar la calidad, seguridad y eficacia de los productos farmacéuticos. Para lograr resultados viables, el analista debe ser consciente del significado fundamental de los parámetros de rendimiento, cálculos, pruebas y su relación con su aplicación específica (Ermer, 2004). En general, la validación nos va a proporcionar de manera muy específica las características del método analítico como son la especificidad, linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad, selectividad, repetitividad, robustez y reproducibilidad. Todos los parámetros de validación se deben encontrar dentro del rango de aceptación y concordantes con las directrices ICH Q2 (R1) y la Guía de validación del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.

La guía ICH Q2 (R1) **VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES** menciona que la validación se dirige principalmente a cuatro procesos analíticos; pruebas de identificación, pruebas para el contenido de impurezas, pruebas límites para control de impureza y pruebas para cuantificar contenido químico en productos farmacéuticos, enfatizando que puede también ser utilizado para otros procedimientos de análisis igualmente importantes, como las pruebas de disolución a fin de garantizar la calidad de los medicamentos.

Las pruebas de disolución para formas farmacéuticas sólidas para administración oral, son necesarias para el lanzamiento de nuevos productos, en este caso se van a comparar dos productos; un medicamento de referencia, es decir, aquel producto con registro, que ha demostrado eficacia y seguridad, y un producto al que se le desea comprobar su equivalencia, refiriéndonos a este como un producto de prueba. La evaluación de los perfiles de disolución, pretende demostrar mediante el factor de similitud (f_2) que los medicamentos son equivalentes, (esto es solo aplicable si el medicamento está clasificado como "B"). Este factor es un método matemático, resultante de la transformación logarítmica de la suma de los cuadrados del error de las diferencias entre los porcentajes del principio activo disuelto del producto evaluado y el de referencia, que se ha tomado como argumento de similitud entre perfiles de disolución (González, 2006), por tanto la NOM-177-SSA1-1998 establece, que si los valores de f_2 se encuentran entre 50 y 100, entonces los perfiles de disolución serán considerados como similares.

La velocidad de disolución está relacionada con la cantidad de fármaco que se absorbe en el organismo, por lo que este estudio se realiza para garantizar la seguridad y eficacia de los productos farmacéuticos, destacando la importancia de que el método de disolución respalde datos reproducibles aun cuando se realice en laboratorios distintos o por personal diferente, por lo que las variables que influyen en la prueba deben ser claramente comprendidas y controladas en la medida de lo posible (Ciprián, 2005).

Por otra parte la espectrofotometría es una técnica universal, sencilla y rápida, siendo apropiada para el análisis de rutina en métodos analíticos y comparada con otras técnicas muy utilizadas en la industria farmacéutica, suele ser menos costosa, razón por la cual se recurre a ella con frecuencia. Entre sus aplicaciones está el análisis de mezclas de dos o más componentes, en este caso se debe tener especial cuidado en el método a utilizar, procurando sea adecuado, tomando en cuenta las limitantes que presenta el instrumento.

Finalmente, es responsabilidad del analista establecer el procedimiento de validación y protocolo que va a seguir, procurando que sea lo más adecuado para su producto (Trivedi, 2010) y que el método analítico a utilizar se ajuste a las condiciones y recursos con los que se cuenta en el laboratorio.

OBJETIVOS



2.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar y validar dos métodos analíticos, uno para determinar ácido acetilsalicílico en tabletas y otro para cuantificar la aspirina disuelta en muestras de perfiles de disolución, ambos por espectrofotometría UV.

2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las condiciones de ensayo para determinar el contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.
- Determinar las condiciones experimentales, para determinar el contenido de ácido acetilsalicílico en muestras provenientes de un perfil de disolución de un producto de formulación conocida y de un producto donde se desconoce la formulación.
- Validar los métodos de análisis definidos para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas, contenido de ASA en muestras de perfiles de disolución de una formulación conocida y muestras de perfiles de disolución de una formulación desconocida, de acuerdo a la Guía de Validación del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos y NOM-177-SSA1-1998.

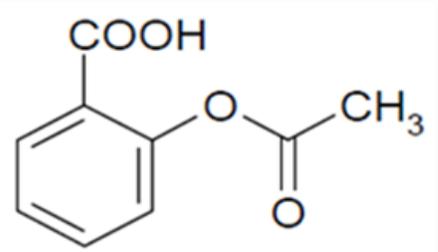
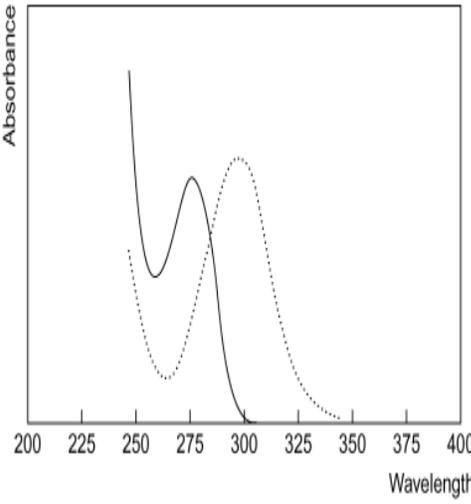
MARCO TEORICO



4.1 GENERALIDADES DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

4.1.2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Tabla 1. Propiedades físicoquímicas del ácido acetilsalicílico (Moffat, 2004).

Ácido acetilsalicílico ó Ácido 2-(acetiloxi)-benzoico	Propiedades físicoquímicas	
	Forma	Cristales blancos
	Fórmula condensada	$C_9H_8O_4$
	Peso molecular	180.2 g/mol
	Punto de fusión	132-136 °C
	Densidad	1.4 g/mol
	pKa	3.5 a 25 °C
	Naturaleza química	Ácido débil
	Coefficiente de partición	Octanol /Buffer pH 7.4: -1.1
	Solubilidad 1 g de ácido acetilsalicílico se disuelve en:	300 mL de agua a 25°C
		100 mL de agua a 37°C
		5 mL de etanol
		17 mL de cloroformo
		13 mL de éter
Espectro de absorción	Propiedades espectrales	
	Coefficiente de Absortividad	
	Solución ácida	230 ($A_1^1=466a$) 278 ($A_1^1=68a$)
	Solución alcalina	231 ($A_1^1=409b$) 298 nm ($A_1^1=190b$)
Espectro de absorción del ASA en la región UV en medio ácido (Anthony C, 2008).		

4.1.3. ESTABILIDAD DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Existen diversas rutas de degradación del ácido acetilsalicílico, a continuación se muestra un esquema general de estas rutas.

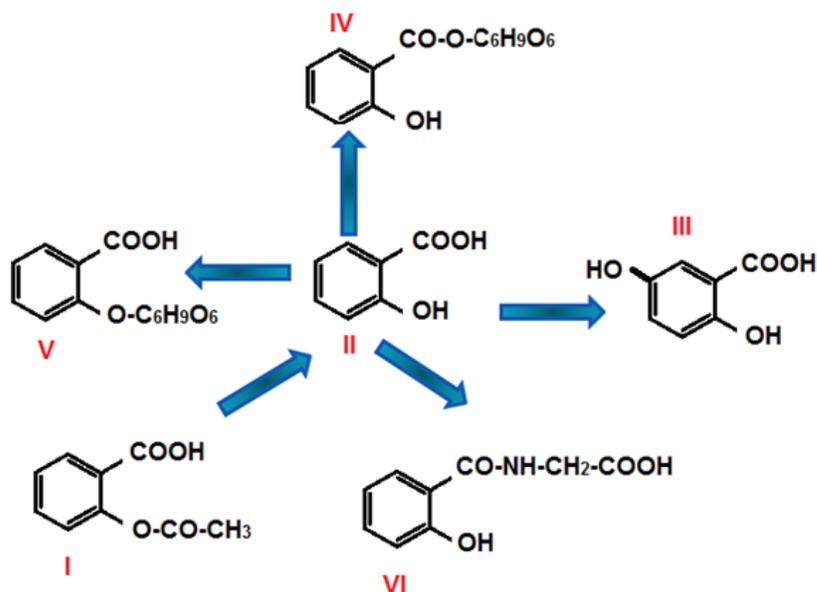


Figura 1. Rutas de degradación del ácido acetilsalicílico.

- I.-Ácido acetilsalicílico
- II.-Ácido salicílico
- III.-Ácido salicílico
- IV.-Glucuronidos. conjugación
- V.-Glucuronidos. conjugación
- VI.- Ácido Ginsésico.Hidroxilación

La hidrólisis es uno de los mayores problemas a los que nos enfrentamos cuando se trabaja con el ácido acetilsalicílico, debido a que sufre una reacción de primer orden entre el grupo éster, esta reacción se ve favorecida principalmente a pH alcalinos, de tal manera que es catalizada por iones hidroxilo y carbonatos, mientras que a valores de pH de 2 a 3 permanece estable.

El ácido acetilsalicílico se hidroliza con facilidad en contacto con la humedad y a elevadas temperaturas, dando origen al ácido salicílico y ácido acético.

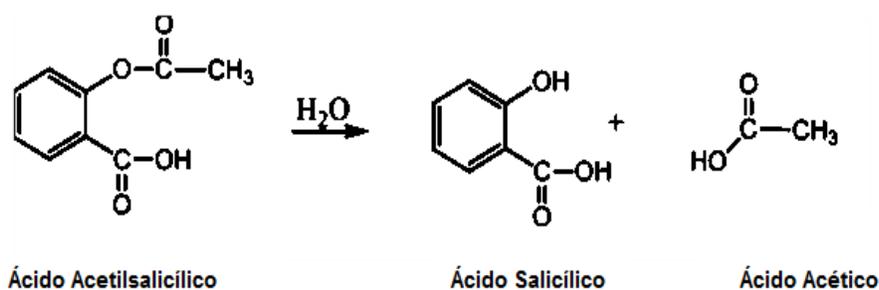


Figura 2. Hidrolisis del ácido acetilsalicílico (Iwunze, 2008).

4.1.4. INDICACIONES TERAPÉUTICAS DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

El ácido acetilsalicílico posee las siguientes propiedades farmacológicas (Mendoza, 2008):

- ❖ Analgésico: para controlar el dolor de baja a moderada intensidad como cefaleas, mialgias, dismenorrea, artralgia y dolores odontológicos.
- ❖ Antiinflamatorio: en enfermedades como fiebre reumática, artritis reumatoide y profilaxis de padecimientos asociados a la alta agregación plaquetaria.
- ❖ Anticoagulante: impide la agregación plaquetaria.
- ❖ Antipirético: es útil para el control de la fiebre originada por diferentes etiologías.

4.1.5. MECANISMOS DE ACCIÓN

El ácido acetilsalicílico inhibe la acción de la ciclooxigenasa -1 y ciclooxigenasa-2, impidiendo la biosíntesis de las prostaglandinas y tromboxanos, las cuales ocasionan una respuesta de dolor e inflamación (Mendoza, 2008). La COX-1 se encuentra en el retículo endoplásmico de casi todos los tejidos, responde a los estímulos hormonales para síntesis de prostaglandinas y de esa manera contribuye en la función renal, integridad de la mucosa gástrica y es fundamental para la homeostasis; la COX-2 se encuentra en la membrana del núcleo, a diferencia de la COX-1, esta solo se expresa en el cerebro, los riñones, los órganos reproductores y algunos tumores, responde ante algunos mediadores de la inflamación como la interleucina-1, los mitógenos, lipopolisácaridos y radicales libres.

El ASA se distribuye ampliamente en el organismo, incluso es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y la placenta.

4.1.6 PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

La vía de administración más común del ácido acetilsalicílico es por vía oral, posee una buena absorción por el tracto gástrico, aunque el jugo gástrico afecta su absorción. Sufre efecto de primer paso en hígado, es decir, se hidroliza parcialmente en ácido salicílico y se distribuye en todos los tejidos y no se une fácilmente a las proteínas del plasma.

La mayor parte del ASA se metaboliza en silicatos (aproximadamente el 99%), los cuales experimentan una cinética de Michaelis-Menten. El tiempo de vida media es de 15-20 min, sin embargo, a dosis bajas la cinética es de primer orden y el tiempo de vida media de 2-3 horas.

A los 5-30 min de su administración por vía oral, se observan salicilatos en plasma y las concentraciones máximas se observan a las 0.25-2 horas. Para tener efecto analgésico las concentraciones plasmáticas deben alcanzar los 100 µg/ml y los efectos tóxicos se alcanzan a los 400 µg/ml.

Sus metabolitos se eliminan por vía renal, y en consecuencia se excretan en orina como ácido salicílico, el 15% está en forma de conjugados (mono y diglucuronidos), y el 10% es salicilato libre.

4.2. MÉTODOS ANALÍTICOS

Un método analítico es un conjunto de actividades bien descritas y en secuencia, que se deben de seguir de forma estricta, con el fin de llevar a cabo el análisis de un analito en una muestra, de modo que incluyen materiales y parámetros a utilizar. Todos los métodos analíticos deben tener la capacidad de dar una respuesta debida únicamente del analito que nos interesa analizar, así como la capacidad de ser reproducibles en cualquier lugar (laboratorio) y por cualquier personal sin que existan variaciones significativas.

El desarrollo de métodos analíticos, implica la adaptación de métodos ya existentes o bien el desarrollo de métodos totalmente nuevos, en el primer caso se realizan pequeños cambios que se ajusten a la nueva aplicación, estos pueden ser farmacopeicos y/o no farmacopeicos y en el último caso se generan métodos que se adecuen a las necesidades del laboratorio, ya que no se cuenta con las condiciones establecidas en las farmacopeas como equipos y materiales adecuados o bien que la aplicación de dichos métodos implique costos elevados. Cualquier método que se desee utilizar debe ser validado, para demostrar que es apto para obtener resultados confiables, para ello es necesario encontrar las condiciones más adecuadas, contar con equipos que funcionen correctamente (que estén calibrados) y que los analistas a cargo sean competentes (EURACHEM Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Methods., 1998).

En las normas nacionales e internacionales, se remarcan la necesidad de asegurar que los laboratorios tengan métodos de análisis que aseguren su capacidad para proporcionar datos de calidad, para ello se debe contar con métodos analíticos validados y procedimientos internos de control de calidad (HARMONIZED GUIDELINES FOR SINGLE-LABORATORY (IUPAC Technical Report), 2002).

Los parámetros de desempeño de los métodos analíticos, han sido clasificados por la Guía de Validación de Métodos Analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos clasificado con base a los siguientes criterios:

Estado regulatorio

- ❖ Métodos farmacopeicos
- ❖ Métodos no farmacopeicos

Aplicación

- ❖ Para producto a granel.
- ❖ Para producto terminado.
- ❖ Para muestra primaria.
- ❖ Indicadores de estabilidad.

Naturaleza de la respuesta analítica

- ❖ Métodos físico-químicos.
- ❖ Métodos biológicos.

Propósito analítico

- ❖ Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia).
- ❖ Métodos para establecer la presencia del analito a un límite.
- ❖ Métodos para identificar el analito.

Esta clasificación marca los parámetros de desempeño que se deben determinar en cada caso. Los criterios de validación requeridos para los métodos analíticos para comprobar contenido de una sustancia en una muestra son:

- ❖ Linealidad
- ❖ Precisión
- ❖ Exactitud
- ❖ Especificidad
- ❖ Repetibilidad
- ❖ Precisión intermedia

Para los métodos analíticos para estudios de disolución se necesitan determinar los siguientes criterios de validación:

- ❖ Linealidad
- ❖ Precisión
- ❖ Exactitud
- ❖ Reproducibilidad
- ❖ Selectividad
- ❖ Influencia del filtro
- ❖ Estabilidad de la muestra

4.2.1. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Para el desarrollo de nuevos medicamentos, es necesario contar con métodos analíticos que permitan la cuantificación del principio activo, dicho método ser confiable y demostrar la calidad de los resultados.

La validación, es un proceso que nos permite comprobar si los resultados emitidos por un método analítico son confiables, para lo cual es necesario evaluar diferentes parámetros que nos permiten saber si el método está siendo adecuado y cumple con los propósitos para los cuales fue diseñado. Las características de desempeño de un método, repercute directamente en su confiabilidad y en la calidad del producto final.

Existen diversas normas y guías que nos dan un conjunto de directrices que debemos seguir para un procedimiento de validación, en México la **NOM 059-SSA1-2006** menciona los siguientes numerales que hablan acerca de la validación:

- ❖ **3.88** La validación es evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones de calidad establecidas.
- ❖ **7.5.7.6** Evaluación del estado de la validación del proceso y de la metodología analítica.
- ❖ **14.** Validación (generalidades).
- ❖ **14.3** Documentación requerida para la validación.
- ❖ **14.5** Validación de métodos analíticos. Cuando los métodos analíticos no son farmacopeicos, deben someterse a validación de acuerdo a protocolos que hayan sido aprobados, mientras que los métodos farmacopeicos demostrar su aplicabilidad sobre su producto y condiciones del laboratorio.

La ICH Q2 R1 (**International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**), por su parte, menciona 4 principales tipos de procedimientos a los que se les exige ser validados:

- ❖ Pruebas de identificación.
- ❖ Las pruebas cuantitativas para el contenido de impurezas.
- ❖ Límites para el control de impurezas.
- ❖ Las pruebas cuantitativas para determinar contenido de principios activos u otro componente seleccionado en el producto farmacéutico.

A pesar de que la mayoría de los documentos se centra en estos métodos analíticos, esta guía aclara que los métodos para estudios de disolución son igualmente importantes

El analista debe tener muy en mente el tipo de método desarrollado, porque esto va a determinar cuáles serán los parámetros que serán evaluados.

El Reglamento de Insumos para la salud en el artículo 15 establece que todos los establecimientos dedicados a la fabricación de insumos para la salud, deben de llevar a cabo un control analítico, el cual debe contener todas las especificaciones para el análisis de los componentes en el proceso y métodos para determinar identidad y pureza. Todas las técnicas de análisis deben estar perfectamente validadas y documentadas.

En la Asociación de Químicos Analistas Oficiales (AOAC), reportan las principales características de la validación de métodos analíticos.

Por otra parte, según la EURACHEM Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, los casos en los que los métodos analíticos requieren ser validados son:

- ❖ Cuando se hagan cambios en los procedimientos, para introducir mejoras.
- ❖ Cuando haya variaciones en la calidad, que indique que el método establecido presenta cambios con el tiempo.
- ❖ Cuando el método se utilice en diferentes laboratorios con diferente personal e instrumentos.
- ❖ Cuando se ha desarrollado un método nuevo.
- ❖ Demostrar la equivalencia entre dos métodos.

Tabla 2.-Tipos de validación y las características de cada una de ellas.

Tipo de validación	Características
Retrospectiva	Se aplica para procesos que ya están controlados, en donde los resultados durante el proceso son confiables.
Prospectiva	Se realiza antes de que el producto salga al mercado. Se debe apoyar con protocolos, reportes, procedimientos y métodos.
Concurrente	Su objetivo es validar procesos de productos ya existentes en el mercado. Se aplica a escalamientos de procesos y reproceso de lotes.
Revalidación	Repetición de la validación de un proceso y se aplica en los siguientes casos: <ul style="list-style-type: none"> • Cuando se cambia de proveedor de materias primas • Cambio en las instalaciones • Cuando hay cambios en el proceso de producción

La finalidad de la validación de los métodos analíticos es garantizar que exista una coherencia entre los resultados obtenidos, además asegurar la constancia y confiabilidad de la información obtenida.

La guía de validación de métodos analíticos del colegio nacional de químicos farmacéuticos, así como las otras legislaciones e instituciones retomadas anteriormente, hace referencia a los distintos parámetros de validación de un método (tabla 3).

La validación se exige principalmente para los siguientes casos (Guía de Validación de Métodos Analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos):

- ❖ **Categoría I:** Procedimientos analíticos para la cuantificación de los componentes de fármacos o ingredientes activos en productos farmacéuticos terminados en tales casos se exige: exactitud, precisión, especificidad, linealidad, intervalo (nivel superior e inferior, donde se puede determinar con precisión y exactitud).
- ❖ **Categoría II:** Procedimientos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados, se requiere determinar límite de detección y cuantificación.
- ❖ **Categoría III:** Procedimientos analíticos para la determinación de las características de desempeño (disolución y liberación del fármaco) para este caso se requiere demostrar precisión.
- ❖ **Categoría IV:** Pruebas de identificación, se debe demostrar especificidad.

Tabla 3. Parámetros de desempeño de los métodos analíticos.

Parámetro de validación	Definición	Especificaciones y criterios de aceptación
Linealidad del sistema	Capacidad del sistema para describir una relación matemática, donde la concentración sea directamente proporcional a la respuesta analítica y garantizar que esta relación sea continua y reproducible a lo largo de un rango bien definido.	Realizar una curva de calibración con 5 niveles de concentración por triplicado a partir de una misma solución estándar. Parámetros estadísticos a evaluar : ❖ Coeficiente de correlación ($r \geq 0.99$) ❖ Coeficiente de determinación ($r^2 \geq 0.98$) ❖ Pendiente (m) ❖ Ordenada al origen b ❖ Coeficiente de variación ($C.V. \leq 2\%$)
Linealidad del método analítico	Capacidad del método analítico que garantiza que existe relación lineal entre la concentración real y la estimada en un rango de concentraciones	Para la curva se utilizan placebos cargados con al menos 5 concentraciones incluyendo el 100% y se realiza por triplicado. Parámetros estadísticos a considerar: ❖ coeficiente de correlación ($r \geq 0.99$) ❖ coeficiente de determinación ($r^2 \geq 0.98$) ❖ Pendiente (m) ❖ Ordenada al origen b ❖ Coeficiente de variación ($C.V. \leq 2\%$) ❖ % de recuperación 97-103%
Precisión.	Parámetro que refleja la concordancia entre los valores individuales de una serie repetida de ensayos a diferentes proporciones de muestras homogéneas, es decir expresa el grado de reproducibilidad y repetitividad del método.	Se realiza la determinación de la concentración a tres muestras diferentes por sextuplicado. Se evalúa con el coeficiente de variación del factor respuesta y debe tener un valor $\leq 1.5\%$.
Repetitividad	Evalúa el grado de concordancia entre determinaciones independientes, cuando el ensayo analítico es realizado el mismo día, bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos.	Requiere que las muestras sean analizadas el mismo día por quintuplicado, un mínimo de tres concentraciones conocidas, diferentes a las de la curva de calibración, pero deben de estar dentro de este rango y cumplir las siguientes especificaciones: ❖ Un $C.V. \leq 3\%$ ❖ Un % de recuperación en un intervalo de 98-102%
Reproducibilidad	Es la concordancia entre determinaciones independientes bajo diferentes condiciones de análisis, que denota la precisión de los resultados de una misma muestra homogénea, cuyos ensayos se realizan en diferentes días, por diferentes analistas.	Requiere: ❖ Ser analizados por sextuplicado ❖ Con un mínimo de tres concentraciones diferentes a las utilizadas en curva de calibración, pero comprendidas en este rango. ❖ El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 2%.

Estabilidad	Propiedad de una muestra analítica de conservar sus propiedades fisicoquímicas durante un determinado tiempo bajo condiciones específicas.	$Idil \leq 3\%$
Límite de cuantificación	Evalúa la concentración mínima del analito que puede ser determinada bajo condiciones de operación.	<p>Analizar por 3 concentraciones por quintuplicado y su valor promedio debe caer para su aceptación dentro del $\pm 20\%$ del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20%.</p> <p>Se estima en base a la formula siguiente:</p> $LC = 10 * \left(S_{y/x} / m \right)$ <p>La concentración obtenida debe de validarse realizando un ensayo por sextuplicado utilizando placebos cargados que presenten esta concentración y deben cumplir con precisión y exactitud.</p>
Límite de detección	Mínima concentración en una muestra que puede ser detectada y puede distinguirse de los niveles de ruido.	<p>Se realiza una curva a partir de 3 cantidades adicionadas como mínimo por triplicado.</p> <p>Determinación 5 blancos o placebos cargados de manera independiente.</p> <p>Se calcula con siguiente la fórmula:</p> $LD = 3.3 * \left(S_{y/x} / m \right)$
Selectividad	Evaluar el método contra posibles interferencias (p. ej. metabolitos, productos de degradación del compuesto de interés y cualquier otro fármaco administrado de manera concomitante). No deben existir interferencias en la cuantificación del compuesto por analizar.	Cumplir con los criterios de linealidad, precisión y exactitud
Sensitividad	Es la mínima diferencia entre concentraciones del analito, donde la respuesta analítica sigue significativa.	DMS < diferencia de los promedios.
Robustez	Capacidad del método de dar datos confiables al presentarse variaciones mínimas en las condiciones normales de operación como pequeñas modificaciones en la temperatura y pH.	$Idil \leq 3\%$
Tolerancia	Evaluar la reproducibilidad del método analítico a pequeñas, pero deliberadas modificaciones como diferentes equipos y diferentes lotes de reactivos.	$C.V. \leq 3\%$

La validación de métodos analíticos, requiere corroborar mediante estos criterios las características de rendimiento del método y debe estar sustentada con la documentación apropiada como lo son protocolos, reportes, registros de todas las actividades, condiciones de análisis y datos analíticos que justifiquen y demuestren que el método es adecuado para un propósito en particular. Las características de rendimiento de los métodos analíticos requeridos son las siguientes: aplicabilidad, selectividad, calibración, veracidad, precisión, recuperación, rango de funcionamiento, límite de cuantificación, límite de detección, la sensibilidad y robustez. Sin embargo, los criterios y especificaciones de validación requeridos pueden variar en las diferentes Guías y Regulaciones tanto nacionales como internacionales (HARMONIZED GUIDELINES FOR SINGLE-LABORATORY (IUPAC Technical Report), 2002).

Muchas veces la validación implica tiempo y dinero, en tales casos el analista puede realizar una planificación de la validación, teniendo en cuenta las limitaciones, las necesidades del laboratorio y un nivel de confianza adecuado.

4.3. ESPECTROFOTOMETRÍA UV

Desde hace muchos años se han utilizado los métodos espectrofotométricos para la cuantificación de compuestos, especialmente aquellos que se basan en la absorción de radiación en la zona UV y visible, estos métodos se fundamentan en la ley de Lambert – Beer, en la que se relaciona a la absorbancia con la concentración de los compuestos.

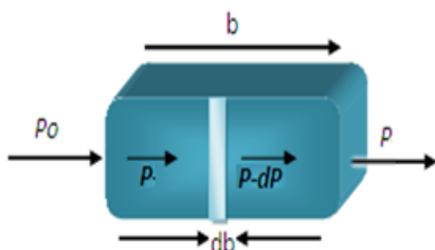


Figura 3. La radiación incidente puede ser absorbida por la muestra, no absorbida, reflejada o dispersada. La transmitancia está definida por la relación de la energía que entra (P_0) y la potencia con la que sale (P).

La absorptividad es una característica propia de cada sustancia a una longitud de onda dada. La absorción de radiación electromagnética implica el paso de una especie de su estado fundamental de mínima energía (E_0) a un estado excitado (E^*) de mayor energía (Sierra, 2010), también llamada energía de excitación, en donde la diferencia de energía entre los dos niveles es igual a la energía del fotón absorbido, a este paso se le conoce como estado de transición. Los átomos por ende tienden a volver a su estado de mínima energía, emitiendo la energía en forma de radiación, cada especie posee un tipo transición electrónica y la cantidad de energía que cede es de la misma magnitud que la absorbida, la cual le proporciona un comportamiento espectral, ya sea de emisión o de absorción y estas van de acuerdo a su distribución atómica y/o características químicas.

$$E = E_1 - E_0$$

La cantidad de luz absorbida, está directamente relacionada con la cantidad de moléculas presentes en una solución, esta proporcionalidad se cumple solo para sistemas de bajas concentraciones, ya que conforme incrementa la concentración se observan mayores desviaciones.

Dentro de la región ultravioleta la que más interesa en el área analítica es la ultravioleta próxima que abarca de los 200 – 400nm.

El parámetro de mayor utilidad para la determinación de compuestos es la absorbancia, la cual es definida como:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} \quad ; \quad \ln \frac{P_0}{P} = -k_1 bc$$

Donde:

T = Trasmítancia: fracción inicial de radiación que consigue atravesar la sustancia.

P₀ = Haz incidente.

P = Fracción de haz que logra pasar la solución.

$$\log \frac{P_0}{P} = A = abc$$

Donde:

B = Longitud de la trayectoria

c = La concentración

K = Se sustituye por la constante K

Por lo que se obtiene:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad \text{Ley de Beer}$$

Donde:

A= Absorbancia

ϵ = Coeficiente de absortividad molar

l = Longitud de paso del haz de luz

c= Concentración

Esta ley establece que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente en solución.

La absortividad es una constante asociada a una sustancia en particular a una longitud determinada, que no depende de la concentración, pero sí de factores como el disolvente, la longitud de onda, y de la temperatura.

La absorbancia varía, al variar las concentraciones de la muestra y las dimensiones de los recipientes que la contengan, mientras que la absorptividad es una constante que no es afectada por las concentraciones, debido a que es la propiedad de la sustancia y no de la muestra como sucede con la absorbancia.

La luz UV posee, mayor energía que la luz visible y la energía es inversamente proporcional a la longitud de onda.

Cuando se tiene una mezcla de sustancias donde todas o la mayoría de ellas absorben luz, nos podemos encontrar con dos casos en particular, que los espectros de absorción sean diferentes, donde se encuentren puntos sin que exista traslape de espectros, es decir que no haya interferencia o bien que las sustancias absorban a las mismas longitudes de onda; en este caso, según la ley de Beer la absorbancia es una propiedad aditiva, de tal forma que la absorbancia de la muestra es el resultado de la suma de las absorbancias individuales de cada uno de sus componentes.

$$A_1 = \varepsilon_{M1}bC_M + \varepsilon_{N1}bC_N(a\lambda_1)$$

$$A_2 = \varepsilon_{M2}bC_M + \varepsilon_{N2}bC_N(a\lambda_2)$$

4.3. QUIMIOMETRÍA

La quimiometría es una disciplina química, donde se aplican conocimientos matemáticos y estadísticos y formas lógicas en el análisis de datos y diseños de experimentos, para la obtención de la máxima información en el análisis de datos, para la obtención de la máxima información química relevante de un conjunto de sistemas para obtener conocimiento a partir de estos (Massart, 1997).

El primer paso que se debe de realizar para llevar a cabo un análisis de una muestra es el diseño experimental para controlar las posibles variables que podrían afectar el método de análisis y de esta manera poder conseguir datos que cumplan con las hipótesis planteadas en las pruebas basándose en las siguientes fases:

- ❖ Identificar los factores de variabilidad.
- ❖ Minimizar aquellos factores que no se pueden controlar
- ❖ Realizar un análisis estadístico para obtener la máxima información posible del efecto de cada factor.

Y posteriormente proceder al análisis para lo cual se debe elegir la técnica más adecuada que se ajuste a nuestro problema.

4.3.1. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

El análisis multivariante es una rama de la estadística y del análisis de datos, que se utiliza para interpretar y examinar un gran número de variables medidas sobre n unidades experimentales, por lo que la información que se maneja es de carácter multidimensional, cuyo objetivo es encontrar una relación entre la respuesta y estas unidades evaluadas, las cuales pueden ser cuantitativas, cualitativas o una mezcla de ambas, en donde la disposición de los datos obtenidos, se encuentran dispuestos en una matriz.

En un inicio el análisis multivariante estaba destinado a disciplinas como la economía, pero con el tiempo se ha convertido en una herramienta útil para diversos ámbitos con necesidades comunes, tal es el caso de la química analítica. Uno de los mayores problemas con los que se enfrenta esta área, es la determinación de compuestos presentes en mezclas complejas y más aún, cuando existen compuestos con propiedades similares que interfieren en la determinación.

Los problemas más comunes que se pueden presentar en la determinación de algún analito presente en una muestra compleja, son las interferencias, las interacciones y el ruido del instrumento, comúnmente lo que se hace en estos casos es un tratamiento previo o separación del analito de interés, con la finalidad de eliminar estos factores, sin embargo estos métodos requieren tiempo y suelen ser más costosos.

La quimiometría ha nacido como una alternativa para el análisis de muestras sin la necesidad de realizar una separación de los componentes de la misma, es decir nos ofrece una visión en conjunto de todos los objetos de estudio, mediante métodos de calibración multivariante, que permite extraer la máxima información que haga posible la determinación de los componentes presentes. Como ya se ha mencionado con anterioridad, la absorbancia total de una muestra es la suma de las absorbancias individuales de cada uno de sus componentes, por lo que al realizar una cuantificación de uno de los analitos nos vamos a enfrentar con interferencia del resto de las sustancias presentes en dicha muestra, sin embargo, el método multivariante puede ser utilizado para eliminar problemas de interferencia espectrales causadas por otras especies, debido a que cada una tiene diferentes absorptividades a diferentes longitudes de onda, lo que nos permite descomponer matemáticamente el espectro resultante de la muestra, en los espectros de cada uno de sus componentes.

En el caso de que exista una interacción entre los componentes, no se puede utilizar este método de forma directa debido a que se modifica la respuesta analítica, por lo que se sugiere realizar una separación de los analitos que nos interesa cuantificar.

La mayoría de los análisis multivariados depende de vectores de datos, de muestras aleatorias provenientes de las distribuciones normales multivariadas.

Aspectos importantes del análisis multivariante (Gallegos, 2003):

- ❖ Se basa en la normalidad de variables, es usual que las matrices de datos no cumplan de manera estricta los supuestos de homogeneidad y normalidad.
- ❖ En calibración multivariante deben de considerarse ciertos pasos previos para que los resultados obtenidos sean interpretados correctamente.
- ❖ Se debe hacer una comprensión de las variables por separado mediante estadística descriptiva univariante.
- ❖ Buscar una relación entre pares de variables utilizando la estadística bivariante aportándonos una visión general del problema.
- ❖ Elegir la técnica multivariante más adecuada al problema.

Existen diversas técnicas de calibración multivariante, estas son; la regresión lineal múltiple, regresión de mínimos cuadrados multidimensional, análisis de componentes principales, mínimos cuadrados parciales, etc.

Clasificación de técnicas estadísticas para el análisis de datos de una matriz (análisis multivariantes):

Métodos predictivos o de dependencia: A partir de un conjunto de variables, se busca la explicación y/o predicción del comportamiento de los valores observados.

- ❖ **Modelo lineal de regresión múltiple (MLR):** Explica el comportamiento de las variables dependientes mediante la información de un conjunto de variables independientes, denotando la influencia que ejercen estas últimas sobre las variables dependientes ($y = b_0 + b_1x_1 + \dots + b_kx_k + u$).
- ❖ Análisis múltiple de covarianza (MANCOVA).
- ❖ Análisis múltiple de varianza (MANOVA).
- ❖ Análisis discriminante.

Métodos reductivos o de independencia: son herramientas estadísticas que buscan reducir al mínimo el número de variables (dimensionalidad), o la identificación de grupos homogéneos, para explicar la independencia de los datos obtenidos, aquí no se establece ninguna relación de dependencia si no que existe una relación entre ellas.

- ❖ **Análisis factorial:** Se trata de un conjunto de técnicas descriptivas que se utiliza para analizar un gran número de variables, donde se combinan factores comunes y se sintetizan varios atributos, reduciendo de esta manera la información.
- ❖ **Correlación canónica:** Asigna a las variables en dos grupos para medir la extensión lineal de la relación existente entre los dos conjuntos de variables.
- ❖ **Análisis de componentes principales.** Se refieren a un conjunto de nuevas variables, que se generan a partir de las transformaciones lineales de otras variables ya existentes. Este método multivariante, es capaz de tratar datos de numerosas variables y su validez radica en la correcta elección de estas variables y la interpretación de los resultados obtenidos.
- ❖ **Análisis de Clústeres:** agrupa las variables con características similares en subgrupos (conglomerados), en este método no se realizan suposiciones anticipadas.

Los métodos multivariantes no son métodos causales, si no que se trata de métodos que describen o explican una serie de variables, considerando todas de manera simultánea, en donde los resultados obtenidos deben interpretarse detalladamente. En general, puede decirse que este tipo de análisis de datos seleccionan los factores más importantes, los jerarquizan, son fácilmente aplicables y de bajo costo.

El análisis multivariante, también implica visualizar grandes cantidades de variables (p) de n elementos y extraer la información más relevante, los cuales pueden ser representados en forma de matriz (A) de tamaño $n \times p$, la cual es una herramienta muy útil para ordenar un conjunto de datos además de facilitar su manejo, este procedimiento matemático hace posible la determinación de uno o más componentes en una mezcla compleja, sin la necesidad de llevar a cabo una extracción, aun cuando no se conozcan todas las entidades presentes en ella.

4.3.2. REGRESIÓN LINEAL MULTIVARIANTE POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES

El método de mínimos cuadrados parciales (PLS), para análisis de composición de mezclas fue introducido inicialmente para ciencias sociales por H. Wold en 1975, para posteriormente pasar a ser parte de los métodos estadísticos utilizados por la química analítica con el propósito de analizar múltiples variables.

El fundamento de PLS, es tomar la información de las variables arregladas en una matriz con un número de muestras igual al número de filas, en donde todos los datos deben estar perfectamente tipificados.

Para la realización del análisis de calibración y predicción, para un solo componente dentro de una matriz de datos, el método de mínimos cuadrados parciales se auxilia de algoritmos que le van a permitir llegar a los resultados.

La regresión por mínimos cuadrados parciales comienza encontrando las variables que aporten una mejor predicción, para lo cual se eligen aquellas con una alta correlación con las respuestas analíticas y que expliquen los cambios existentes en las predicciones. La regresión multivariante, requiere conocer el espectro de absorción de cada uno de los constituyentes puros de la calibración, en donde la intensidad de la respuesta (y_i) de cada una de las longitudes de onda, está relacionada con la concentración de los constituyentes de la muestra y está representada por la siguiente ecuación (Miller, 2008):

$$y_i = b_{0i} + b_{1ix1} + b_{2ix2} + \dots$$

En el método de PLS, se utiliza cuando se tiene un gran número de variables observadas arregladas en una matriz X , para facilitar el análisis de datos, de tal manera que mientras mayor es el número de observaciones, la precisión y la exactitud del modelo será mayor. El objetivo principal en la utilización de PLS es eliminar las interferencias analíticas y ajustar los datos de una línea recta.

4.3.3. CALIBRACIÓN

La calibración multivalente es muy confiable para la interpretación de datos, se fundamenta información cuantitativa, a partir de la medición de una propiedad y su transformación matemática, para lo cual se utiliza un gran número de variables, que nos permitan obtener la fórmula de predicción de X en función de Y , para la descripción del modelo de calibración.

El modelo de calibración se expresa de la siguiente forma:

$$y = b_0 + b_1x + e$$

Dónde:

x = Respuesta analítica

y = Cantidad del analito

b_0 y b_1 = Parámetro de regresión

e = Residuo ($e = y_{real} - y_{estimada}$)

Para la estimación de b_0 y b_1 , se requiere de los datos de n muestras independientes.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + e_1$$

$$Y = b_0 + b_1X_2 + e_2$$

...

$$Y = b_0 + b_1X_n + e_n$$

En donde la respuesta se ordena en forma de vector y la concentración como matriz.

En esta etapa, se pretende realizar una calibración con soluciones que contengan las posibles combinaciones de los componentes de la muestra y que causen interferencia con el analito. La calibración, va a establecer la relación que existe entre el cambio de absorbancia de la muestra a las diferentes longitudes de onda y la concentración de la sustancia que se desea determinar. Es importante que durante la calibración se detecten los siguientes parámetros (Huerta, 2009):

- ❖ Número de sistemas en la calibración.
- ❖ Longitudes de onda adecuadas, para obtener un modelo con una buena predicción.
- ❖ Número de variables latentes.
- ❖ Muestras desechables.

4.3.4. ETAPA DE PREDICCIÓN

Para predecir la concentración de las muestras es utilizada la respuesta de la matriz de calibración, mediante la relación de los cambios espectrales de los diferentes sistemas, con los datos espectrales de la muestra, para ello se debe de realizar una selección adecuada del número y las longitudes de onda adecuadas, lo que implica que mientras mayor es el número de sistemas en la calibración, el modelo va a tener un mayor poder predictivo (Pino, 2008).

Para realizar el análisis por PLS, se debe seguir un algoritmo que nos lleve a un resultado; para este trabajo se utilizaron dos softwares; MCP (ISHEJA), que utiliza al algoritmo de Haland y Gen EX, el cual sigue el algoritmo SIMCA.

Por otra parte, es importante recalcar que se deben elegir adecuadamente el número de variables latentes (factores óptimos), de tal manera que a mayor número de factores óptimos la linealidad de la calibración será mejor; sin embargo, el poder de predicción se verá disminuido.

4.3.5. VENTAJAS DEL MÉTODO MULTIVARIANTE POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES

Dentro de las ventajas que presenta el análisis por PLS se encuentran las siguientes (Pino, 2008):

- ❖ El PLS permite cuantificar uno o más analitos en una muestra de forma simultánea aun cuando existan interferencias espectrales.
- ❖ Nos permite un grado de acercamiento importante a partir del ajuste estadístico (el modelo es mejorado a partir del análisis de residuales).
- ❖ Permite la cuantificación de un analito sin la necesidad de una excesiva manipulación de la muestra, permitiendo un buen porcentaje de recuperación.

- ❖ Tiene la capacidad de detectar datos que estén relacionados con una mala preparación de las muestras, evitando errores en la cuantificación.

4.3.6. LIMITACIONES DEL MÉTODO DE PLS

Dentro de las limitaciones del análisis multivariante por PLS se encuentran (Gallegos, 2003):

- ❖ En el análisis de regresión lineal múltiple debe de existir una distribución normal de los datos de predicción y de los residuales.
- ❖ Comprobar que los supuestos de partida se cumplen, de no ser así se debe realizar un tratamiento matemático o utilizar una técnica más robusta para cumplir con los supuestos planteados inicialmente.
- ❖ Se debe disponer de un número elevado de muestras, para obtener resultados estadísticamente significativos.
- ❖ Por otra parte, trabajar con número muy grande de muestras también suele ser un problema, debido a que se puede incurrir a errores de interpretación.
- ❖ La presencia de casos anómalos puede deteriorar el ajuste de datos y por tanto a los resultados.
- ❖ Los resultados pueden ser de fácil estimación; sin embargo, la interpretación de los parámetros suele ser más compleja.
- ❖ Debido al uso de programas computacionales, los investigadores se olvidan de fundamentar los modelos de forma teórica.
- ❖ Se pueden llegar a generar modelos de escasa relevancia práctica.

4.4. ASPECTOS GENERALES DE LA DISOLUCIÓN

La disolución es un proceso, por medio del cual una sustancia se dispersa en otra formando una solución por la afinidad entre el soluto y el disolvente. La velocidad con la que la disolución ocurre, está definida por cambios de concentración del soluto en el disolvente respecto al tiempo, bajo condiciones estandarizadas.

4.4.1. PERFILES DE DISOLUCIÓN

Las pruebas de disolución son indicadoras de las buenas prácticas de manufactura de medicamentos, durante el desarrollo del producto, sobre la calidad del mismo como producto final y de la factibilidad de la formulación empleada, así mismo establecen una correlación de disolución *in vitro* de la biodisponibilidad del fármaco, de tal manera que se pueda predecir el comportamiento de la absorción y con ello determinar la bioequivalencia de los productos genéricos.

Las formas farmacéuticas que contienen principios activos que requieren de su absorción para ejercer un efecto terapéutico, necesitan pasar forzosamente por pruebas de disolución, a excepción de aquellas tabletas cuyo tiempo de desintegración oscila entre los 10 y 15 minutos.

La FDA en la Guidance for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, menciona que la disolución *in vitro* se realiza especialmente para asegurar la consistencia de lote a lote y se toma como referencia para determinar posibles problemas con la biodisponibilidad *in vivo*. Por otra parte, esta guía indica que si los perfiles de disolución de un medicamento genérico son diferente con respecto al de referencia y los resultados *in vivo* siguen siendo aceptables, entonces se puede establecer una nueva especificación de disolución para ese producto y que debe cumplir a lo largo de su vida útil.

Los fines que se persiguen con las pruebas de disolución, son el control de calidad rutinaria, caracterizar la calidad de los productos y como indicador de equivalencia (FIP GUIDELINES FOR DISSOLUTION TESTING OF SOLID ORAL PRODUCTS, 1997).

4.4.2. APARATOS PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN

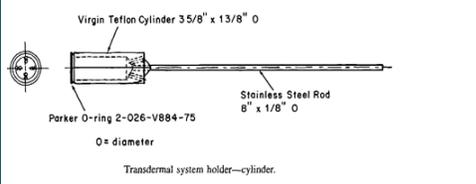
Las pruebas de disolución marcadas en la USP fueron introducidas en 1970. Actualmente hace referencia a 7 aparatos, que pueden ser utilizados para ensayos de disolución sin embargo, los aparatos más indicados para las pruebas de disolución para formas farmacéuticas de dosificación oral son los aparatos 1, 2,3 y 4. El aparato a utilizar va a depender del comportamiento *in vitro*, de la forma farmacéutica y de sus composición.

Los aparatos de disolución deben estar debidamente calibrados para garantizar el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura (ICH guideline Q4B annex 7 (R2) on dissolution test – general chapter, 2010).

Cada aparato posee sus propias especificaciones de uso, a continuación se muestra una tabla donde se encuentran estos aparatos, sus características, especificaciones y la forma farmacéutica que se someten a las pruebas de disolución para ese aparato.

Tabla 4.- Características y usos de los aparatos USP.

Descripción del aparato	Especificaciones	Usos
<p>Aparato 1 (Aparato con canastillas)</p> 	<p>Medio de disolución especificado en la monografía individual a una temperatura de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, un volumen recomendado de 900 mL y una Velocidad de rotación 25-150 rpm $\pm 4\%$</p> <p>El flujo del baño debe mantener un movimiento suave y constante.</p> <p>La muestra se introduce en el interior de la canastilla</p> <p>La distancia del fondo y la canastilla debe mantenerse a $25\text{ mm} \pm 2\text{ mm}$</p>	<p>Para perfiles de disolución de los siguientes productos. Productos de liberación :</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Inmediata (IR) ❖ Extendida (ER) ❖ Retardada (RR) ❖ Cápsulas de gelatina dura ❖ Cápsulas de gelatina blanda ❖ Tabletas sin recubrimiento ❖ Tabletas con cubiertas simples y entéricas.
<p>Aparato 2 (Aparato con paletas)</p> 	<p>Las condiciones de prueba son iguales a las del aparato 1.</p> <p>La velocidad de rotación 25-75 rpm.</p>	<p>Productos de liberación :</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Inmediata (IR) ❖ Extendida (ER) ❖ Retardada (RR)
<p>Aparato 3 (cilindro oscilante)</p> 	<p>Temperatura del medio de disolución a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.</p> <p>El flujo del baño debe mantener un movimiento suave y constante. La muestra se introduce en el interior de la canastilla. La velocidad de oscilación debe ser la especificada en la monografía individual con una variación de $\pm 5\%$.</p>	<p>Utilizado para formas farmacéuticas de liberación prolongada o con capa entérica</p>
<p>Aparato 4 (Flujo continuo)</p> 	<p>Se coloca una perla de 5 mm en el ápice de la celda y perlas de vidrio de 1mm en la celda para provocar un flujo laminar. La temperatura del medio debe ser de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. La bomba tiene un intervalo de operación de 240-960 mL y velocidades de flujo de 4, 8, y 16 mL por cada minuto. La bomba debe suministrar un flujo constante ($\pm 5\%$ de la velocidad de flujo nominal), cuyo perfil es sinusoidal con una pulsación de 120 ± 10 pulsos por min. Los procedimientos de la prueba de disolución, deben estar caracterizados con respecto a la velocidad y a las pulsaciones.</p>	<p>Formas farmacéuticas de:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Liberación inmediata ❖ Liberación prolongada. ❖ Liberación retardada.

<p>Aparato 5 (paletas sobre disco)</p> 	<p>Temperatura $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$</p>	<p>Se utiliza para caracterizar perfiles de disolución para parches transdérmicos.</p>
<p>Aparato 6 (Cilindro)</p> 	<p>El parche es colocado sobre el cilindro La Temperatura del medio de disolución es de $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.</p>	<p>Para productos transdérmicos</p>
<p>Aparato 7 (sop orte oscilante)</p>  	<p>El sistema se desplaza verticalmente La temperatura del medio de disolución debe ser de $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$</p>	<p>Para productos transdérmicos y formas farmacéuticas de liberación extendida.</p>

4.4.3. CONDICIONES DE ENSAYO PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN

Los perfiles de disolución son gráficos de porcentaje de fármaco disuelto en función del tiempo. Se debe realizar caracterizaciones de los perfiles de disolución que nos permitan elegir las condiciones más apropiadas para la prueba, en este caso, lo que se considera son los datos de solubilidad y estabilidad de la muestra o de nuestro analito de interés en los diferentes medios de disolución recomendados en la

FEUM, en donde el análisis estructural del analito nos va a predecir el medio idóneo para la prueba y va a ser corroborado por la caracterización, que nos permita elegir el medio que de mejores resultados y en consecuencia mejores perfiles de disolución.

Los perfiles de disolución se deben evaluar bajo condiciones fisiológicas, lo que permitirá una correlación *in vivo* de los datos obtenidos durante el ensayo. Lo que se recomienda para este tipo de ensayos es utilizar 3 diferentes valores de pH 1.2, 4.5 y 6.8 (HCl 0.1N, búfer de acetatos pH 4.5 y búfer de fosfatos pH 6.8), para que puedan asegurar comportamientos similares de los perfiles de los medicamentos de prueba y de referencia, además se debe mantener condiciones sink (cuando el volumen disolución del medio es de 5 a 10 veces más grande que el volumen requerida para obtener una solución la saturada), es por ello que se utiliza un gran volumen del medio de disolución y regularmente es de 500, 900 o 1000 mL (aparatos 1, 2 y 3), a una temperatura de 37°C+0.5°C. En cuanto a la velocidad de agitación, se utilizan revoluciones que van de 50-100 rpm (aparato 1, 2 y 3), mientras que para el aparato 4 el flujo es de 4, 8 y 16 mL por minuto y el volumen es el suficiente para mantener el flujo requerido constante. El analista debe elegir cada uno de estos factores de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas de la forma farmacéutica y del principio activo.

Es importante mencionar que los medios de disolución deben ser perfectamente desgasificados, debido a que las burbujas de gas causan problemas en la disolución del fármaco (retarda la disolución), las formas más comunes para la desgasificación es por medio de la calefacción y filtración con vacío.

Otros medios que se sugieren, además de los recomendados anteriormente, son simulados gástrico o intestinal con o sin enzimas, agua y medios con presencia de tensoactivos.

Se puede hacer toma de muestra de mínimo 5 puntos de muestreo para que se pueda ver perfectamente la forma de la curva de los perfiles que posibilite su comparación. Para tabletas de liberación inmediata la duración de la prueba va de 30 a 60 min aproximadamente, en caso de los aparatos 1 y 2, mientras que para el aparato 4 sabemos que la disolución varía y se requerirá un tiempo donde más del 85% del principio activo se haya disuelto.

4.4.4. APLICABILIDAD DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN

Las pruebas de disolución son una herramienta eficaz para proporcionar datos útiles, aplicables a lo siguiente:

- ❖ Sirve de guía para los formuladores, para la elección de los excipientes más adecuados en la preparación de una forma farmacéutica (optimización de la formulación).
- ❖ Como control de calidad de un producto
- ❖ Demostrar consistencia de lote a lote.

- ❖ Como una correlación in vivo-in vitro para predecir la biodisponibilidad de un fármaco en el organismo.
- ❖ Determinar la bioequivalencia de los productos genérico: demostrar similitud entre diferentes formulaciones y un medicamento de referencia.
- ❖ Para realizar un seguimiento del proceso de manufactura: Es una herramienta para demostrar la consistencia y reproducibilidad del proceso de fabricación.

4.4.5. FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN DE LOS FÁRMACOS

- ❖ La velocidad de disolución está influenciada por un gran número de factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del principio activo, con la forma farmacéutica y aquellas que están sujetas con los parámetros de prueba o propiedades hidrodinámicas del sistema.
- ❖ Las características del fármaco que pueden afectar a la disolución son: tamaño y forma de partícula, pKa, estado cristalino (amorfo o polimorfo), estado químico (ácido, base, sales anhidras o hidratadas), formación de complejos, solubilidad, la densidad, viscosidad y la humectabilidad, por citar algunos ejemplos, todos estos factores van a determinar las características de disolución inherentes al principio activo (disolución intrínseca).
- ❖ En cuanto a los factores fisicoquímicos de la forma farmacéutica que influyen en la disolución del principio activo es la formulación, el proceso de manufactura, la edad del medicamento, el acondicionamiento y almacenaje.
- ❖ Por otra parte, los factores hidrodinámicos involucrados que pueden ser considerados como fuente de variabilidad son la forma y la velocidad de agitación, aparato empleado en la prueba, el medio de disolución, composición del medio, temperatura, volumen, mantenimiento de las condiciones sink, factores ambientales, pH, fuerza iónica del medio, viscosidad, técnica de muestreo y método de ensayo.
- ❖ Las propiedades del estado sólido del fármaco (polimorfismo), repercuten en la velocidad de disolución aparente, debido a la diferencia en la estructura interna de los sólidos), lo que afecta directamente la biodisponibilidad y la bioequivalencia del medicamento. Los cambios involuntarios en la forma polimórfica que pueden afectar BA y BE a menudo puede ser detectado por las pruebas de disolución de la forma farmacéutica. (Guidance for Industry ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism, 2007). El importante mencionar que los polimorfos más estables termodinámicamente suelen ser menos solubles.
- ❖ La constante dieléctrica está relacionada con la capacidad que tiene un disolvente para ionizar a los solutos y de esa manera lograr que se solubilizan. Una sustancia iónica se solubiliza mejor en medios con una alta constante dieléctrica.

- ❖ La solubilidad de los principios activos depende de su grado de ionización y se evalúa a través de sus constantes de ionización (pKa), por lo que el pH influye fuertemente en la solubilidad de una sustancia.
- ❖ Las variaciones en la temperatura provocan cambios en la solubilidad de las sustancias normalmente al aumentar la temperatura, incrementa la solubilidad, esto debido a que la mayoría de los procesos son endotérmicos.
- ❖ La presencia de sales modifica la solubilidad dependiendo de la fuerza iónica pueden aumentarla o disminuirla, ya que a medida de que hay mayor cantidad de moléculas de agua libre es más fácil la solvatación de las moléculas del fármaco.
- ❖ La solubilidad se ve limitada por la viscosidad del medio, puesto que altera el coeficiente de difusión de las partículas.
- ❖ La metodología de los estudios de disolución son factores muy importantes como las condiciones sink, no sink, reposición del volumen retirado, recirculación del medio.
- ❖ Entre mayor es el área superficial de la partícula, mayor es la velocidad con la que esta se disuelve, sin embargo hay algunos casos en los que se presenta difícil solvatación y humectación de partículas.

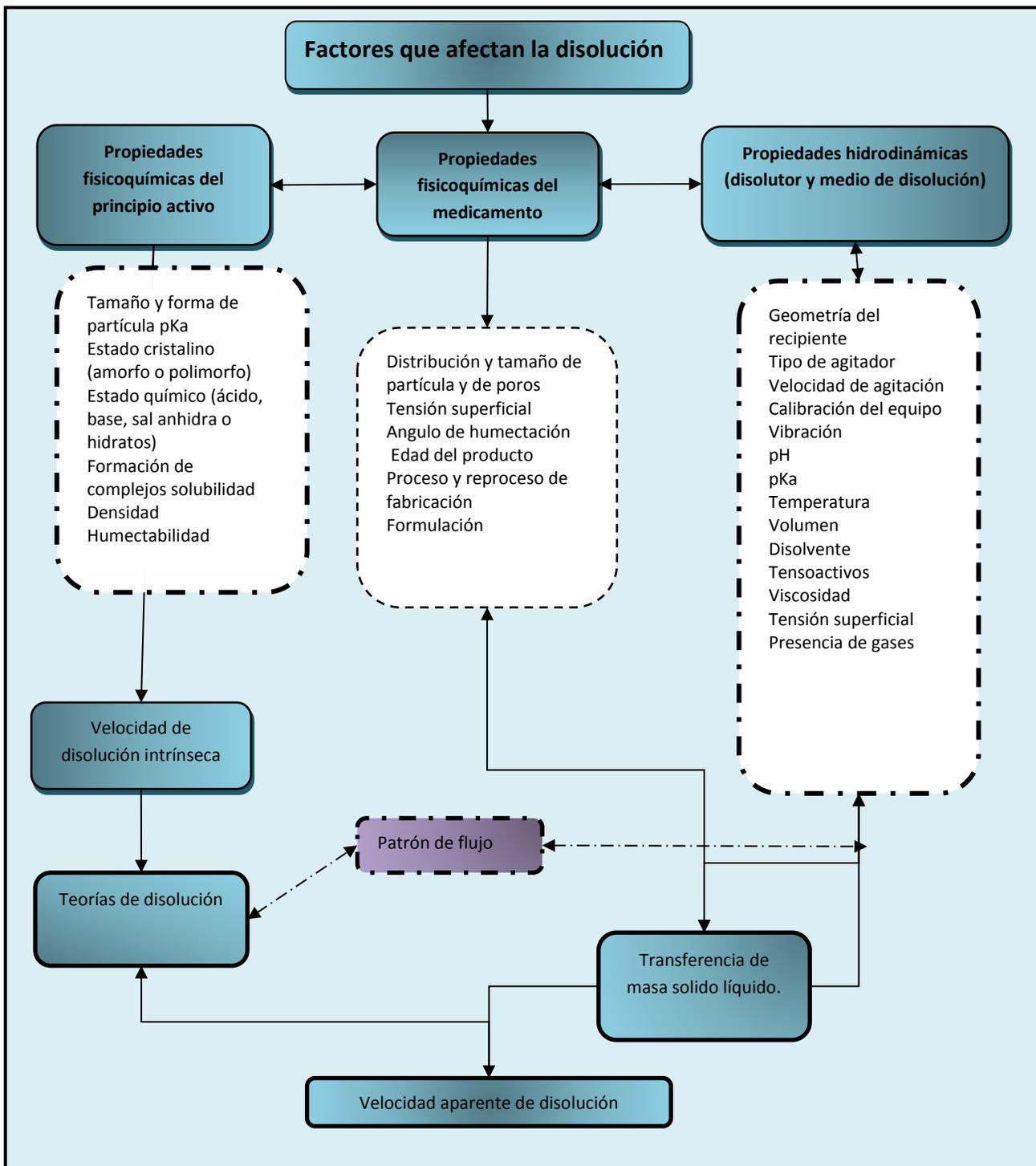


Figura 4. Factores que afectan la velocidad de disolución aparente de un fármaco.

4.5. MEDICAMENTOS GENÉRICOS

Los medicamentos genéricos son especialidades farmacéuticas que poseen características similares a un medicamento de referencia, es decir, contienen el mismo principio activo y dosis, igual forma farmacéutica y comportamiento similar dentro del organismo.

Los medicamentos genéricos, deben demostrar su equivalencia terapéutica con respecto a un medicamento de referencia, este último, sirve de base de comparación para la elaboración de especialidades genéricas. Los requisitos que debe cumplir un medicamento para ser considerado de referencia es comprobar su seguridad y eficacia, regularmente el producto innovador es el más apto para cumplir con estas características, debido a que durante su desarrollo se realizaron todos estos estudios, sin embargo, no siempre nos encontramos con que el producto de referencia es el innovador.

Características de los medicamentos genéricos:

- ❖ Poseer el mismo principio activo, la misma dosis, la misma forma farmacéutica, las mismas características cinéticas, dinámicas y técnicas que el medicamento de referencia.
- ❖ Demostrar bioequivalencia terapéutica, a fin de garantizar su intercambiabilidad.
- ❖ Demostrar calidad, seguridad y eficacia.
- ❖ Tener menor precio debido a que la inversión económica para su desarrollo es menor.

4.6. ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

Durante el desarrollo farmacéutico, los ensayos para disolución son una herramienta muy útil para identificar los factores de variabilidad de la formulación que pueden tener mayor influencia en la biodisponibilidad del fármaco, por lo que ayudara a la reformulación de la forma farmacéutica, es por ello que se consideran como un método para el control de la calidad, para garantizar consistencia y reproducibilidad de lote a lote, además de ser un apoyo para avalar la biodisponibilidad y bioequivalencia de un nuevo medicamento.

Un medicamento suele ser considerado como equivalente farmacéutico si tiene la misma forma farmacéutica, sustancia activa y cantidad de la misma, pero estas características similares, no implican bioequivalencia, debido a factores que pueden influir fuertemente en la velocidad de disolución y como consecuencia en la absorción del principio activo, como las diferencias que existen tanto en el proceso de manufactura, así como en los componentes de la formulación. Por tanto, dos medicamentos son bioequivalentes cuando son alternativas farmacéuticas con efectos similares en relación con su seguridad y eficacia.

4.6.1 SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA

El sistema de clasificación biofarmacéutica de los fármacos está basado en la solubilidad y permeabilidad de los mismos y sirve de apoyo para establecer correlaciones *in vivo-in vitro*.

Los fármacos están clasificados por el SCB como sigue:

Caso 1: *Fármacos de alta solubilidad - alta permeabilidad*

Caso 2: *Fármacos de baja solubilidad - alta permeabilidad*

Caso 3: *Fármacos de alta solubilidad - baja permeabilidad*

Caso 4: *Fármacos de baja solubilidad - baja permeabilidad*

En los fármacos que se encuentren dentro de la clase 1 y en algunos casos en la clase 3 de la BCS, que posean una disolución del 85% en medio de HCl 0.1N en un tiempo de 15 min, su biodisponibilidad no se verá limitada por la disolución, pero si por el vaciamiento gástrico (para los fármacos de la clase uno solo es necesario cumplir con pruebas de disolución *in vitro* y para los fármacos del caso 3 la permeabilidad es un paso crítico). Los productos farmacéuticos con principios activos que pertenezcan a estas clases, muy difícilmente es posible establecer una correlación *in vivo-in vitro*, sin embargo para los fármacos pertenecientes a la clase 2 es más factible que se pueda cumplir esta correlación, pero se ven limitados por su disolución, en la clase 3 los fármacos la correlación *in vivo-in vitro* se verá afectada por la permeabilidad, mientras que los fármacos del caso 4 no son recomendables para su administración por vía oral por su baja solubilidad y muy difícil absorción (Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata, 1997).

4.6.2. CORRELACIÓN IN VIVO - IN VITRO

Los parámetros farmacocinéticos normalmente utilizados son la C_{max} y el ABC y K_a (constante de absorción) para comparar bioequivalencia de dos productos, cuando existe una diferencia en la velocidad de absorción de ambos medicamentos, podrán ser considerados como equivalentes si la diferencia no es significativa.

La correlación está definida por la curva de disolución *in vitro* y la curva del nivel plasmático, existen 3 niveles de correlación, el más útil es el nivel A, sin embargo las correlaciones *in vivo-in vitro* de las formas farmacéuticas de liberación inmediata se basan en el nivel de correlación C.

Nivel A: Es una relación en la que se compara punto por punto de la disolución *in vitro* y la disolución *in vivo*, es ampliamente utilizada para formas de liberación modificada.

Nivel B: Se utilizan todos los datos *in vivo-in vitro*, pero a diferencia del nivel, es una correlación punto a punto, la desventaja de este es que no se puede utilizar para justificar el control del proceso.

Nivel C: Utiliza los parámetros farmacocinéticos (ABC, C_{max} o T_{max}) no refleja el perfil total en el nivel plasmático, ya que no puede predecir el comportamiento real del producto *in vivo*, es una correlación de un solo punto pero si se puede utilizar como criterio en el control de calidad de productos y procesos.

4.6.3. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SIMILITUD DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN

Para determinar la similitud de los medicamentos se pueden utilizar métodos de modelo-independiente o modelo-dependientes los cuales son:

- ❖ Regresión lineal del % disuelto en función del tiempo
- ❖ Comparación estadística de los parámetros de la función de Weibull
- ❖ La determinación del factor similitud f_2 .

4.6.3.1. FACTOR SIMILITUD

Para la evaluación de perfiles de disolución, se debe realizar una comparación entre los perfiles usando una prueba matemática llamado factor de similitud (f_2) introducido por Moore y Flanner y que ha sido adoptados por la FDA, EMEA y la FEUM entre otras legislaciones, como criterio de similitud, cuyo resultado debe comprenderse entre 50 y 100 para considerar que dos perfiles de disolución son similares y está representado por la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{n-1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{0.5} * 100 \right\}$$

Dónde:

n = Número de observaciones.

R_t = Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

T_t = Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

Este método es el más común a utilizar para determinar la similitud entre perfiles de disolución, resulta de la transformación logarítmica de la suma de los cuadrados del error de las diferencias de los porcentajes del principio activo disuelto, tanto del producto de prueba como el producto de referencia, mismo que se encuentra indicado en legislaciones nacionales e internacionales.

Premisas que se deben cumplir para la determinación del factor similitud:

- ❖ Deben de leerse como mínimo 3 puntos además del tiempo cero.
- ❖ Deben obtenerse doce valores para cada formulación en cada punto.
- ❖ Los tiempos de muestreo que se incluyan deben de estar comprendidos en una concentración disuelta del fármaco del 85% por cada formulación, donde solo un valor puede ser superior a este porcentaje.

- ❖ La desviación estándar debe ser inferior al 10% de todos los puntos de tiempo excepto el cero.

Cuando la cantidad disuelta de fármaco es superior al 85% en 15 min, los perfiles de disolución se consideraran como similares, por lo que no habrá ninguna necesidad de someter los datos a algún modelo matemático para ser comprobado.

4.6.4. ESPECIFICACIONES DE DISOLUCIÓN PARA PRODUCTOS GENÉRICOS

Los productos genéricos que cumplen con una IVVC son considerados como bioequivalentes sin embargo, en muchas ocasiones encontramos que las pruebas in vitro es mucho más discriminatoria que las pruebas in vivo, los métodos con mayor capacidad para discriminar distinguen con mayor facilidad los cambios en la calidad del producto, prediciendo como será afectado el rendimiento in vivo.

Las pruebas de disolución se realizan en los siguientes casos:

- ❖ Cambios en el sitio de fabricación.
- ❖ Cambios en los componentes y composición de la formulación.
- ❖ Cambios en equipos y procesos

4.7. MARCO LEGAL

Los medicamentos genéricos como cualquier otro medicamento, para su comercialización deben ser evaluados por las autoridades sanitarias correspondientes, por lo que para su registro es necesario que cumplan con ciertos criterios que demuestren su seguridad, eficacia, calidad, correcta identificación y correcta utilización, sin embargo, ya no se les exige que cumplan con estudios clínico y farmacotóxicos, debido a que ya han sido demostradas durante los procesos de investigación y desarrollo del medicamento innovador, de tal manera que en la mayoría de los casos solo necesitan cumplir con estudios de bioequivalencia con respecto al medicamento de referencia, dado que al ver el comportamiento de los perfiles farmacocinéticos de ambos productos, se puede asumir si van o no a tener el mismo comportamiento en el organismo, por lo que una formulación puede sustituir a la otra en el tratamiento para una enfermedad.

Los estudios de bioequivalencia implican una menor inversión con respecto a los estudios farmacotóxicos y clínicos, motivo por el cual los medicamentos genéricos son menos costosos que los innovadores.

En el **Reglamento de Insumos para la Salud** se encuentran los principales requisitos que se necesita para registrar un medicamento como genérico intercambiable (GI), los requerimientos más importantes son: que contenga el mismo principio activo que el medicamento innovador, igual forma farmacéutica,

concentración, potencia, vía de administración y que demuestren su intercambiabilidad mediante los perfiles de disolución.

La Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. En esta norma se encuentran dispuestas las pruebas reglamentarias requeridas para considerar la equivalencia de un medicamento, con respecto a uno de referencia, el cual está indicado por Secretaría de Salud como tal. Los estudios de bioequivalencia (perfiles de disolución), se deben realizar a un lote estándar o un lote escalado, demostrando que no haya diferencia entre lotes, además se debe realizar ensayos de valoración y uniformidad de contenido, dichos métodos deben ser validados de acuerdo a los criterios establecidos en los diferentes disposiciones relacionadas a la materia.

Los criterios y requisitos dictaminados en la **NOM-177-SSA1-1998**, para la evaluación de los perfiles de disolución en formas farmacéuticas de liberación inmediata son los siguientes:

- ❖ Se deben realizar a 12 unidades tanto del medicamento de prueba como del de referencia.
- ❖ El método se debe registrar por escrito antes del estudio.
- ❖ Las condiciones experimentales deben ser las descritas en la FEUM o en las farmacopeas reconocidas internacionalmente.
- ❖ Seleccionar por lo menos 5 tiempos de muestreo, que se encuentren dentro de los tiempos establecidos en el método de evaluación, para la caracterización de los perfiles de disolución.
- ❖ El volumen extraído puede o no reemplazarse, en el último caso no se debe extraer más del 10% del medio.
- ❖ El método debe ser validado

Recientemente la EMA incorporó la **ICH guideline Q4B annex 7 (R2)**, que hace referencia a diversas normas internacionales que establecen varios criterios para realizar estudios de disolución.

La FDA por su parte a incorporado la **Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Form**, se especifican los enfoques para establecer especificaciones para entidades químicas nuevas y para productos genéricos, los métodos para realizar la comparación entre perfiles de disolución y las condiciones para llevar a cabo las pruebas de disolución.

La USP tiene un apartado que habla acerca del procedimiento de disolución, su desarrollo y validación, el cual dice que el procedimiento requiere de un aparato, un medio y las condiciones más apropiadas para generar un método robusto y reproducible día a día y que pueda ser utilizado en diferentes laboratorios. Este documento también cuenta con los capítulos 711 y 724 donde aborda los temas de disolución y liberación de fármacos respectivamente.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

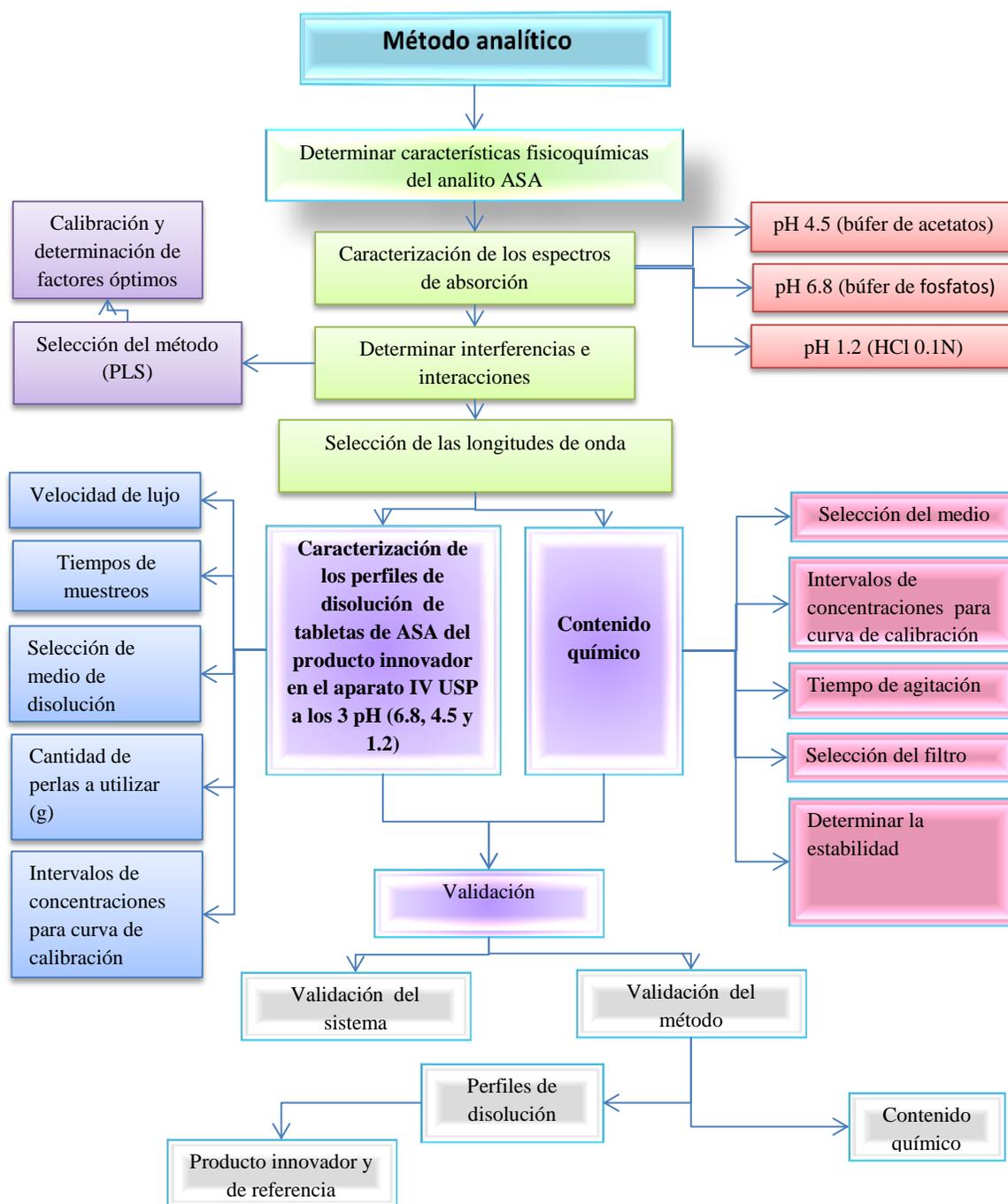


Figura 5. Estrategia analítica para el desarrollo y la validación del método analítico para perfiles de disolución y contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

5.1. MATERIAL

Material		No de unidades
Barras magnéticas		4
Embudo de vidrio		6
Matraces de 25 mL	Volumen (mL)	45
Pipetas volumétricas	0.5	1
	1	1
	2	2
	3	2
	4	1
	5	1
	6	2
	8	1
Matraces volumétricos	1000	1
	250	2
	200	2
	100	6
	25	45
	10	15
Vasos de precipitado	50	6
	100	1

5.2. EQUIPOS

Equipo	Marca	Modelo	No. de Serie
Espectrofotómetro UV- Vis	Varian	Cary 100 Conc	EL05043015
Espectrofotómetro UV-Vis	Vankel	Cary1E	EL97023472
Balanza electrónica	OHAUS	AP250D	1114050584
Balanza electrónica	Mettler Toledo	AB204-S	1119430155
Potenciómetro- Conductímetro	Mettler Toledo	SEVEN MULTI	1227257138
MILLI-Q	MILLIPORE	MQ REFERENCE	FOMA61689A
Disolutor (Aparato 4 USP)	SOTAX AGCH-4008BASEL	DISSOTEST CE6	142
Disolutor (Aparato 2 USP)	Vankel	Vk7000	1-4185-0597
Prensa	CARVER	C S/N 41000-310	469320544
Agitador	IKA	LADISC	3331761

5.3 REACTIVOS

HCl grado reactivo (HCl) PM 36.46 J.T Baker pureza 36.5 -38.0% Lote K31C46
Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) PM 136.09 J.T Baker Lote J16C16 pureza 99.2%
Acetato de sodio trihidratado $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ PM 136.08 J.T. Baker Lote H07C13 pureza 99.8%
Ácido acético glacial (CH_3COOH) PM 60.05 J.T Baker Lote E02A20 pureza 100%
Fosfato dibásico de sodio ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) PM 268.07 J.T Baker Lote A47C24 pureza 100%
Estándar secundario de ácido salicílico de pureza 99.0% marca Sigma Aldrich Lote #MKAA#&77V
Estándar secundario de ac. acetilsalicílico (cristales 100% de pureza) Helm de México Lote 0.929342
Agua desionizada (Mili Q)
Aspirina Bayer lotes X207UU,. X208A3 y X209VP
Alcohol etílico desnaturalizado 40B CH_3CH_2OH de pureza 99.5% J. T. Baker

2.4. SOFTWARES

Para obtener la señal analítica se utilizaron:	<ul style="list-style-type: none"> • Cary simple reads y cary scan en formato ASCII • Espectrofotómetro Cary win UV (versión software: 3.0 (182) , Cary 100 Version EPROM: 900 y Espectrofotómetro Cary 1E (versión software 02.00 (25) Versión EPROM 8.01
Para obtener el resultado analítico y tratamiento de datos se utilizó:	<ul style="list-style-type: none"> • Isheja UINC versión 1.0.0 que maneja algoritmo de Haaland • Gen Ex 5.3.4 que maneja el algoritmo SIMCA • Microsoft Excel 2010 • STATGRAPHICS Centurion XVI.I Versión 16.1.15

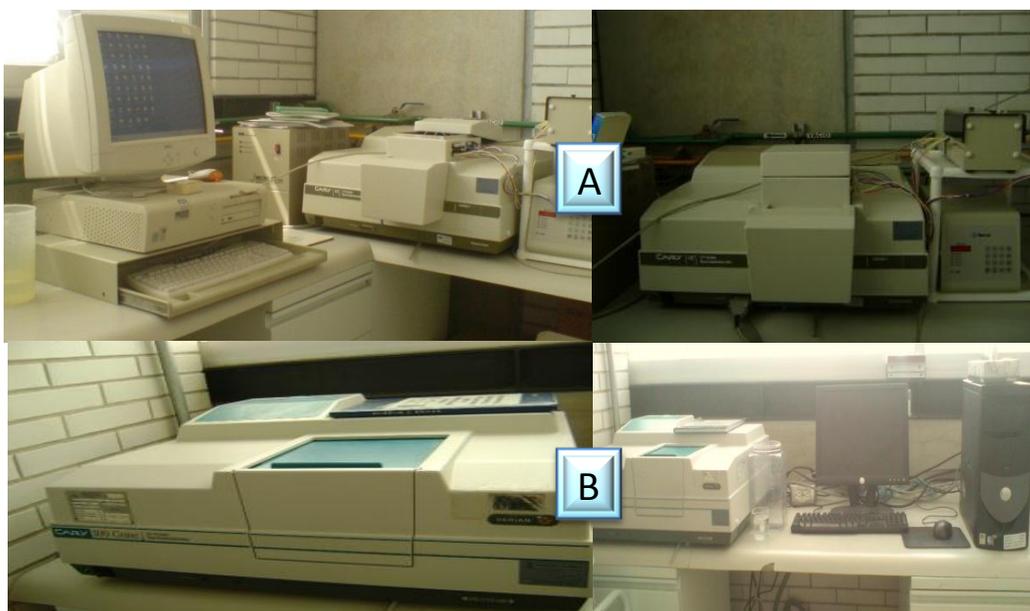


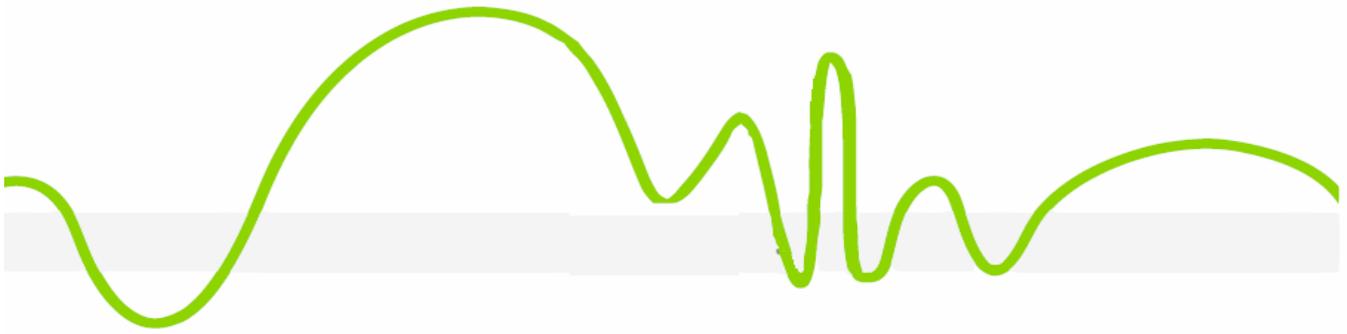
Figura 6. Equipos espectrofotométricos utilizados para obtener la señal analítica. A) Espectrofotómetro Cary 100 Varian .B) Espectrofotómetro Cary 1 E Vankel.



Figura 7. Aparato 2 USP (paletas) utilizado para la validación del método analítico para evaluación de perfiles de disolución.



Figura 8. Aparato 4 USP (celdas de flujo continuo) utilizado para caracterizar perfiles de disolución de tabletas de ASA (producto genérico y producto de referencia).



6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS



6.1. DESARROLLO DEL METODO

6.1.1 SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE PRUEBA

Espectros de Absorción

El primer paso del desarrollo de un método es confirmar la identidad del analito en este caso el ácido acetilsalicílico.

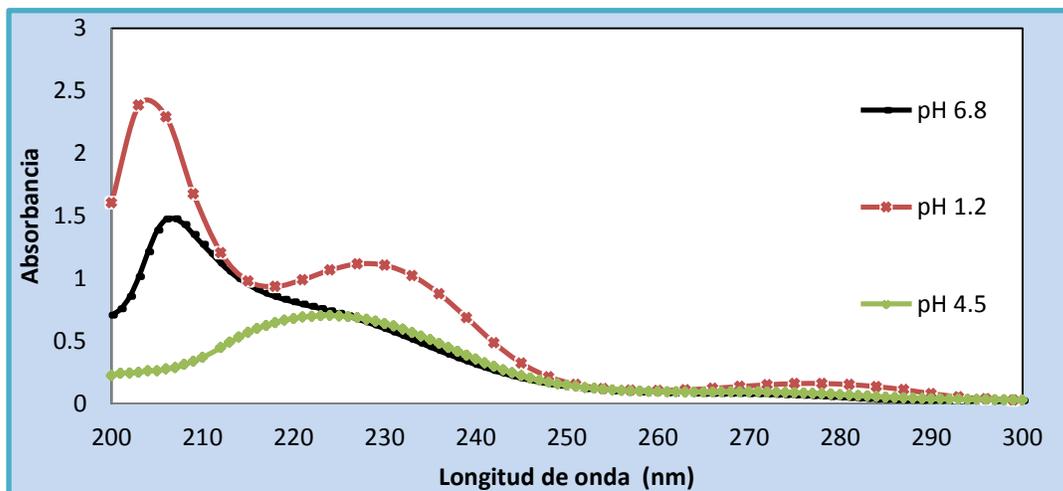


Figura 9. Espectros de absorción de ASA en solución de HCl 0.1N, búfer de acetatos pH 4.5 y búfer de fosfatos pH 6.8.

Se determinó el comportamiento del espectro de absorción del ácido acetilsalicílico en los diferentes medios de disolución marcados en la USP (HCL 0.1N, búfer de acetatos pH 4.5 y búfer de fosfatos pH 6.8), con la finalidad de elegir las longitudes de onda más adecuadas para llevar a cabo la determinación del resultado analítico.

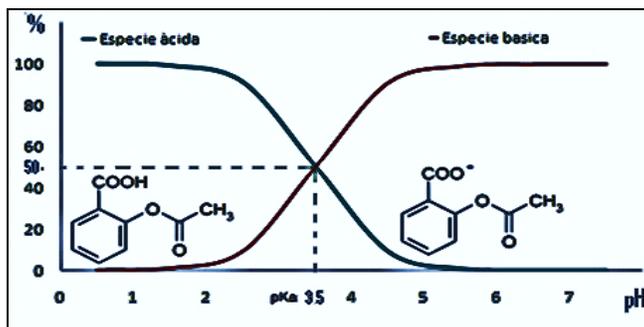


Figura 10. Diagrama de zonas de predominio de especies de ácido acetilsalicílico en función del pH.

Para desarrollar un método analítico apropiado, es necesario entender perfectamente el comportamiento y estabilidad de la sustancia en los diferentes pH's, para definir claramente las condiciones de ensayo, en este caso para ambos métodos se eligió trabajar con HCl 0.1 N, debido a que a pH de 1.2 predomina la especie no ionizada del ácido acetilsalicílico, lo cual nos permitirá cuantificar únicamente a esta especie.

Las variaciones en el pH provocan reacciones de los grupos funcionales, ocasionando modificaciones en las características ácido base, degradación o hidrólisis de las sustancias. En el caso del ácido acetilsalicílico, los porcentajes de recuperación varían fuertemente de acuerdo al pH debido a que posee mayor estabilidad a pH ácidos y sufre una hidrólisis más rápida en condiciones básicas. Los diagramas de especies químicas en función del pH, son una herramienta muy útil, porque nos predice en que pH la especie de interés se encuentra en mayor proporción para su cuantificación.

El ácido acetilsalicílico como su nombre lo indica es de naturaleza ácida, por lo que a pH inferiores al valor del pKa va a predominar la especie ácida (no ionizada), a pH de 3.5 la predominancia será de ambas especies (50% c/u), y a pH superiores al pKa predomina la especie ionizada. Los cambios de pH pueden ocasionar variaciones en el resultado analítico, debido a la formación de otras especies químicas, por lo que mediante el control de este factor, podrá manipularse la existencia de estas.

Efecto de los excipientes y del producto de degradación del ácido acetilsalicílico sobre el comportamiento espectral.

Se identificó y caracterizó el espectro de absorción del ASA solo y en presencia del producto de degradación para ello se realizó una solución de ASA a 32µg/mL, otra de SAL a 1.4µg/mL y una mezcla de ambas sustancias en las proporciones correspondientes y se leyeron en el espectrofotómetro en un rango de 200-350nm.

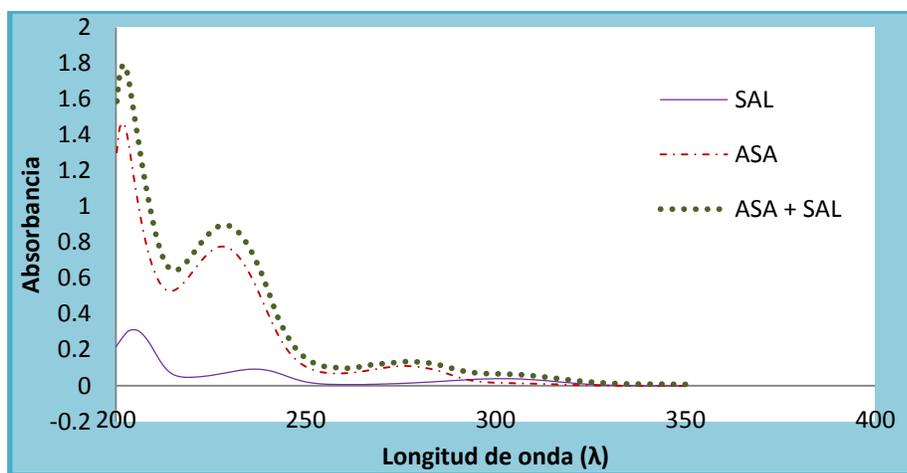


Figura 11. Comportamiento del espectro de absorción del ácido salicílico, ácido acetilsalicílico y ácido salicílico con ácido acetilsalicílico a un pH de 1.2.

En la figura 10, se puede notar que los espectros del ácido salicílico y ácido acetilsalicílico coinciden en la misma zona del espectro electromagnético, según la ley de Beer, este traslape de espectros sugieren la existencia de ambas sustancias cuando se encuentran presentes en la misma solución.

Para ver el efecto de los excipientes se prepararon las siguientes soluciones; solución estándar de ácido acetilsalicílico ($32\mu\text{g/mL}$), solución de excipientes (Helmcel, talco, almidón y almidón glicolato sódico), solución del producto innovador ($32\mu\text{g/mL}$) y una mezcla del estándar de ASA con excipientes a una concentración de $32\mu\text{g/mL}$ cada una en los tres medios de disolución (pH 1.2, 4.5 y 6.98).

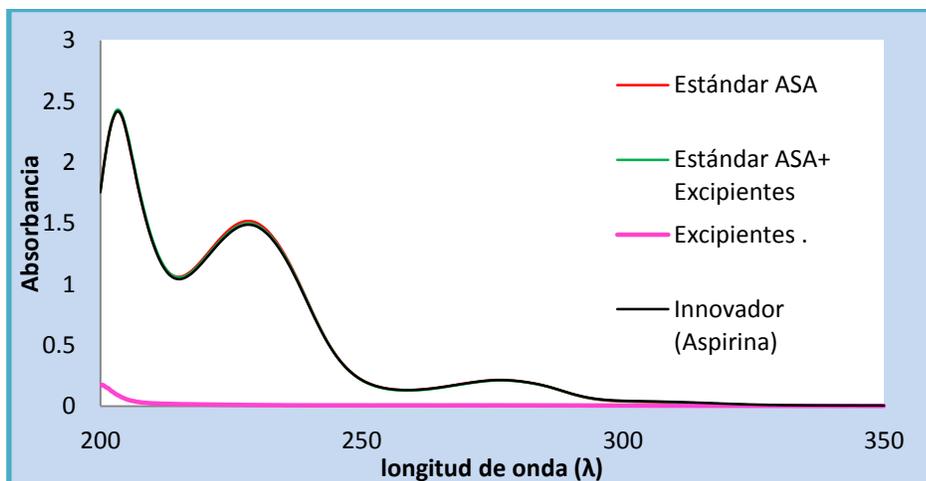


Figura 12. Gráfico del comportamiento espectral del estándar de ASA, estándar de ASA con excipientes, excipientes y muestra del producto de referencia en HCl 0.1N.

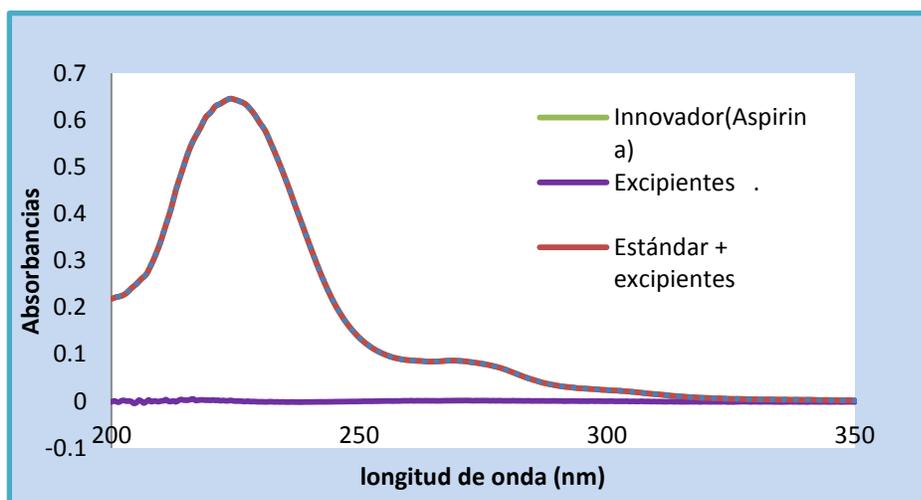


Figura 13. Espectros de absorción del estándar de ASA, estándar con excipientes, excipientes y producto de referencia a pH de 4.5.

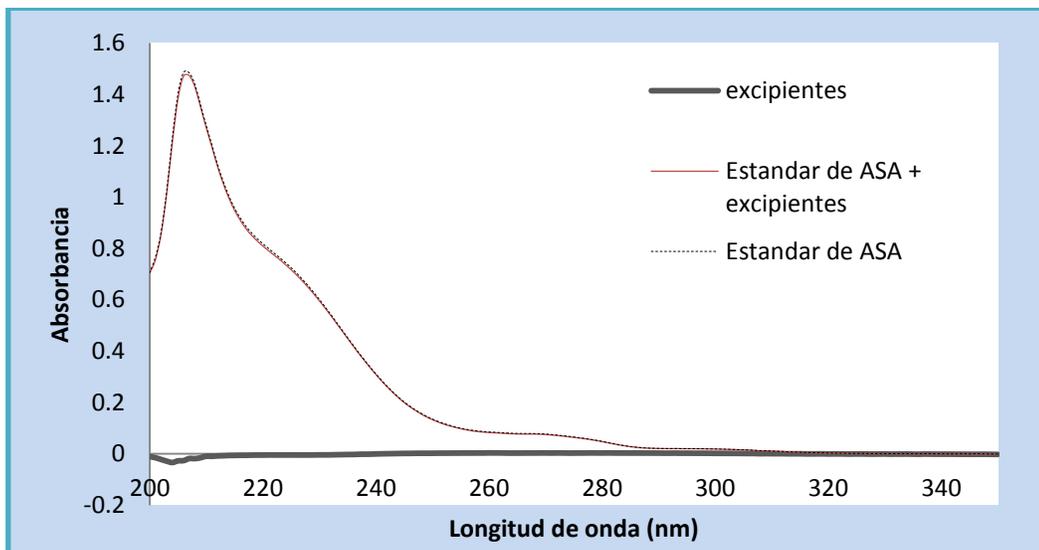


Figura 14. Espectros de absorción del estándar de ácido acetilsalicílico, estándar con excipientes, excipientes y del producto innovador a pH 68.

Se realizaron dos curvas de calibración una con ASA en un medio de HCl 0.1N a una concentración de 16, 24, 32, 40 y 48 µg/mL y la otra con ASA a las mismas concentraciones, ácido salicílico a 1.4 µg/mL y excipientes en un medio de HCl 0.1N y se utilizó como blanco HCl 0.1N en ambos casos para determinar la existencia de interferencias e interacciones.

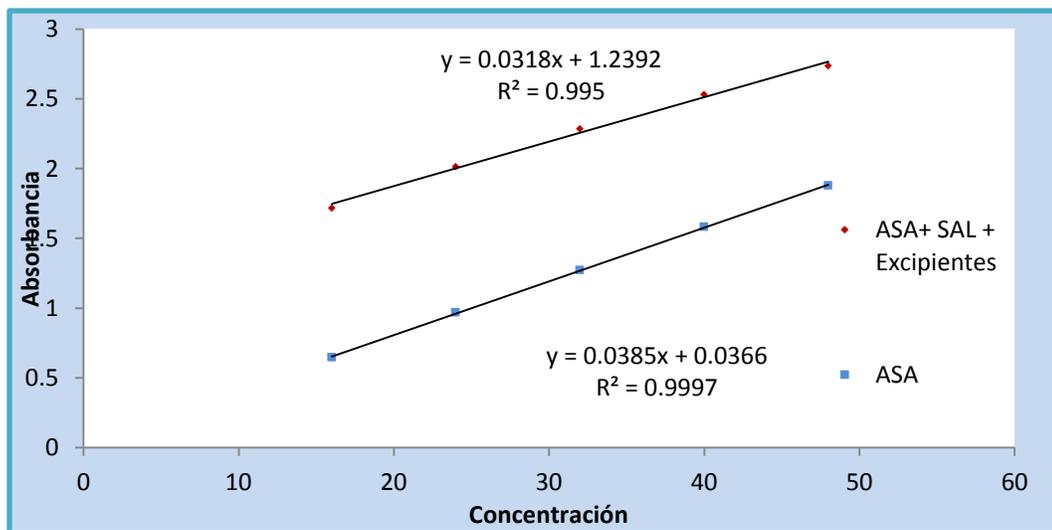


Figura 15. Curvas de calibración de ASA y ASA con excipientes y ácido salicílico a una longitud de onda de 229 nm utilizando como blanco HCl 0.1N.

En la figura 15 se muestra que no existe interacción entre el ASA, los excipientes y el producto de degradación ya que las pendientes son iguales, sin embargo, el origen de las dos curvas no es el mismo

por lo que existe interferencia analítica, ya que se puede observar que existe aditividad de las absorbancias del ácido salicílico y ácido acetilsalicílico. Para comprobar si hay efecto de la matriz, se realizó una prueba de hipótesis los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados obtenidos de la prueba de hipótesis.

	Calibración de ASA	Calibración de ASA + excipientes + ácido salicílico
Suma de cuadrados	$\sum(x_{i1} - \bar{x})^2=0.00010205$	$\sum(x_{i1} - \bar{x})^2=0.0001627$
varianzas	$S_1^2=7.2895E-06$	$S_2^2=1.1621E-05$
$F_{calculada}$	$1.59426444 < F_{tab} = 2.489$	
Varianza común	$S_{ep}^2 = 5.5065E-10$	
$t_{calculada}$	$-0.020248921 < 2.055529$	

Por lo tanto se comprueba que:

$$H_0: m_1 = m_2$$

Los resultados de las pruebas de hipótesis sugieren que no existe efecto de la matriz sobre el resultado analítico.

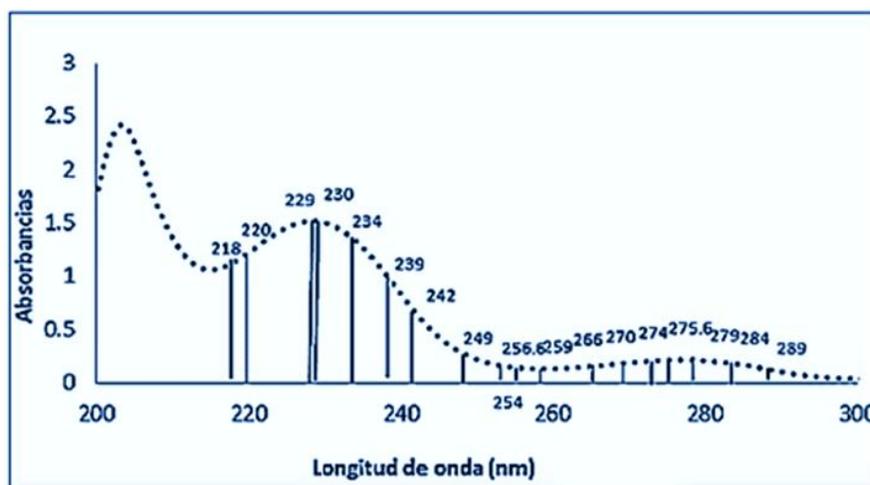


Figura 15. Comportamiento del espectro de absorción de ASA en una solución HCl 0.1N y longitudes elegidas para el método de PLS, para evaluación de perfiles de disolución.

El rango del espectro de la absorción que se eligió fue de 220-289 nm (ver figura 15), debido a que en esta zona el ASA no presenta ningún tipo de interacción con los componentes de la formulación solo interferencia con su producto de degradación, por lo que se consideró adecuado trabajar con una regresión lineal multivariante (PLS o regresión parcial multivariante por mínimos cuadrados parciales),

Con base a las características fisicoquímicas del principio activo se determinaron las primeras condiciones de prueba. En la figura 16, se muestra al producto de prueba y de referencia sometidos a la prueba de disolución en el aparato 4 USP, utilizando una solución de HCl 0.1N como medio de disolución, en tal caso se observó un comportamiento similar de ambas tabletas. En este medio de disolución se pudieron obtener muestras con mayor proporción del analito en su forma no ionizada, y por tanto la disolución fue más lenta, lo que permitió caracterizar mejor el perfil de disolución en el aparato 4, por tales motivos este fue el medio de elección a una temperatura de 37°C como marca la USP.

Se descartaron el buffer de fosfatos y de acetatos como medios de disolución, ya que las tabletas al ser de liberación inmediata y el ASA muy soluble en estos medios, no se logró una adecuada caracterización de los perfiles de disolución en estos medios, además de que en el medio de fosfatos la hidrólisis de la aspirina es mucho más rápida y el tiempo de muestreo es largo lo que impediría una cuantificación inadecuada.

Se utilizaron 3 g de perlas en cada celda, usar más de esta cantidad implica una disolución más lenta y menos incrementa tal disolución por la turbulencia que se genera.

En las pruebas preliminares el producto de referencia (Aspirina) mostró un $C_{m\acute{a}x}$ al minuto 14 por lo que se realizaron muestreos a los siguientes tiempo; 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 40, 50, 70, 90, 120, y 150 min, a este último tiempo de la prueba se puede asegurar que más del 85% del principio activo se ha disuelto.

Se analizó el perfil de disolución a 12 tabletas de cada lote del producto de referencia (de un total de 3 lotes de Aspirina) y 12 tabletas de un lote del producto de prueba como marca la NOM 177 SSA1-1997.

En la curva de calibración se trabajó con 6 niveles de concentración de ASA en un rango de concentración que va de los 4-64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ASA y 3 niveles de ácido acetilsalicílico que va del 1-3% (0.4, 0.9 y 1.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$), que es el límite permitido en tabletas de ASA por farmacopea.

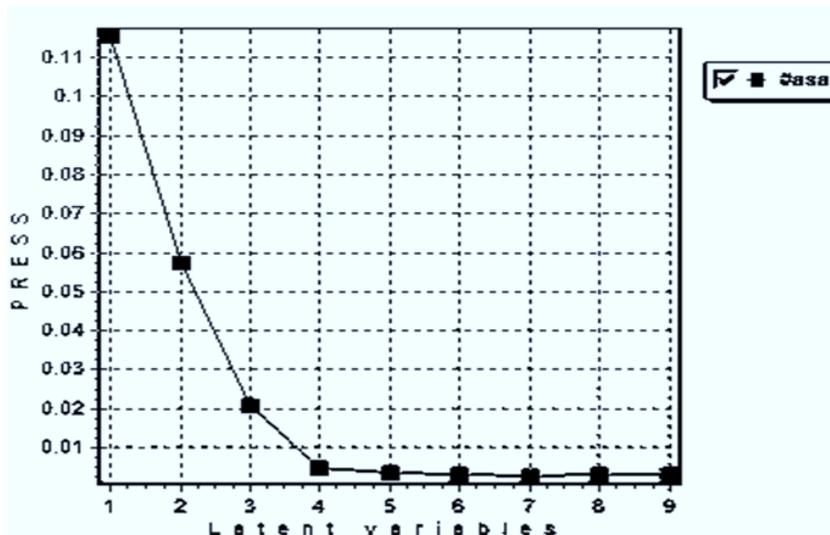


Figura 17. Gráfico para la obtención de los factores óptimos para el modelo de calibración utilizando el programa Gen Ex, en este caso se observa que el número de variables más adecuado es 5.

Se eligió el número de factores óptimos para la curva de calibración con el mejor poder predictivo y con parámetros de regresión aceptables. Hay que tomar en cuenta que mientras mayor sea el número de factores óptimos, la linealidad de la curva será mejor, sin embargo el poder predictivo se verá afectado, por lo que debe ser elegido adecuadamente, en este caso el número de variables latentes o factores óptimos está entre 4 y 6, el cual cambia de acuerdo a las condiciones de ensayo de día a día, pero que en general en la mayoría de los ensayos se mantiene constante en 5.

Tabla 7. Recapitulación de condiciones iniciales y finales para el método de perfiles de disolución.

Condiciones	No. Longitudes de onda	Flujo (mL/mi)	Cantidad de perlas (g)	Medio de disolución	T(°C)	Aparatos de disolución	Diluciones
Iniciales	39	16, 8, 6, 5 y 4	4 y 3	HCl 0.1N Bufer de fosfatos pH 6.8 Bufer de acetatos pH4.5	37	IV	1/10 , 1/25 y 0.5/10
Finales	17	4	3	HCl 0.1N	37	IV y II	1/10 Y 1/25

6.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN

La validación nos va a asegurar la capacidad del método para obtener resultados confiables.

Para la validación del método, para evaluar los perfiles de disolución nos basamos principalmente en la NOM-177-SSA1- 1998 y Guía de Validación del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.

6.2.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

6.2.1.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA

La linealidad del sistema se determinó a partir de la preparación de una curva de calibración con 6 niveles de concentración de ASA a un intervalo de 4-64 $\mu\text{g/mL}$ y cada nivel de ASA con 3 niveles de concentración de ácido salicílico, a partir de una solución stock de 201.52 $\mu\text{g/mL}$ de ácido acetilsalicílico y otra de 24.09 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico en HCl 0.1N (ver tabla 7).

El procedimiento anterior se realizó por triplicado y los datos obtenidos, se sometieron a un análisis de regresión por MCP.

La incorporación del ácido salicílico en la curva de calibración, se realiza solo con la finalidad de mejorar el poder de predicción de la calibración por el método de MCP, ya que como se ha mencionado únicamente nos interesa determinar la concentración de ASA en las muestras, cabe recalcar que el ácido salicílico se encuentra presente en cantidades muy pequeñas por lo que la calibración solo nos permite una estimación grosera de esta sustancia por este método.

La evaluación del criterio de linealidad del sistema, nos va a demostrar si el modelo es homogéneo, es decir, si realmente la respuesta analítica es directamente proporcional a la concentración en el modelo de calibración.

Tabla 8. Concentraciones teóricas de ASA y ácido salicílico en los sistemas de la curva de calibración.

Sistema	ASA ($\mu\text{g/mL}$)	Ac. Salicílico ($\mu\text{g/mL}$)
S1	4	0.4
S2		0.9
S3		1.4
S4	16	0.4
S5		0.9
S6		1.4
S7	24	0.4
S8		0.9
S9		1.4
S10	32	0.4
S11		0.9
S12		1.4
S13	40	0.4
S14		0.9
S15		1.4
S16	64	0.4
S17		0.9
S18		1.4

Tabla 9. Resultados estadísticos de la linealidad del sistema para el método de perfiles de disolución.

Parámetros de evaluación	
\bar{x}	0.9972
S	0.01553
C.V.	1.55787
b_0	0.00212
M	0.99993
r	0.9999
r^2	0.9999

La regresión lineal nos va a predecir la relación existente entre las dos variables estudiadas, en este caso se evalúa la concordancia entre el cambio de la respuesta cuando se da un cambio en la concentración adicionada del analito en el intervalo de concentraciones que se trabaja.

La ordenada al origen y la pendiente están asociadas a la variabilidad de los datos obtenidos, es decir, nos habla de cuanto se acercan los valores de la concentración adicionada de la concentración recuperada. Otro parámetro de regresión es la desviación estándar misma que se relaciona a los errores analíticos, un incremento de s_{xy} produce cambios en la pendiente y en la intersección.

En el análisis de regresión obtenido con el programa ISHEJA MPC (ver tabla 8), se muestra que los parámetros evaluados se encuentran dentro de los límites de aceptación con un coeficiente de variación menor al 2 y

una desviación estándar de 0.0034, una pendiente cercana a 1 y un intercepto cercano a cero, por lo tanto se ha demostrado que el modelo es lineal y explica que el 99% de la respuesta analítica está dada por los cambios de la concentración de ácido acetilsalicílico.

ope= 1.00 Intercept= 0.00 r= 1.0000 r^2= 0.9999
MSEC = 0.1082

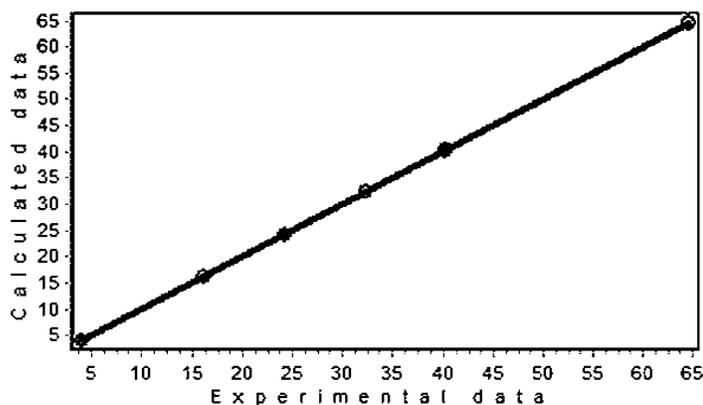


Figura 18. Grafico del modelo de calibración obtenido a partir de la evaluación del sistema con ayuda del software Gen EX.

En el grafico 18, se muestra el modelo de la calibración explicado por el software Gen Ex y los parámetros de regresión correspondientes a; pendiente=1, intercepto=0, $r=1$, $r^2=0.9999$ y un error estándar= 0.1082.

6.2.1.3. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL SISTEMA

Para determinar la precisión y la exactitud del sistema se prepararon 3 concentraciones por sextuplicado de ASA por dilución (24.096, 32.128 y 40.096 $\mu\text{g/mL}$) y proporciones al 3, 2 y 1% de ácido salicílico respectivamente, determinándose de esta manera los parámetros de evaluación correspondientes (promedio, desviación estándar y coeficiente de variación).

Tabla 10. Resultados del porcentaje de recuperación de ASA para precisión y exactitud del sistema para el método para perfiles de disolución predichos con el software Gen Ex y Parámetros obtenidos con ayuda de Excel.

C. adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	C. recuperada ($\mu\text{g/mL}$)	% recuperado	Parámetros de evaluación	
40.16	40.6638	101.2546	\bar{x}	101.3092
	40.7964	101.5847		
	40.6338	101.1799	S	0.1947
	40.7087	101.3663		
	40.7360	101.4343	C.V	0.1921
	40.5757	101.0353		
32.128	32.5530	101.3229	\bar{x}	101.2529
	32.5070	101.1797		
	32.6046	101.4835	S	0.1450
	32.5425	101.2904		
	32.4716	101.0695	C.V	0.1432
	32.5042	101.1712		
24.096	24.4586	101.5048	\bar{x}	101.4836
	24.4689	101.5476		
	24.4477	101.4599	S	0.1180
	24.4255	101.3677		
	24.4221	101.3534	C.V	0.1162
	24.4980	101.6683		

En la tabla 9, se muestran los parámetros estadísticos referentes a la evaluación de la precisión y exactitud del sistema, que en cuyo caso muestran que el sistema es preciso, ya que el coeficiente de variación es menor al 2% y exacto, debido a que el promedio de los porcentajes de recuperación calculados en cada uno de los niveles evaluados, se encuentra dentro de un rango de aceptación del 97-103%, por tanto se excluyen los errores sistemáticos al obtener porcentajes de recuperación del analito muy cercanos al 100%.

6.2.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

6.2.2.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA EL PRODUCTO DE PRUEBA

6.2.2.1.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO

Para la linealidad del método, se prepararon 6 concentraciones de ASA (12, 20, 30, 40, 50 y 80 μ g/mL) por triplicado, a partir de una solución stock de una concentración de 200 μ g/mL, llevando a la marca de aforo con una solución placebo.

Tabla 11. Resultados de la validación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto de prueba.

Conc. Adicionada (mg)	Conc. Recuperada (mg)	% recuperado	Parámetros estadísticos Estimados	
12.66	12.9755	102.4923	\bar{X}	100.6413
12.15	12.0357	99.05937	s	0.9849
12.04	11.8072	98.06664	C.V.	0.9786
20.18	20.4610	101.3925	r	0.9999
20.25	20.3666	100.5762	r^2	0.9999
20.29	20.4798	100.9355	m	1.0051
30.31	30.7157	101.3386	b	0.0665
30.38	30.3751	99.9838	IC(β_0)	-0.1702 - 0.3033
30.27	30.6029	101.1000	IC(β_1)	0.9998 – 1.0104
40.51	40.5048	99.9873	Criterios de aceptación	
40.35	40.5670	100.5378		
40.13	40.6968	101.4124		
50.34	50.8304	100.9743	R	0.99
50.38	50.9620	101.1554	r ²	0.98
50.43	51.0726	101.2744	C.V.	$\leq 2\%$
80.47	80.6153	100.1806	IC(β_0)	Incluir cero
80.05	80.6674	100.7713	IC(β_1)	Incluir la unidad
80.22	80.4651	100.3055	-----	

El r^2 mide el grado de relación entre la cantidad de ASA adicionada y la cantidad de ASA recuperada. En la tabla 10 y figura 19, se presentan los resultados de la regresión, estos resultados denotan la capacidad que tiene el método para obtener resultados que estén directamente relacionados con la concentración, con un coeficiente de correlación de 0.999, una desviación estandar de 0.9849 y un coeficiente de variación de 0.9786.

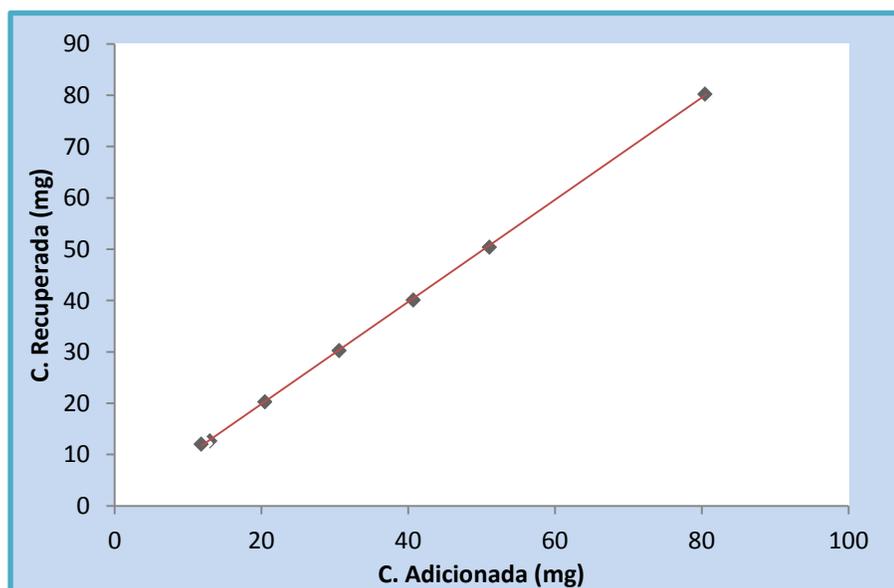


Figura 19. Gráfico de concentración adicionada contra concentración estimada de ácido acetilsalicílico para evaluar la linealidad del método para perfiles de disolución en el producto de prueba.

Por otra parte, es importante mencionar que aunque el intercepto es diferente de 0, el intervalo de confianza calculado (con 95% de confianza) si incluye al 0, del mismo modo el intervalo de confianza relacionado con la pendiente incluye a la unidad, por lo que todos los parametros entrán dentro de los criterios de aceptación preestablecidos, demostrando la proporcionalidad entre la concentración adicionada y la concentración recuperada(ver tabla 11).

Tabla 12. Análisis de variancia para evaluación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto de referencia e intervalos para el intercepto y la pendiente.

ANÁLISIS DE VARIANCIA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	9013.1175	9013.1175	163038.479	1.6882E-33
Residuos	16	0.8845	0.05528		
Total	17	9014.0020			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	0.0665	0.1117	0.5959	0.5595	-0.1702	0.3033
Variable X 1	1.0051	0.0024	403.7802	1.6882E-33	0.9998	1.0104

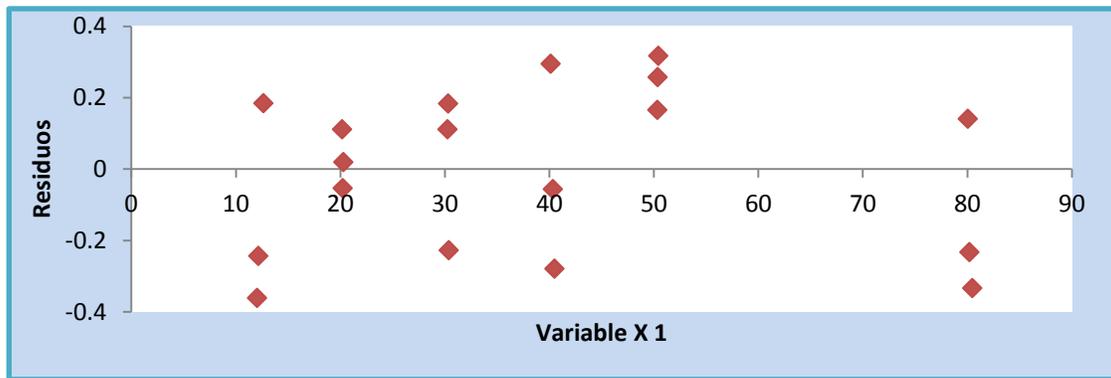


Figura 20. Gráfico de residuales para la linealidad del método.

Los residuales son el grado de dispersión de los datos alrededor de la línea recta. En la gráfica de análisis de residuales (figura 20), se observa que estos son homocedásticos, ya que existe una varianza constante de los residuos alrededor del cero y no varían en los diferentes niveles de concentración, por tanto se puede decir que hay una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración recuperada.

6.2.2.1.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Se prepararon 3 concentraciones de ASA por sextuplicado (120, 100 y 80%) a partir de pesadas independientes del estándar, tomando el mismo volumen de las soluciones estándar y se llevó a la marca de aforo con una solución placebo.

Tabla 13. Resultados de precisión y exactitud del método para perfiles de disolución de producto de prueba.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado	Parámetros estadísticos	
120	30.31	30.37	100.214	\bar{X}	100.0358
	30.38	30.602	100.734	s	0.0876
	30.27	30.305	100.118	C.V.	0.0876
	30.13	30.425	100.981	-----	
	30.06	30.206	100.488		
	30.14	30.632	101.634		
100	40.47	40.690	100.544	\bar{X}	100.5751
	40.09	40.713	101.555	s	0.5298
	40.33	40.696	100.909	C.V.	0.5268
	40.21	40.759	101.366	-----	
	40.45	40.704	100.630		
	40.06	40.567	101.265		
80	50.34	50.830	100.974	\bar{X}	100.6479
	50.45	50.935	100.962	s	0.7403
	50.11	50.925	101.627	C.V.	0.7355
	50.38	51.033	101.297	-----	
	50.02	51.136	102.232		
	50.16	50.962	101.599		

En la tabla 12, se aprecia que existe concordancia entre los resultados analíticos obtenidos, ya que posee variabilidades aceptables con un coeficiente de variación menor al 2%, por lo tanto el método es preciso y exacto por que la proporción recuperada del analito en cada nivel cae dentro de un intervalo de 97-103%, esto significa que el método es capaz de cuantificar adecuadamente la cantidad de ASA presente en la muestra.

6.2.2.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA EL PRODUCTO DE REFERENCIA (ASPIRINA).

6.2.2.2.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO

Para la evaluación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto innovador, se disolvieron tabletas a 5 diferentes tiempos en el aparato 2 USP en HCL 0.1N (2, 3, 4, 5 y 6 min), inmediatamente se realizó la lectura de absorbancias a las diferentes longitudes de onda para predecir la concentración de cada solución, para posteriormente preparar sistemas de 25 mL por triplicado de cada solución tomando 5 mL de estas y se le adicionan 2 mL de una solución estándar de ASA de concentración de 201.72 µg/mL, para finalmente llevar a la marca de aforo con el medio de disolución, quedando en cada sistema una concentración del estándar de 16.096 µg/mL.

Tabla 14. Resultados de la curva de adiciones patrón para la evaluación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto innovador (Aspirina).

Tiempo (min)	Concentración adicionada del estándar (µg/mL)	Concentración n adicionada (µg/m)	Concentración Recuperada (µg/mL)	Parámetros estadísticos	
2	16.0096	23.5088	39.5554	r	0.9958
		23.5088	39.2639	r^2	0.9916
		23.5088	39.3757	C.V.	0.6289
3		19.3196	34.2600	m	0.9909
		19.3196	34.4565	b_0	15.773
		19.3196	34.1872	IC(β_0)	-----
4		15.3547	31.2281	IC(β_1)	0.9363-1.0454
		15.3547	31.1098	% recuperación	99.4320
		15.3547	30.6181	Criterios de aceptación	
5		14.5407	30.4535	r	0.99
	14.5407	30.2241	r^2	0.98	
	14.5407	30.7391	C.V.	≤2%	
6	11.4141	26.9574	IC(β_0)	-----	
	11.4141	27.2146	IC(β_1)	Incluir la unidad	
	11.4141	27.0842			

$$y = mx + b ; \quad \frac{b}{m} = x \quad x = \frac{15.7739345}{0.99090796} = 15.9186 \mu\text{g/mL}$$

La concentración del estándar en el sistema fue de $16.0096\mu\text{g/mL}$ y la concentración recuperada de $15.9186\mu\text{g/mL}$, por lo que el porcentaje de recuperación fue del 99.43%, quedando este porcentaje dentro de los criterios establecidos (ver tabla 13).

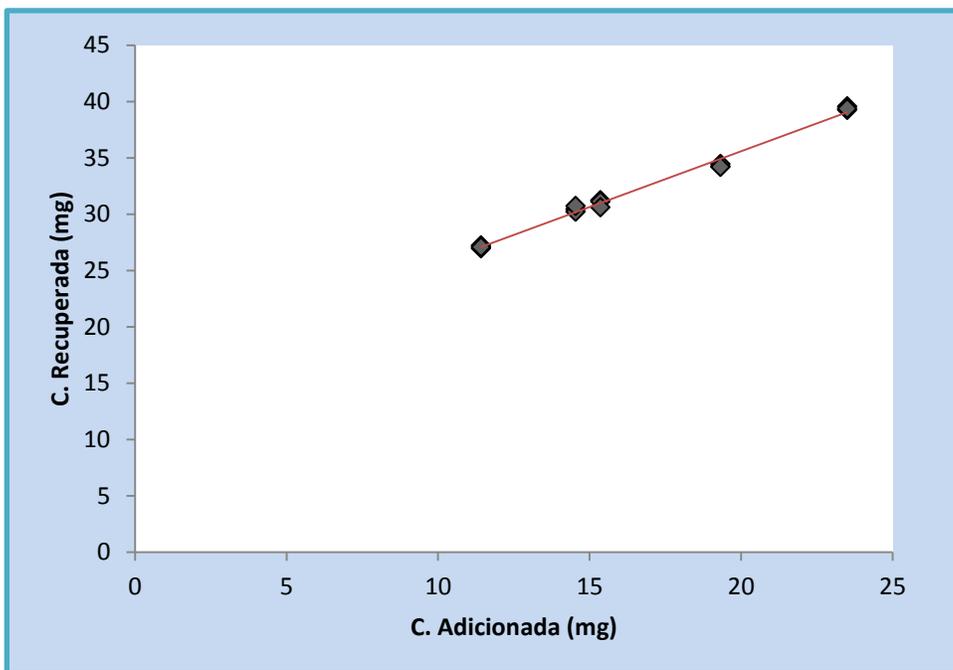


Figura 21. Gráfica de linealidad del método para perfiles de disolución del producto de referencia.

Los resultados obtenidos en la linealidad del método para el producto de referencia, nos confirman la capacidad que tiene el mismo para obtener datos directamente proporcionales a la concentración del analito que se está determinando, al predecir un porcentaje de recuperación del estándar 99.43%, con un coeficiente de correlación de 0.9958 (ver figura 21).

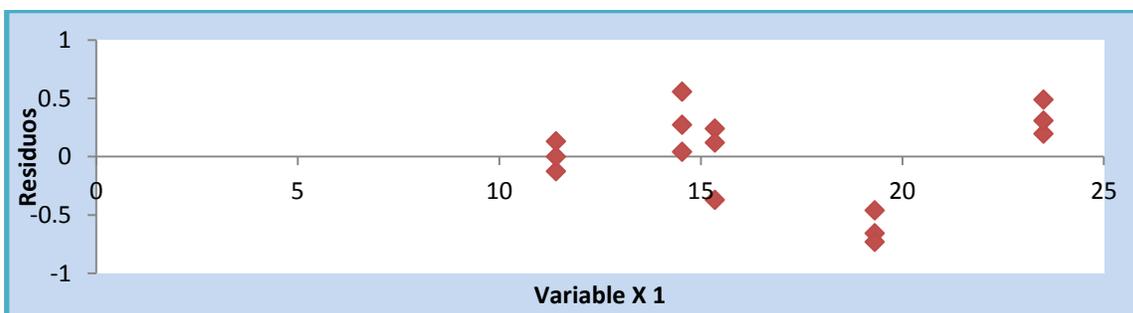


Figura 22. Análisis de residuales para linealidad del método para el producto de referencia.

En la figura 22 se muestra que los residuales son homocedásticos, lo que significa que la variación de los residuos es constante en el rango de todos los valores de los pronosticados, por lo que las varianzas de los residuos y pronósticos se consideran iguales.

Tabla 15. Análisis de variancia para la linealidad del método del producto de referencia.

ANÁLISIS DE VARIANCIA						
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>	
Regresión	1	257.906183	257.906183	1540.9831	6.8302E-15	
Residuos	13	2.17574106	0.1673647			
Total	14	260.081925				

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	15.7739345	0.43770979	36.0374267	2.0569E-14	14.82832	16.719549
Variable X 1	0.99090796	0.02524262	39.2553586	6.8302E-15	0.9363746	1.0454413

Este caso se utilizó el método de adiciones patrón para determinar la linealidad del método, basándonos en la falta del conocimiento de los componentes de la formulación del producto de referencia, por lo que se esperaba que en el intervalo de confianza del intercepto no incluyera el valor de cero, pero si el valor de concentración del estándar adicionado (16 µg/mL), el cual entra perfectamente en este intervalo de confianza como se muestra en la tabla 14.

Por otra parte, también se observa que el intervalo de confianza para la pendiente si incluye a la unidad, quedando este criterio dentro de las especificaciones establecidas.

6.2.2.2.2 PRECISIÓN Y EXACTITUD

Para la precisión y la exactitud se disolvieron 3 tabletas a tres tiempos (2 min, 4 min y 6 min), y se prepararon 6 sistemas por cada nivel de concentración tomando 5 mL de la muestra y 2 mL de la solución estándar (ver tabla 15).

Tabla 16. Resultados estadísticos de la precisión y exactitud del método.

Tiempo (min)	C. Estándar adicionado ($\mu\text{g/mL}$)	C. Adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	C. Recuperad ($\mu\text{g/mL}$)	Resultados de regresión	
6	16.0096	23.5088	39.5039	\bar{x}	39.4219926
		23.5088	39.3757	s	0.10617871
		23.5088	39.4648	C.V.	0.26933876
		23.5088	39.2639	-----	
		23.5088	39.5554	-----	
		23.5088	39.3681	-----	
4		15.3547	31.2281	\bar{x}	30.9315744
		15.3547	31.1098	s	0.23058398
		15.3547	30.6181	C.V.	0.74546474
		15.3547	31.0191	-----	
		15.3547	30.7391	-----	
		15.3547	30.8749	-----	
2		11.4141	26.9574	\bar{x}	27.047111
		11.4141	27.2146	s	0.13248017
		11.4141	27.0842	C.V.	0.48981263
		11.4141	26.8398	-----	
		11.4141	27.1324	-----	
		11.4141	27.0539	-----	

En los resultados obtenidos (tabla 15), se muestra que existe diferencia numérica entre las determinaciones de los diferentes niveles de concentración y su valor verdadero es decir, el método no es exacto para el producto de referencia con un porcentaje de recuperación de 96.005% , así mismo también nos habla de que proporciona una predicción precisa de los datos al haber concordancia de los resultados a los diferentes proporciones de concentración que se han determinado repetidamente a las mismas condiciones de análisis, por lo tanto el método es preciso pero no exacto.

6.2.3. ESTABILIDAD

Se realizó un estudio de estabilidad para comprobar la integridad del analito durante el tiempo de ensayo, para lo cual se prepararon 3 concentraciones de 24, 32 y 40 $\mu\text{g/mL}$ de ácido acetilsalicílico por sextuplicado y se leyeron en el espectrofotómetro a 5 diferentes tiempos (0, 2, 3, 4 y 6 h).

Tabla 17. Tabla general de estabilidad con resultados a los 5 tiempos.

C. ($\mu\text{g/mL}$)	Tiempo (h)	0	2	3	4	5
	Parámetros evaluados					
24	\bar{x}	101.7599	101.1571	101.2001	96.00226	95.7026
	s	0.5309	0.5383	0.9094	0.42256	0.6148
	C.V.	0.5217	0.5321	0.8987	0.44016	0.6425
32	\bar{x}	101.1210	100.7166	99.3494	96.27838	94.9294
	s	0.5235	0.5579	0.5412	0.96883	0.7517
	C.V.	0.5177	0.5539	0.5447	1.00628	0.7919
40	\bar{x}	101.1997	100.3302	99.1547	93.35137	94.1894
	s	0.4774	0.2791	0.3066	1.08666	1.3210
	C.V.	0.4718	0.2781	0.3092	1.16406	1.4025

En la tabla 16, se puede apreciar que el porcentaje de recuperación del analito problema no cambia significativamente en las 3 primeras horas, sin embargo a tiempos posteriores la concentración de ASA va disminuyendo debido a la hidrólisis gradual que esta sufre, en cuanto al C.V. no supera el 2% en ninguno de los tiempos de lectura, pero se demuestra que el resultado analítico se ve afectado en un periodo mayor 3 horas al obtenerse porcentajes de recuperación menores al 98%.

Tabla 18. Medias aritméticas (Y) del porcentaje recuperado a todos los tiempos para las tres concentraciones.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Tiempo (h)	0		2		3		4		5	
24	media aritmética	Y_0	101.7599	Y_1	101.1571	Y_2	101.2001	Y_3	96.00226	Y_4	95.7026
32		Y_0	101.1210	Y_1	100.7166	Y_2	99.3494	Y_3	96.27838	Y_4	94.9294
40		Y_0	101.1997	Y_1	100.3302	Y_2	99.1547	Y_3	93.35137	Y_4	94.1894

Tabla 19. Diferencia de las medias aritméticas a los diferentes tiempos con respecto al tiempo 0.

tiempo(h)	2	3	4	5
$ d_0-d_n $	0.6028	0.5598	5.75764	6.0573
	0.4044	1.7716	4.84262	6.1916
	0.8695	2.045	7.84833	7.0103

Teniendo en cuenta los resultados anteriores (tabla 17 y 18), podemos decir que se disponen de 3 horas para realizar el ensayo y leer muestras, para que los resultados no se vean afectados por la hidrólisis del ácido acetilsalicílico, por lo tanto este tiempo es válido para obtener resultados satisfactorios, ya que la diferencia de las medias aritméticas es mayor al 3% después de este tiempo.

6.2.4. ESPECIFICIDAD

La especificidad es una prueba que debe realizarse preferentemente al inicio de la validación, puesto que nos va a corroborar que el método desarrollado es adecuado para los objetivos propuestos. En este caso para verificar la especificidad del método se prepararon 5 niveles de concentración de ASA y se le adicionaron cantidades conocidas de los excipientes y productos de degradación. También se realizó una curva de calibración que nos permitiera la predicción de estas concentraciones y comparar pendientes (m), para identificar la existencia de interferencias e interacciones.

Tabla 19. Resultados de regresión del porcentaje recuperado en función del porcentaje adicionado, para curva de calibración de ASA para determinar especificidad y parámetros de regresión.

Curva de ASA					
Sistemas	C. Recuperada ASA (mg)	C. Adicionada (mg)	% Recuperado	Parámetros de regresión	
1	10.1390	10.0700	100.6850	b	0.2495
2	10.1180	10.0700	100.4762	m	0.9935
3	10.1760	10.0700	101.0521	r	0.9999
4	14.7426	14.6200	100.8383	r ²	0.9998
5	14.9426	14.6200	102.2069	s	0.6534
6	14.8807	14.6200	101.7835	X	100.7640
7	19.7052	19.5200	100.9487	C.V.	0.6484
8	19.6953	19.5200	100.8978		
9	19.7689	19.5200	101.2749		
10	24.4563	24.3400	100.4778		
11	24.4728	24.3400	100.5456		
12	24.4641	24.3400	100.5099		
13	29.0664	29.0900	99.9188		
14	29.0267	29.0900	99.7822		
15	29.1082	29.0900	100.0624		

Tabla 20. . Analisis de variancia para curva de ASA sin excipientes y sin producto de degradación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	675.537	1	675.537	68252.20	0.0000
Residuo	0.12867	13	0.00989766		
Total (Corr.)	675.666	14			

El analisis de variancia (tabla 19) realizado a la curva de calibración que contiene unicamente ASA, muestra que existe una relación lineal entre la concentración predcida y la concentración adicionada con un valor de P- Value menor a 0.05 y un nivel de confianza del 95%

Tabla 21. Tabla con concentraciones y parámetros de regresión de la curva de ASA, con producto de degradación y excipientes.

Curva de ASA + SAL + Excipientes						
Sistemas	C. de Ac. Salicilico adicionada	C. Recuperada ASA (mg)	C. Adicionada (mg)	recuperado	parametros de regresión	
1	0.4872	9.9435	10.0700	98.7444	b	0.1626
2	0.4872	9.9965	10.0700	99.2701	m	0.9901
3	0.4872	9.9157	10.0700	98.4685	r	0.9997
4	0.9744	14.8345	14.6200	101.4674	r2	0.9994
5	0.9744	14.7717	14.6200	101.0381	s	0.9518
6	0.9744	14.8112	19.5200	100.0559	x	99.8369
7	1.4616	19.5309	19.5200	100.7898	C.V.	0.9534
8	1.4616	19.6741	19.5200	100.4234		
9	1.9488	19.6026	24.3400	99.9794		
10	1.9488	24.5373	24.3400	100.8108		
11	2.9232	24.3372	24.3400	99.9888		
12	2.9232	24.3164	24.3400	99.9031		
13	2.9232	28.7633	29.0900	98.8772		
14	2.9232	28.8263	29.0900	99.0938		
15	2.9232	28.6953	29.0900	98.6433		

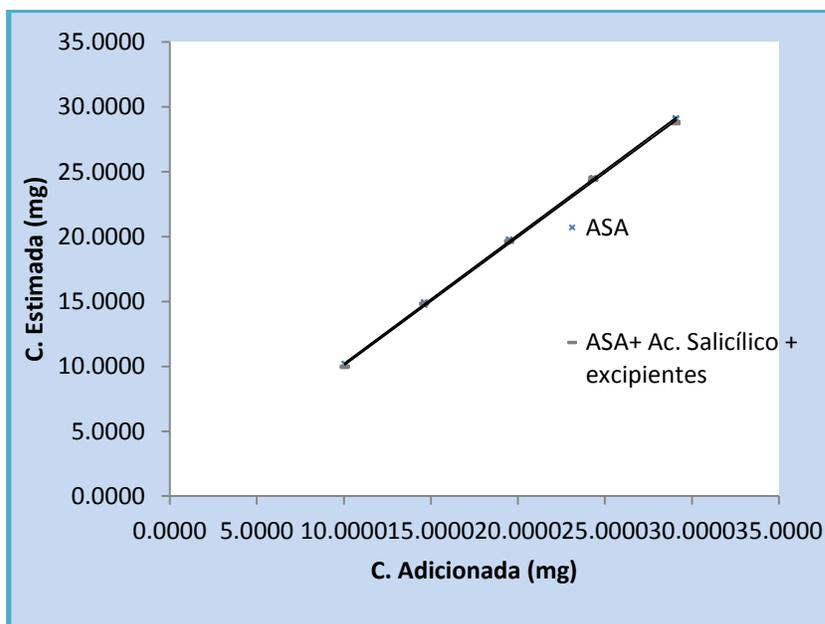


Figura 23. Gráfico de las dos curvas de calibración.

Tabla 22. Análisis de variancia de curva de calibración de ASA con excipientes y ácido salicílico.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	668.515	1	668.515	19266.32	0.0000
Residuo	0.451082	13	0.0346986		
Total (Corr.)	668.966	14			

Hay que tener muy en cuenta que los excipientes u otras sustancias presentes en la muestra pueden afectar a la respuesta analítica, dando lecturas más altas o más bajas, la magnitud del efecto depende en gran medida de la concentración, no obstante, esta no necesariamente es proporcional.

En la tabla 21 se puede observar que existe una relación directamente proporcional de la concentración recuperada con la concentración adicionada de ASA aun cuando se encuentran presentes los excipientes y el producto de degradación ya que se obtuvo un P- value inferior a 0.05.

En este trabajo nos propusimos exponer la presencia de sustancias que causen problemas de interacción o interferencia de la respuesta analítica, para ello se adicionó una cantidad conocida de los excipientes y productos de degradación del ácido acetilsalicílico a diferentes concentraciones y se evaluó el efecto sobre la respuesta del analito. Un estudio previo ya nos había demostrado la existencia de interferencia analítica ocasionada por el ácido salicílico, en este caso, el método es capaz de predecir la concentración de ASA sin que otro componente de la formulación o el producto de degradación puedan ejercer alguna influencia y por tanto favorecen a la exactitud del método, cabe recordar que el método de MCP por sí mismo es capaz de eliminar las interferencias analíticas, pero no las interacciones.

La especificidad del método se puede corroborar con los datos de la figura 23 y tablas 19 y 21, donde se demuestra que se obtuvieron pendientes muy cercanas en ambas calibraciones (calibraciones paralelas con $m=0.9935$ y 0.9901), lo que significa que no hay interacción entre la respuesta analítica de los componentes de la formulación y el ácido acetilsalicílico, por otra parte se obtuvieron intercepto muy cercanos lo que demuestra que el método controló las interferencias analíticas.

Para comprobar lo anterior, se realizó una prueba de hipótesis donde:

$$H_0: m_1 = m_2$$

$$H_1: m_1 \neq m_2$$

Tabla 23. Resultados de la prueba de hipótesis para comparar las pendientes de ambas curvas.

	Calibración de ASA	Calibración de ASA + excipientes + ácido salicílico
Suma de cuadrados	$\sum(x_{i1} - \bar{x})^2=0.02934141$	$\sum(x_{i1} - \bar{x})^2=0.05851958$
varianzas	$S_1^2=0.00209582$	$S_2^2=0.00417373$
$F_{calculada}$	1.99145885 < $F_{tab} = 2.489$	
Varianza común	$S_{exp}^2 = 0.00313477$	
$t_{calculada}$	0.1516233 < 2.055529	

Por tanto:

$$H_0: m_1 = m_2$$

Por lo que se acepta la hipótesis nula, es decir se ha comprobado que los valores de las pendientes son iguales.

6.2.5. PRECISIÓN INTERMEDIA

Se preparó una concentración al 100% por sextuplicado de ASA, por pesadas independientes en días diferentes y por analistas diferentes.

Tabla 24. Porcentaje de recuperación de ASA por diferentes analistas en diferentes días.

Día	% Recuperado	
	Analista 1	Analista 2
1	102.7089	100.3900
	101.7988	101.2860
	101.4309	100.0302
	100.9898	101.9497
	100.7725	101.8333
	101.9779	99.2579
2	101.3706	100.3403
	99.7504	100.7466
	98.8628	101.3667
	101.2691	100.5121
	100.8245	101.7924
	100.1418	101.9928

Tabla 25. Análisis de Variancia para el porcentaje recuperado de ASA con respecto al día y analista.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Analista	0.00666845	1	0.00666845	0.00	0.9634
Día*(Analista)	4.97182	2	2.48591	3.23	0.0607
Residuo	15.3759	20	0.768796		
Total (corregido)	20.3544	23			

El análisis estadístico (tabla 23) hace una relación entre el porcentaje recuperado y las variables día y analista, en este caso la P value tiene un valor mayor a 0.05 para el efecto del analista con un P=0.9634, y un P=0.0607 para analista anidado en el día, por lo que se demuestra que no existe ningún efecto del analista y día sobre el porcentaje recuperado de ASA con un nivel de confianza del 95%.

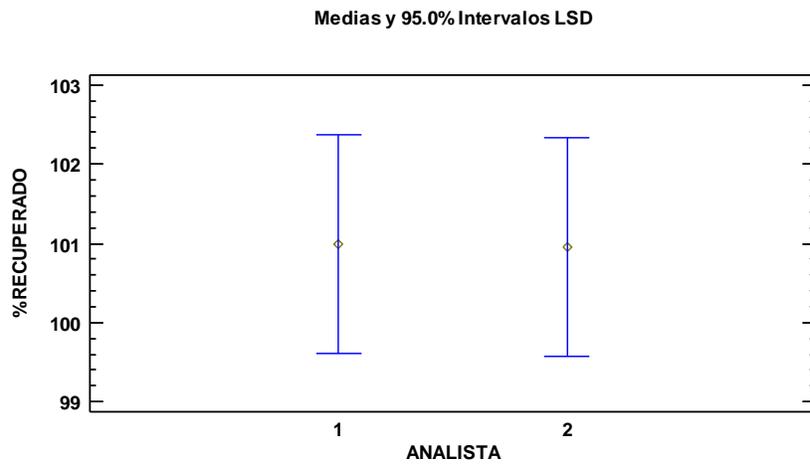


Figura 24. Análisis de medias para el porcentaje recuperado en función del analista.

El análisis de medias (Figura 24), demuestra que no existe diferencia significativa por el porcentaje recuperado entre analistas con un nivel de confianza del 95%.

6.2.6. SENSITIVIDAD

Se prepararon 3 niveles de concentraciones principales de ASA, y un nivel por arriba y otro por abajo con una diferencia de 1 µg/mL, es decir concentraciones de 15, 16, 17, 19, 20, 21, 23, 24 y 25 µg/mL.

Tabla 26. Resultados de concentración estimada y promedios de las mismas en la evaluación de la sensibilidad del método.

Nivel de c. (µg/mL)	C. Estimada (mg)	C. Adicionada (mg)	\bar{x}
15	19.2529	19	19.3419
	19.4026	19	
	19.3702	19	
16	20.2509	20.12	20.2486
	20.2704	20.12	
	20.2247	20.12	
17	21.6307	21.46	21.46
	21.6489	21.46	
	21.7927	21.46	
19	24.3653	24.17	24.17
	24.5653	24.17	
	24.4130	24.17	
20	25.2856	25.26	25.26
	25.4339	25.26	
	25.3081	25.26	
21	26.7438	26.37	26.37
	26.7071	26.37	
	26.8713	26.37	
23	29.5550	29.25	29.5791
	29.6259	29.25	
	29.5565	29.25	
24	30.4084	30.12	30.5033
	30.5247	30.12	
	30.5768	30.12	
25	31.6666	31.23	31.4642
	31.7162	31.23	
	31.0098	31.23	

Tabla 27. Análisis de ANADEVIA para la concentración estimada por la concentración adicionada.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Valor de DMS
Entre grupos	480.02	8	60.0025	0.2581
Intra grupos	0.40776	18	0.0226	
Total (Corr.)	480.428	26		

Tabla 28. Diferencia de medias de la concentración recuperada a los diferentes niveles.

Muestra	\bar{x} /conc. recuperada	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		19.3419	20.2487	21.46	24.17	25.26	26.37	29.5792	30.5033	31.4642
1	19.3419	0.0000	0.9067	2.1181	4.8281	5.9181	7.0281	10.2372	11.1614	12.1223
2	20.2487	-0.9067	0.0000	1.2113	3.9213	5.0113	6.1213	9.3305	10.2546	11.2155
3	21.46	-2.1181	-1.2113	0.0000	2.7100	3.8000	4.9100	8.1192	9.0433	10.0042
4	24.17	-4.8281	-3.9213	-2.7100	0.0000	1.0900	2.2000	5.4092	6.3333	7.2942
5	25.26	-5.9181	-5.0113	-3.8000	-1.0900	0.0000	1.1100	4.3192	5.2433	6.2042
6	26.37	-7.0281	-6.1213	-4.9100	-2.2000	-1.1100	0.0000	3.2092	4.1333	5.0942
7	29.5792	-10.2372	-9.3305	-8.1192	-5.4092	-4.3192	-3.2092	0.0000	0.9241	1.8850
8	30.5033	-11.1614	-10.2546	-9.0433	-6.3333	-5.2433	-4.1333	-0.9241	0.0000	0.9609
9	31.4642	-12.1223	-11.2155	-10.0042	-7.2942	-6.2042	-5.0942	-1.8850	-0.9609	0.0000

Como podemos observar en la tabla 26, no existen valores menores al DMS =0.2581 (ver tabla 22 y 23) por lo tanto indica que existe diferencia significativa entre cada media de cada uno de los niveles de concentración evaluados, lo que significa que el método es capaz de distinguir diferencias de concentración de hasta 1 µg/mL.

6.2.7. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación y detección del método para ácido acetilsalicílico se determinó por extrapolación a partir de la curva obtenida para la linealidad del método, mediante las ecuaciones:

$$LD = 3.3 * \left(S_{y/x}/m \right) = 3.3 * \left(S_{y/x}/m \right) = 0.7507$$

$$LC = 10 * \left(S_{y/x}/m \right) = 10 * \left(S_{y/x}/m \right) = 2.2751$$

Tabla 29. Resultados de la estimación de LD y LC para el método de perfiles de disolución.

Límites	Resultado (µg/mL)
LD	0.7507
LC	2.2751

La concentración más baja que puede detectarse con el instrumento con un cierto nivel de confianza por el modelo es de 0.75079µg/mL, sin embargo no puede cuantificarse, ya que la concentración más baja que puede determinarse con precisión y exactitud es de 2.275 µg/mL, lo que demuestra que el método es factible para su uso a las concentraciones y condiciones planteadas para el mismo (ver tabla 27).

6.2.8. ROBUSTEZ

Se determinó la robustez del método preparando sistemas con 100% de ASA por triplicado con una solución placebo a 3 pH diferentes (1.6, 1.2 y 0.9).

Tabla 30. Resultados de medias aritméticas del porcentaje recuperado a los diferentes pH y $|y_0 - y_1|$.

pH	% recuperado	media aritmética	Y _i	di
1.6	100.0359	Y ₁	99.3174	0.0524
	99.5038			
	98.4123			
1.2	99.7616	Y ₀	99.2649	-----
	98.9880			
	99.0452			
0.9	102.7346	Y ₁	102.5006	3.2356
	102.8890			
	101.8782			

Tabla 31. Resultados de ANADEVa para el porcentaje recuperado a los tres diferentes pH.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20.6056	2	10.3028	26.48	0.0011
Intra grupos	2.33485	6	0.389142		
Total (Corr.)	22.9404	8			

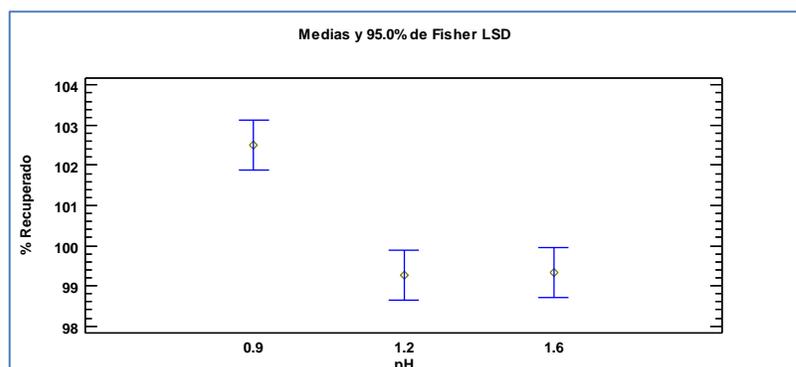


Figura 25. Análisis de medias para porcentaje recuperado en los tres diferentes pH (1.6, 1.2 y 0.9), con un 95% de confianza.

En el ANADEVa (ver tabla 29), se demuestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de pH de 0.9 con respecto a los otros niveles (pH 1.2 y 1.6), con un 95% de confianza, con un valor- P menor a 0.05, por tanto el método no cumple con el criterio de robustez. Por otro lado en la tabla 28 se muestra la diferencia de medias aritméticas y demuestra que en el pH 0.9 existe una variación mayor al 3%, por lo que queda corroborada la diferencia entre los resultados variando el pH (figura 25).

6.2.9. TOLERANCIA

Para determinar la tolerancia del método, se preparó una concentración al 100% por triplicado y por pesadas independientes, las cuales se leyeron en dos equipos diferentes.

Tabla 32. Resultados de porcentaje de recuperación en 2 diferentes equipo.

Equipo	% Recuperado	Criterios de aceptación	
1	100.0359	S	0.8277
	99.5038	X	99.317
	98.41237	C.V.	0.8334
2	100.1079	S	0.7108
	99.59780	X	99.4697
	98.70363	C.V.	0.7146472

Tabla 33. Análisis de variancia para el porcentaje recuperado por los equipos.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00505856	1	0.00505856	0.02	0.8859
Intra grupos	0.86516	4	0.21629		
Total (Corr.)	0.870218	5			

La tabla 31 muestra los resultados del análisis estadístico (ANADEVA) mostrando un valor de F de 0.02 y un valor-P mayor de 0.05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes recuperados por ambos equipos con un nivel de confianza del 95%, por lo tanto el método tolera el cambio de un equipo a otro.

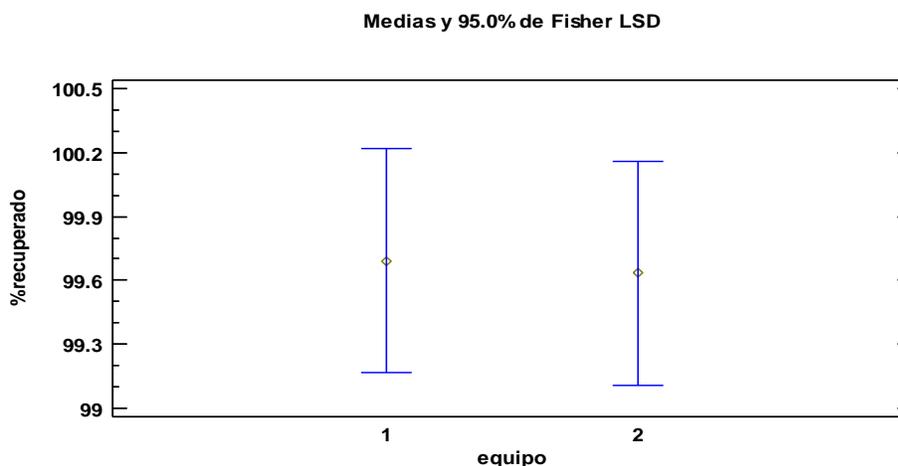


Figura 26.-Análisis de medias de comparación del porcentaje recuperado de ASA por dos equipos diferentes, que demuestra que no hay diferencia significativa al utilizar un equipo u otro.

6.2.10. VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DISLUCIÓN

Para la validación de las diluciones realizadas para perfiles de disolución de ASA se prepararon 5 niveles de concentración por triplicado por pesadas independientes, de cada solución estándar se tomó 1mL y se llevó a un volumen final de 25 mL, por otro lado se realizó lo mismo para validar la dilución 1/10 mL.

6.2.10.1. VALIDACIÓN DE LA DISOLUCIÓN 1/25

Tabla 34. Resultados de la validación de la dilución 1/25 en HCl 0.1N para perfiles de disolución.

C. ASA ($\mu\text{g/mL}$)	C. Adicionada (mg)	C. recuperada (mg)	% recuperado	Parámetros de regresión			
				\bar{x}		\bar{x}	
16	40.36	40.0497	99.23136	\bar{x}	99.628	\bar{x}	101.0121
	40.36	40.2349	99.69016	s	0.3704	s	0.8798
	40.36	40.3456	99.96446	C.V.	0.3717	C.V.	0.8710
24	60.12	60.4917	100.6182	\bar{x}	100.889	r	0.9999
	60.12	60.2265	100.1771	s	0.8805	r^2	0.9998
	60.12	61.2467	101.8742	C.V.	0.8727	m	1.0250
32	80.36	81.1819	101.0228	\bar{x}	80.9119	b	-1.0165
	80.36	81.6174	101.5648	s	0.6241		
	80.36	81.5924	101.5336	C.V.	0.7713		
40	100.23	102.0245	101.7904	\bar{x}	101.695		
	100.23	101.8855	101.6517	s	0.0822		
	100.23	101.8781	101.6443	C.V.	0.0809		
48	120.4	122.8839	102.0630	\bar{x}	101.473		
	120.4	122.0514	101.3716	s	0.5463		
	120.4	121.5853	100.9845	C.V.	0.5384		

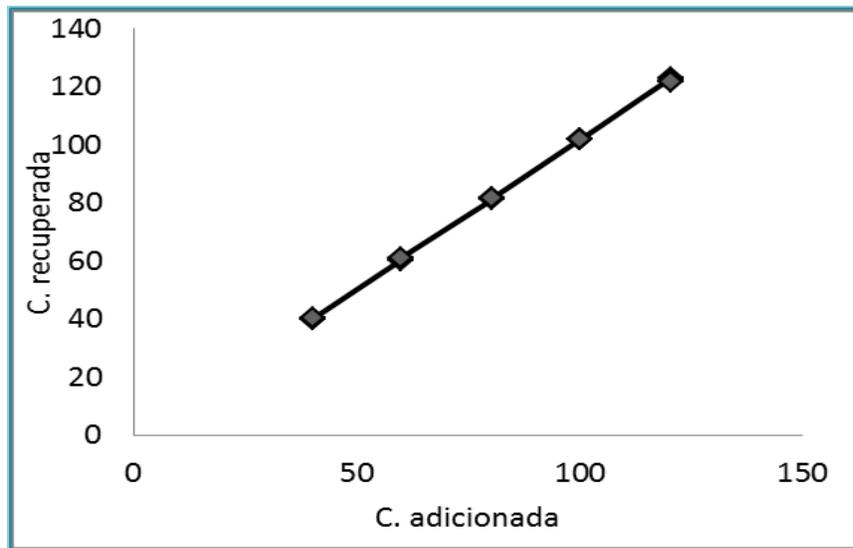


Figura 27. Validación de las disoluciones 1/25 para perfiles de disolución de ASA en HCl 0.1 N.

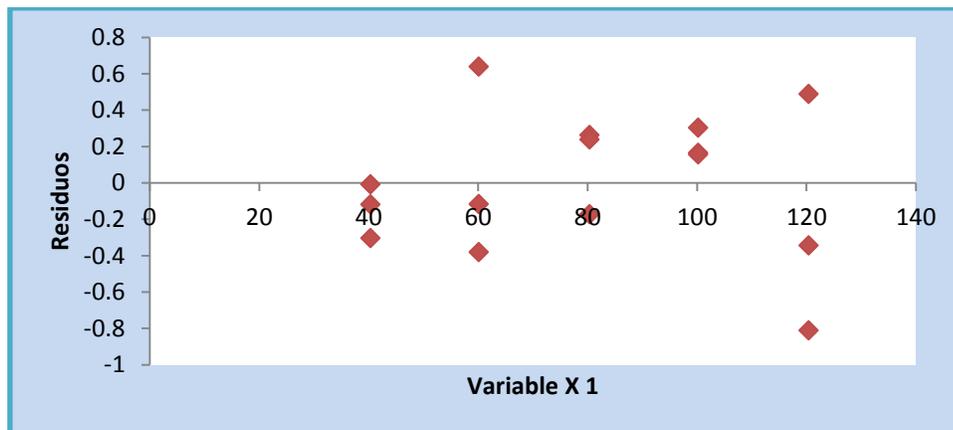


Figura 28. Gráfico de residuales de la validación de la dilución 1/25 de ASA en HCl 0.1N.

Tabla 35. Análisis de variancia para validación de diluciones 1/25.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	12632.1437	12632.1437	82664.3328	4.1141E-26
Residuos	13	1.9865	0.1528		
Total	14	12634.1303			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	-1.01662151	0.3035	-3.3493	0.0052	-1.6723	-0.36083
Variable X 1	1.0250	0.0035	287.5140	4.1141E-26	1.0173	1.03222

6.2.10.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD

Tabla 36. Resultados de la validación de la precisión y exactitud de la dilución 1/25 de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.

Conc. ASA (µg/mL)	C. en el sistema. (µg/mL)	C. recuperada (mg)	C. adicionada (mg)	% recuperado	Parámetros estadísticos	
16.144	16.019911	40.0497776	40.36	99.231361	\bar{x}	99.8944063
	16.0939791	40.2349478	40.36	99.6901582	s	0.39438975
	16.1382618	40.3456545	40.36	99.9644562	C.V.	0.39480664
	16.1468641	40.3671602	40.36	100.017741	-----	
	16.156036	40.3900901	40.36	100.074554	-----	
	16.2066657	40.5166641	40.36	100.388167	-----	
32.144	32.4727978	81.1819946	80.36	101.02289	\bar{x}	80.929633
	32.646993	81.6174826	80.36	101.564812	s	0.60480189
	32.6369614	81.5924035	80.36	101.533603	C.V.	0.74731821
	32.6070058	81.5175145	80.36	101.440411	-----	
	32.6310125	81.5775311	80.36	101.515096	-----	
	32.6034678	81.5086695	80.36	101.429405	-----	
48.16	49.1535811	122.883953	120.4	102.063084	\bar{x}	101.432121
	48.8205819	122.051455	120.4	101.37164	s	0.39286057
	48.6341448	121.585362	120.4	100.98452	C.V.	0.38731377
	48.8445442	122.111361	120.4	101.421396	-----	
	48.9602633	122.400658	120.4	101.661676	-----	
	48.6851405	121.712851	120.4	101.090408	-----	

6.2.11. VALIDACIÓN DE LA DILUCIÓN 1/10

Tabla 37. Resultados de Validación de la dilución 1/10mL de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.

C. ASA ($\mu\text{g/mL}$)	C. Recuperada	C. Adicionada	% Recuperado	Parámetros estadísticos		parámetros estadísticos globales	
16	16.182	16.17	100.07810	\bar{x}	100.528	\bar{x}	100.082
	16.144	16.17	99.84130	s	0.99289	s	0.16579
	16.439	16.17	101.66717	C.V.	0.98767	C.V.	0.16566
24	24.392	24.13	101.08711	\bar{x}	100.239	r	0.99971
	23.998	24.13	99.45525	s	0.81779	r^2	0.99941
	24.172	24.13	100.17572	C.V.	0.81584	m	0.99082
32	31.913	32.26	98.92523	\bar{x}	100.003	b	0.26820
	32.446	32.26	100.57839	s	0.82609		
	32.164	32.26	99.70413	C.V.	0.82606		
40	40.780	40.25	101.31703	\bar{x}	100.285		
	40.433	40.25	100.45471	s	1.12552		
	39.881	40.25	99.08512	C.V.	1.12232		
48	47.766	48.39	98.71075	\bar{x}	99.3559		
	48.027	48.39	99.25038	s	0.70386		
	48.441	48.39	100.10656	C.V.	0.70843		

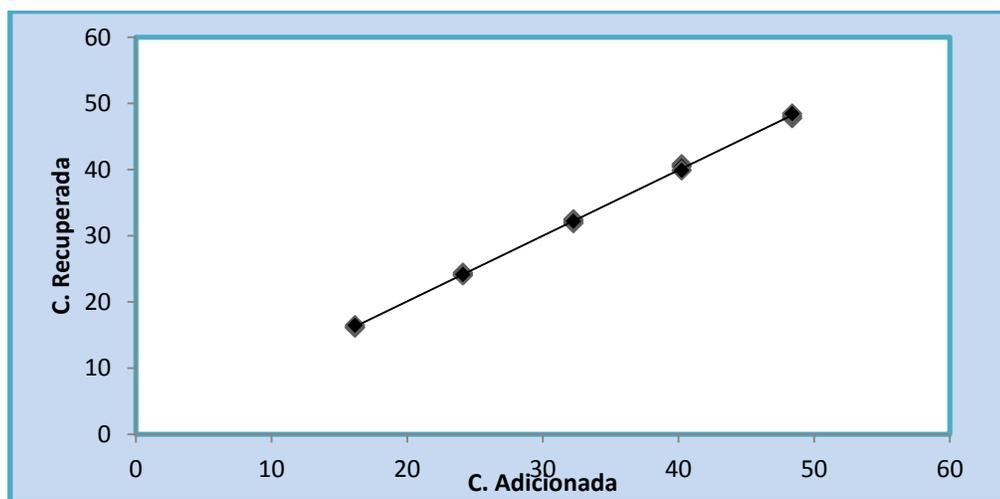


Figura 29. Validación de ASA 1/10 de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.

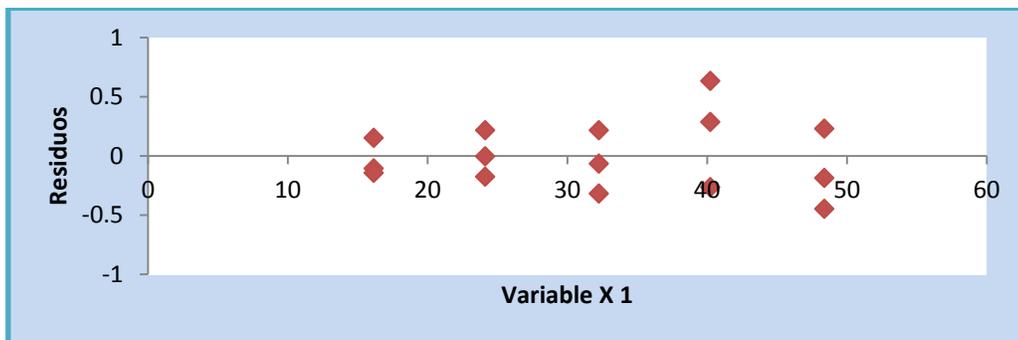


Figura 30. Gráfico de residuales de la dilución 1/10 de ASA en HCl 0.1 N para perfiles de disolución.

Tabla 38. Análisis de variancia para dilución 1/10.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	1911.4209	1911.4209	22116.8815	2.1627E-22
Residuos	13	1.1235	0.0864236		
Total	14	1912.5444			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	0.26820329	0.22781427	1.17728925	0.2601852	-0.22395952	0.7603661
Variable X 1	0.99082099	0.00666244	148.717455	2.1627E-22	0.97642767	1.00521432

La validación de ambas diluciones se realizó mediante la preparación de soluciones estándar a diferentes proporciones, de las cuales se tomó 1mL de cada una para obtener sistemas de 10mL y 25 a 5 niveles de concentración y se determinó la linealidad, la precisión y la exactitud. Por lo que se refiere a ambas diluciones se puede hablar de que son precisas y exactas, considerando que en el análisis de residuales de la regresión se denota una dispersión constante de los datos, ajustándose a una línea recta.

La precisión en condiciones normales expresa el error aleatorio de las diluciones realizadas y esta dependerá de la concentración del analito en cada sistema y del número de repeticiones que se realiza.

La exactitud a su vez refleja los errores sistemáticos, ésta dependerá del porcentaje de recuperación de la cantidad añadida a la muestra, de la variación de este porcentaje y del número de muestras analizadas.

Las diluciones realizadas para la determinación de la concentración de ASA a los diferentes tiempos de muestreo cumplen con los objetivos del estudio de disolución, encontrando valores de recuperación que se acercan al 100% y coeficientes de variación inferiores al 2%.

6.3. APLICACIÓN DEL MÉTODO PARA ESTUDIO DE DISOLUCIÓN DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN TABLETAS

El estudio de disolución de las tabletas de ácido acetilsalicílico, se llevó a cabo utilizando el aparato II y IV USP.

El objetivo principal fue desarrollar y validar un método confiable, capaz de evaluar perfiles de disolución del ácido acetilsalicílico en tabletas en el aparato IV USP, sin embargo cabe mencionar que también se evaluaron perfiles de disolución en el aparato de paletas (II), cuyo fin fue comparar los resultados de disolución obtenidos en ambos aparatos.

Tabla 39. Resultados de concentraciones de ASA a los diferentes tiempos en las 12 tabletas evaluadas en el aparato IV USP del producto de referencia (lote X209VP).

Tiempo (min)	Concentración de ASA a los diferentes tiempos de muestreo ($\mu\text{g/mL}$)												Parametros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv Estd	CV
2	885.0256	978.9414	885.718	777.6137	1263.6731	768.629	915.5867	800.8342	730.6817	1019.6542	813.8664	750.9314	882.5963	150.823	17.0886
4	1234.5412	1285.2122	1105.1605	963.0443	1716.5804	1020.9364	1479.2189	987.011	822.6082	1359.9168	1711.6566	1069.9621	1229.6541	291.0781	23.6715
6	1449.0105	1476.0243	1116.3933	1143.5529	1969.3877	1169.2947	1569.2222	1206.7038	882.0006	1461.5853	2123.8361	1240.5482	1400.63	359.2013	25.6457
8	1591.4052	1570.961	1186.8816	1328.552	1904.4359	1293.6377	1602.056	1371.178	896.8501	1527.1743	2023.1017	1260.5132	1463.0622	309.4184	21.1487
10	1559.1616	1555.346	1190.9749	1423.9163	1707.2774	1301.3255	1463.1318	1429.7646	1010.4146	1550.4565	1832.5351	1315.709	1445.0011	223.0084	15.4331
12	1570.8923	1630.6985	1263.0815	1402.8562	1613.9028	1448.6601	1352.3038	1553.1055	1251.7293	1607.2089	1710.9702	1325.4033	1477.5677	156.6714	10.6033
14	1618.1221	1580.272	1265.9122	1597.2999	1586.6815	1512.5131	1393.5155	1589.8373	1493.1002	1472.2336	1669.2238	1436.2264	1517.9115	113.3832	7.4697
16	1563.264	1530.2727	1345.3455	1655.1922	1585.2212	1581.7266	1503.323	1526.8123	1549.2996	1431.6966	1598.3017	1545.7819	1534.6864	80.9099	5.2721
18	1574.0379	1551.9315	1437.7226	1685.324	1488.583	1453.2689	1460.1894	1371.7298	1583.6533	1297.6291	1512.5131	1583.2313	1499.9845	105.2228	7.0149
20	1544.4761	1493.6341	1435.5221	1659.6732	1432.3564	1419.339	1451.2199	1485.7154	1557.7984	1165.4729	1501.2437	1541.1321	1473.9653	118.3776	8.0312
30	1151.5847	1029.9385	1193.6008	1108.9145	1012.4534	984.126	1218.0364	1266.1181	1254.7112	1036.8831	1345.3893	1267.2009	1155.7464	119.7833	10.3642
40	565.4202	581.7625	689.7523	693.4033	535.5519	744.6666	740.3203	766.6272	890.197	687.9837	611.5132	777.3947	690.3828	102.856	14.8984
50	388.2261	482.9592	451.3836	485.7956	428.2348	541.2225	533.0836	597.7438	555.465	494.5623	462.5633	528.793	495.8361	58.7564	11.85
70	277.1181	369.2198	299.8209	312.9311	242.6555	299.6692	317.6849	334.741	335.9087	214.8818	304.8197	268.7438	298.1829	42.4109	14.2231
90	132.7617	174.098	207.4704	263.2823	135.3826	135.6208	138.9346	210.0516	161.9018	162.1975	170.8328	139.5385	169.3394	39.8958	23.5597
120	85.4695	77.101	78.3582	78.2671	66.252	62.6607	68.0647	78.3582	86.8817	119.1255	110.8232	71.5923	81.9128	17.146	20.932
150	41.4043	59.7743	38.7721	70.3383	32.8197	32.7936	26.0657	38.7721	38.7615	52.8583	56.1638	31.3143	43.3198	13.4347	31.0128

Tabla 24. Resultados del % acumulado en los perfiles de disolución de ASA en HCl 0.1N evaluados en el aparo IV USP del producto de referencia (lote X209VP).

Tiempo (min)	Porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (%)												Parametros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv Estd	C.V.
2	2.8321	2.9368	2.8343	2.3328	4.0438	2.4596	2.7468	2.4025	2.192	3.059	2.2788	2.403	2.7101	0.5074	18.7216
4	6.7826	6.7925	6.3708	5.222	9.5368	5.7266	7.1844	5.3635	4.6599	7.1387	7.0715	5.8269	6.473	1.2778	19.7406
6	11.4194	11.2205	9.9433	8.6526	15.8389	9.4684	11.8921	8.9836	7.3059	11.5235	13.0182	9.7966	10.7552	2.2603	21.0154
8	16.5119	15.9334	13.7413	12.6383	21.933	13.608	16.6983	13.0972	9.9964	16.105	18.6829	13.8303	15.2313	3.1243	20.5125
10	21.5013	20.5995	17.5524	16.91	27.3963	17.7722	21.0876	17.3865	13.0277	20.7564	23.814	18.0405	19.6537	3.7169	18.9118
12	26.5281	25.4915	21.5943	21.1186	32.5608	22.4079	25.1446	22.0458	16.7829	25.578	28.6047	22.2818	24.1783	4.0677	16.8238
14	31.7061	30.2324	25.6452	25.9105	37.6382	27.248	29.3251	26.8153	21.2622	29.9947	33.2785	26.8777	28.8278	4.2161	14.6249
16	36.7086	34.8232	29.9503	30.8761	42.7109	32.3095	33.8351	31.3957	25.9101	34.2898	37.7538	31.8242	33.5323	4.2795	12.7622
18	41.7455	39.479	34.551	35.9321	47.4744	36.96	38.2156	35.5109	30.661	38.1827	41.9888	36.8906	38.1326	4.2672	11.1904
20	46.6878	43.9599	39.1447	40.9111	52.0579	41.5019	42.5693	39.9681	35.3344	41.6791	46.1923	41.8222	42.6524	4.2432	9.9483
30	65.1132	59.409	58.2423	57.5448	68.2572	57.2479	60.8398	58.4534	54.1551	57.8545	65.5659	61.0837	60.3139	4.0921	6.7847
40	74.1599	68.1354	69.2783	67.9458	76.826	69.1625	71.9447	69.6462	67.508	68.587	74.3717	72.9001	70.8721	3.0648	4.3245
50	80.3715	75.3798	76.5005	75.2328	83.6778	77.8221	79.9409	78.3732	75.84	76.3022	81.0326	80.9377	78.4509	2.7221	3.4698
70	89.2393	86.4564	86.0947	84.6207	91.4427	87.4115	89.4715	88.0807	85.9173	82.9205	89.9333	88.6775	87.5222	2.4296	2.7760
90	93.4876	91.6793	92.7338	92.5192	95.775	91.7514	93.6395	94.1722	90.7743	87.9162	94.9217	92.6962	92.6722	2.0587	2.2215
120	97.5902	95.0718	96.495	95.9629	98.9551	94.7591	96.7705	97.6983	94.7709	93.6342	99.7979	95.9895	96.4579	1.8191	1.8859
150	99.5776	97.7497	98.356	99.1141	100.5304	96.3332	97.9695	99.4431	96.5539	96.1714	102.2691	97.4299	98.4582	1.8253	1.8539

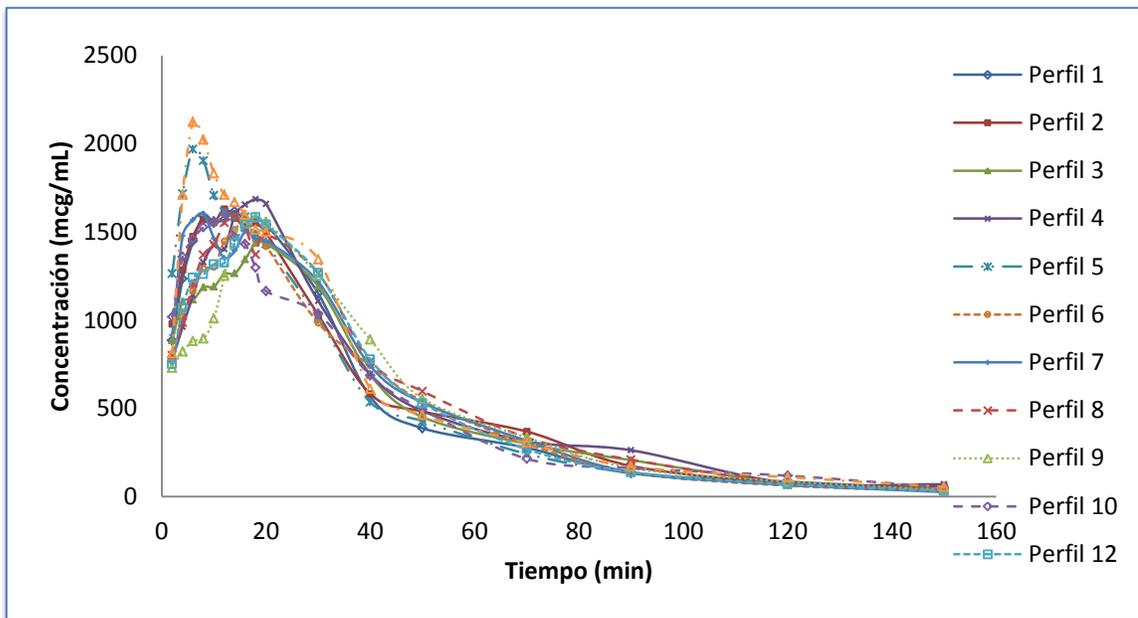


Figura 31. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209VP).

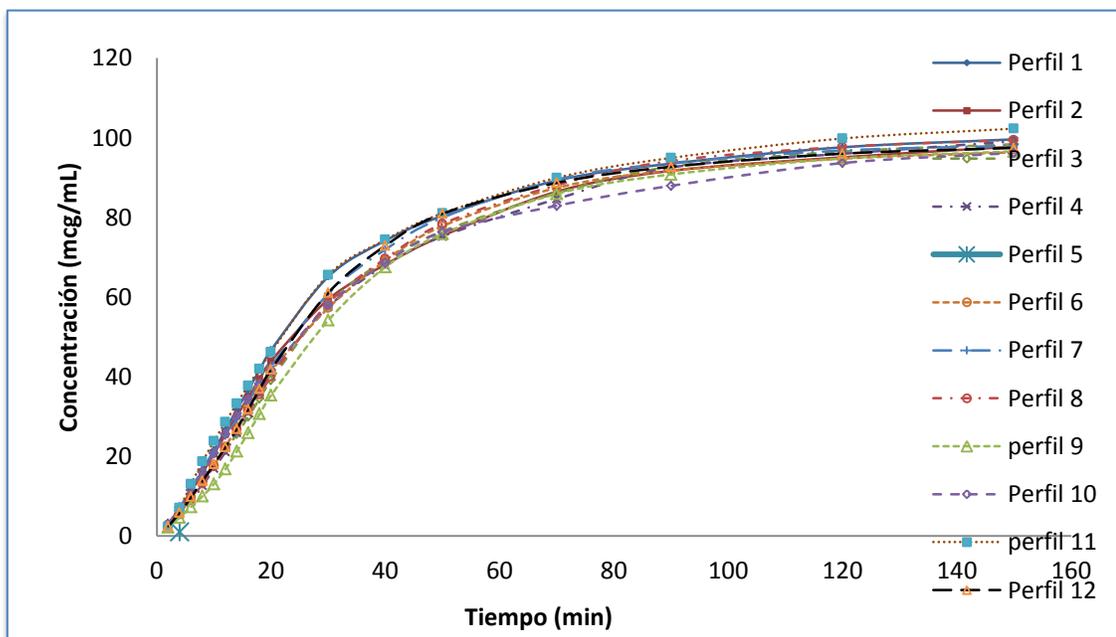


Figura 32. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209VP).

Tabla 40. Resultados de las concentraciones de ASA obtenidas a los diferentes tiempos de muestreo para el producto de referencia (lote X207UU).

tiempo (min)	Concentración de ASA a los diferentes tiempos de muestreo ($\mu\text{g/mL}$)												Parametros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv Estd	C.V.
2	1083.7805	1196.5347	1233.4054	1006.7613	1392.4711	1421.0237	1032.7218	1013.0235	1562.2203	1782.7059	1511.3089	1145.7597	1281.8097	239.9837	1.8722
4	1588.8896	1689.3452	1534.9437	1372.051	1845.2278	2079.3855	1233.4599	1543.5412	1617.1652	2207.2048	1941.9337	1330.311	1665.2882	288.5709	1.7329
6	1860.5846	1876.6336	1584.475	1535.8559	1578.3118	1844.8901	1537.1916	1777.7126	1663.6395	2246.5746	2109.9819	1426.0892	1753.495	237.0761	1.352
8	1822.3372	1824.9647	1497.5912	1394.9329	1493.6893	1747.9831	1820.4813	1753.9609	1651.9761	2100.0074	1908.3029	1344.6293	1696.738	215.7883	1.2718
10	1655.5736	1785.2216	1378.7271	1386.6767	1474.8748	1578.8189	1741.7718	1699.7476	1620.1599	1835.6302	1648.6704	1290.2259	1591.3416	166.1764	1.0443
12	1683.4236	1712.5271	1382.196	1423.3405	1439.8	1563.589	1666.1713	1656.1071	1486.9843	1529.2344	1564.5496	1283.9175	1532.6534	128.2263	0.8366
14	1610.0284	1536.3412	1222.3135	1396.4071	1416.9819	1495.2516	1535.9717	1553.2023	1369.9586	1351.1271	1457.3375	1266.9509	1434.3226	113.9265	0.7943
16	1499.314	1382.7587	1217.6704	1345.1379	1326.1374	1413.3579	1394.9494	1469.6397	1182.6271	1219.3152	1288.8386	1292.0287	1335.9812	96.4605	0.722
18	1217.1849	1232.5627	1231.5618	1109.4855	1231.0232	1375.6328	1244.7344	1269.9624	1077.2877	1088.6996	1176.6779	1341.7841	1216.3831	88.5634	0.7281
20	1069.3479	1283.6629	1227.3102	984.8092	1157.4182	1317.8893	1140.2212	1103.9601	1031.1789	980.3952	1073.3757	1243.2222	1134.3993	109.0175	0.961
30	780.7885	871.7927	899.0372	819.5149	766.8919	968.998	768.5145	717.9293	845.0194	692.4142	709.4552	771.0952	800.9543	79.4356	0.9918
40	583.7465	671.7543	649.7596	594.1087	576.6591	625.6828	582.5782	597.8424	536.3787	522.4344	575.8486	528.2863	587.09	43.9947	0.7494
50	452.21	454.6949	450.3283	474.7472	431.167	370.6816	447.6901	399.2425	433.444	375.7077	428.22	362.9483	423.4234	35.6339	0.8416
70	278.5483	315.7628	348.9884	322.994	267.7569	221.6911	275.7393	303.0784	255.26	234.4869	232.8744	302.7056	279.9905	38.0892	1.3604
90	163.6468	142.4137	189.0606	207.1904	184.5938	120.3809	191.5274	163.1905	193.7187	176.2153	197.947	189.1272	176.5844	24.084	1.3639
120	111.4067	72.6598	103.4487	130.8304	94.4925	57.8695	115.8276	84.055	145.3618	69.7346	126.4506	110.953	101.9242	25.6563	2.5172
150	62.9331	35.4668	45.8408	49.5208	44.8025	34.0928	55.1988	33.4583	72.3106	32.8143	66.5109	58.2181	49.264	13.2397	2.6875

Tabla 41. Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X209UU).

Tiempo (min)	Porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (%)												Parámetros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv Estd	CV
2	3.4681	3.8289	3.9469	3.2216	4.4559	4.5473	3.3047	3.2417	4.9991	5.7047	4.8362	3.8956	4.1209	0.7935	19.2548
4	8.5525	9.2348	8.8587	7.6122	10.3606	11.2013	7.2518	8.1810	10.1740	12.7677	11.0504	8.4186	9.4720	1.6533	17.4549
6	14.5064	15.2400	13.9290	12.5269	15.4112	17.1050	12.1708	13.8697	15.4977	19.9568	17.8023	13.2673	15.1069	2.2760	15.0658
8	20.3379	21.0799	18.7213	16.9907	20.1910	22.6985	17.9963	19.4824	20.7840	26.6768	23.9089	17.8391	20.5589	2.7793	13.5185
10	25.6357	26.7926	23.1333	21.4281	24.9106	27.7507	23.5700	24.9216	25.9685	32.5508	29.1846	22.2259	25.6727	3.1220	12.1608
12	31.0227	32.2727	27.5563	25.9828	29.5180	32.7542	28.9018	30.2211	30.7269	37.4443	34.1912	26.5912	30.5986	3.2784	10.7142
14	36.1748	37.1890	31.4677	30.4513	34.0523	37.5390	33.8169	35.1913	35.1107	41.7680	38.8547	30.8988	35.2095	3.3722	9.5775
16	40.9726	41.6138	35.3642	34.7557	38.2960	42.0618	38.2807	39.8942	38.8951	45.6698	42.9790	35.2917	39.5062	3.3595	8.5037
18	44.8676	45.5580	39.3052	38.3061	42.2353	46.4638	42.2639	43.9581	42.3425	49.1536	46.7443	39.8538	43.4210	3.3008	7.6019
20	48.2895	49.6658	43.2326	41.4575	45.9390	50.6810	45.9126	47.4907	45.6422	52.2909	50.1791	44.0807	47.0718	3.2778	6.9634
30	60.7821	63.6145	57.2576	54.5697	58.2093	66.1850	58.2088	58.9776	59.1625	63.3695	61.5304	57.0351	59.9085	3.2958	5.5014
40	70.1220	74.3625	67.3939	64.0754	67.4358	76.1959	67.5300	68.5431	67.7446	71.7284	70.7440	65.9103	69.3155	3.4884	5.0326
50	77.3574	81.6376	74.4190	71.6714	74.3345	82.1268	74.6931	74.9310	74.6797	77.7398	77.5955	72.0079	76.0995	3.3188	4.3611
70	86.2710	91.7420	85.1678	82.0072	82.9027	89.2209	83.5167	84.6295	82.8480	85.2433	85.0475	82.1788	85.0646	2.9109	3.4220
90	91.5077	96.2993	90.9909	88.6373	88.8097	93.0731	89.6456	89.8516	89.0470	90.8822	91.3818	88.5334	90.7216	2.2421	2.4714
120	96.8552	99.7870	95.7495	94.9172	93.3453	95.8509	95.2053	93.8862	96.0244	94.2295	97.4514	94.0811	95.6152	1.7996	1.8821
150	99.8760	101.4894	97.8582	97.2942	95.4959	97.4873	97.8549	95.4922	99.4953	95.8046	100.6439	96.9920	97.9820	2.0026	2.0439

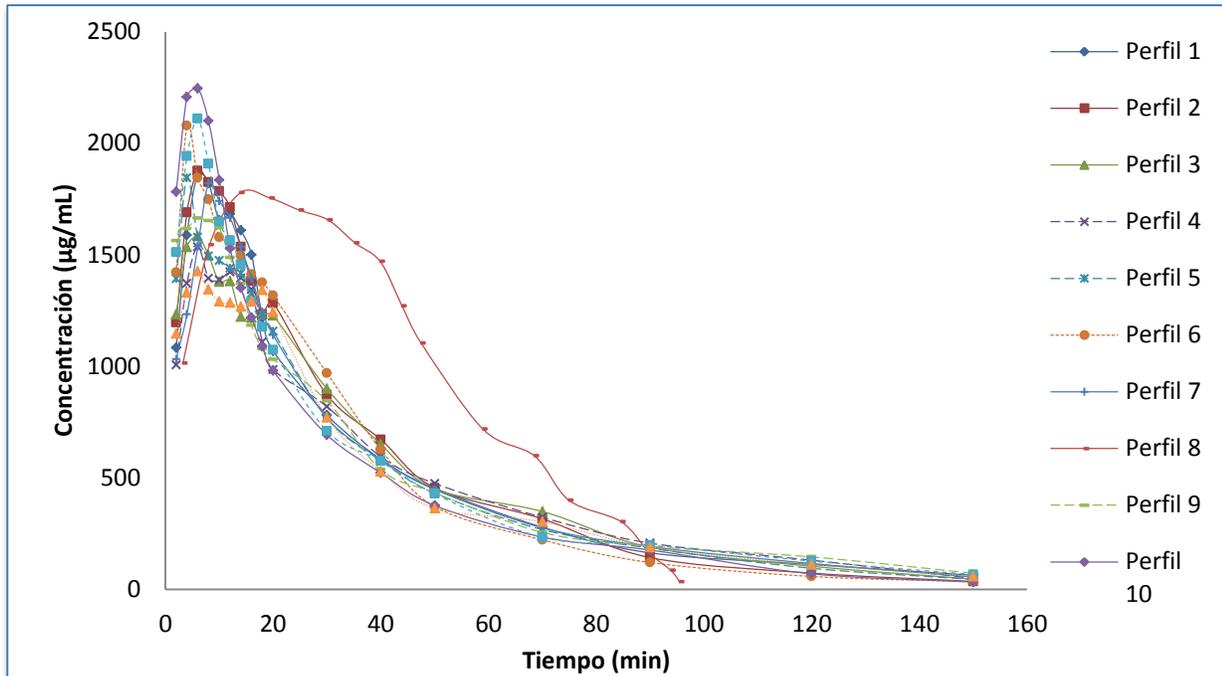


Figura 33. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209UU).

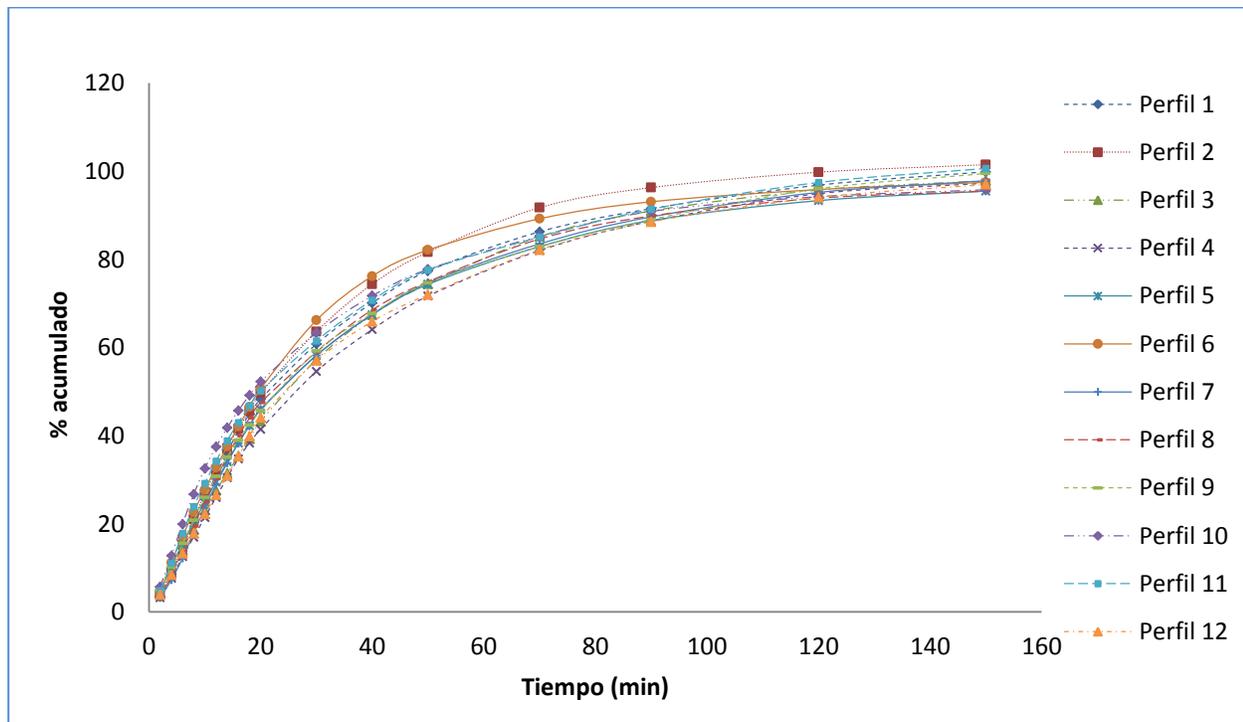


Figura 34. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209UU).

Tabla 42. . Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X208A3).

Tiempo (min)	Concentración de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (µg/mL)												Parametros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv. Estd.	C.V.
2	1026.75	790.8883	904.3651	1068.6515	891.6523	535.0756	977.8409	880.8979	1219.289	1067.1791	903.9147	1263.673	960.8482	193.9622	20.1866
4	1042.827	1311.7044	1639.477	1576.9036	1372.8679	970.5638	1695.2565	1409.0297	1744.892	1573.8962	1586.658	1716.58	1470.0547	256.1579	17.4251
6	1191.556	1677.693	1803.6282	1690.2045	1614.8417	1256.6616	1819.9721	1622.3295	1893.806	1643.6844	1848.216	1969.388	1669.3317	237.0382	14.1996
8	1437.102	1545.2087	1747.8513	1632.0127	1516.8326	1553.9997	1758.1342	1682.4422	1654.057	1579.9191	1609.067	1904.436	1635.0885	125.9773	7.7046
10	1413.386	1509.6594	1682.3278	1527.6429	1438.2472	1622.6008	1595.6561	1603.0317	1740.757	1565.3515	1538.4	1707.277	1578.6948	101.1622	6.408
12	1576.762	1310.3955	1591.072	1422.8361	1447.1117	1463.1363	1486.0622	1487.7203	1654.952	1473.5412	1485.78	1613.903	1501.1059	94.6108	6.3027
14	1228.536	1338.4527	1415.5784	1302.2724	1514.923	1185.2177	1430.4393	1368.4782	1583.844	1432.1721	1286.257	1586.682	1389.4043	129.8651	9.3468
16	1239.724	1367.7636	1349.7317	1279.2338	1403.822	1087.7672	1337.4951	1285.1469	1456.625	1371.8959	1077.778	1585.221	1320.1837	142.7404	10.8122
18	1185.645	1390.5523	1348.7991	1306.3621	1227.0916	1082.5989	1316.4594	1196.108	1256.256	1337.99	1023.725	1488.583	1263.3475	130.1989	10.3059
20	1182.877	1426.3745	1116.2841	1152.1442	1079.282	1175.6807	1226.1905	967.9945	1124.781	1143.8561	978.4283	1432.356	1167.1874	144.4385	12.3749
30	994.4619	1212.2151	883.3075	931.4747	925.6408	1004.0223	899.1602	823.0129	857.0534	976.9309	840.3547	1012.453	946.674	105.7015	11.1656
40	595.2774	842.1214	535.7774	662.1654	818.6737	694.1374	716.2503	645.9349	566.5464	545.6851	601.6016	535.5519	646.6436	104.9052	16.223
50	527.8138	530.4333	405.2986	368.0326	478.3058	557.3271	471.2608	552.8056	414.3233	426.3893	426.0424	428.2348	465.5223	63.6535	13.6736
70	294.6495	263.4535	337.831	256.4938	309.9291	354.8672	312.9311	496.9031	212.0277	271.3949	321.6483	242.6555	306.232	72.978	23.8309
90	151.883	124.3579	147.2264	141.1147	157.0983	242.4221	170.648	262.8545	143.1145	150.7109	257.5428	135.3826	173.6963	50.0829	28.8336
120	88.9145	64.8655	92.4663	53.1501	69.7536	110.1611	109.2739	85.1928	69.1188	110.9383	100.7673	66.252	85.0712	20.1601	23.6979
150	52.0146	26.0619	49.5944	41.1511	36.3245	71.7998	53.9688	65.6084	40.7068	55.0905	47.3757	32.8197	47.7097	13.241	27.7532

Tabla 43 Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X208A3).

Tiempo (min)	Porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (%)												Parametros evaluados		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	Promedio	Desv. Estd.	C.V.
2	3.285601	2.4675714	2.8939685	3.462431	2.8532875	1.669436	2.9726363	2.6779296	3.999268	3.4149732	2.892527	4.043754	2.96269355	0.65538451	22.1212387
4	6.622645	6.5600891	8.1402948	8.5715986	7.2464646	4.6975952	8.126216	6.9613798	9.722515	8.4514412	7.969832	9.536811	7.551824745	1.39672778	18.4952356
6	10.43562	11.794491	13.911905	14.047861	12.413958	8.6183793	13.658931	11.893261	15.9342	13.711231	13.88412	15.83885	12.75490588	2.1130415	16.5665001
8	15.03435	16.615542	19.505029	19.335582	17.267823	13.466858	19.003659	17.007886	21.3595	18.766973	19.03314	21.93305	17.85421298	2.44570755	13.6982098
10	19.55718	21.32568	24.888478	24.285145	21.870214	18.529373	23.854454	21.881102	27.06919	23.776097	23.95602	27.39633	22.81753901	2.69757183	11.822361
12	24.60282	25.414114	29.979909	28.895134	26.500971	23.094358	28.372083	26.403772	32.49743	28.491429	28.71051	32.56082	27.54204815	2.9186406	10.5970354
14	28.53414	29.590086	34.509759	33.114497	31.348724	26.792237	32.720619	30.563946	37.69244	33.07438	32.82653	37.6382	31.88794122	3.30152322	10.3535164
16	32.50125	33.857508	38.828901	37.259215	35.840955	30.186071	36.786604	34.470792	42.47016	37.464447	36.27542	42.71091	35.99466662	3.67591963	10.2124008
18	36.29532	38.196031	43.145058	41.491828	39.767648	33.563779	40.78864	38.106961	46.59068	41.746015	39.55134	47.47438	39.93120941	3.97232559	9.94792207
20	40.08052	42.64632	46.717167	45.224775	43.22135	37.231903	44.516259	41.049664	50.27997	45.406354	42.68231	52.05792	43.55059945	4.14220037	9.51123618
30	55.99191	61.556875	60.496764	60.873549	57.661346	52.894651	58.183495	53.559461	64.33564	61.037248	56.12799	68.25717	58.42899388	4.43636995	7.5927543
40	65.51635	74.693969	68.854892	71.997929	70.432656	63.723194	69.0705	63.377671	73.627	69.76821	65.75361	76.826	68.80145345	4.32971174	6.29305272
50	73.96137	82.968728	75.17755	78.180876	77.894226	72.417497	76.233663	71.780316	80.42191	76.590439	72.57029	83.67776	76.19971514	3.98772744	5.23325767
70	83.39016	91.083096	85.853009	86.491275	87.687985	83.489352	85.746768	86.886169	87.37641	85.275074	82.86304	91.44274	86.01293985	2.73360718	3.17813481
90	88.25041	94.91332	90.505364	91.063392	92.652289	91.052922	90.934468	94.876945	92.07057	90.097824	91.10441	95.77498	91.59290131	2.23662171	2.441916
120	92.51831	97.949026	94.758816	93.635858	95.916757	96.208463	95.917358	98.761735	95.49886	95.422864	95.94124	98.95507	95.68448048	1.9077107	1.99375144
150	95.01501	99.168723	97.040157	95.627574	97.616744	99.568694	98.378334	101.75348	97.51792	98.067209	98.21527	100.5304	97.99719216	1.90288973	1.94177985

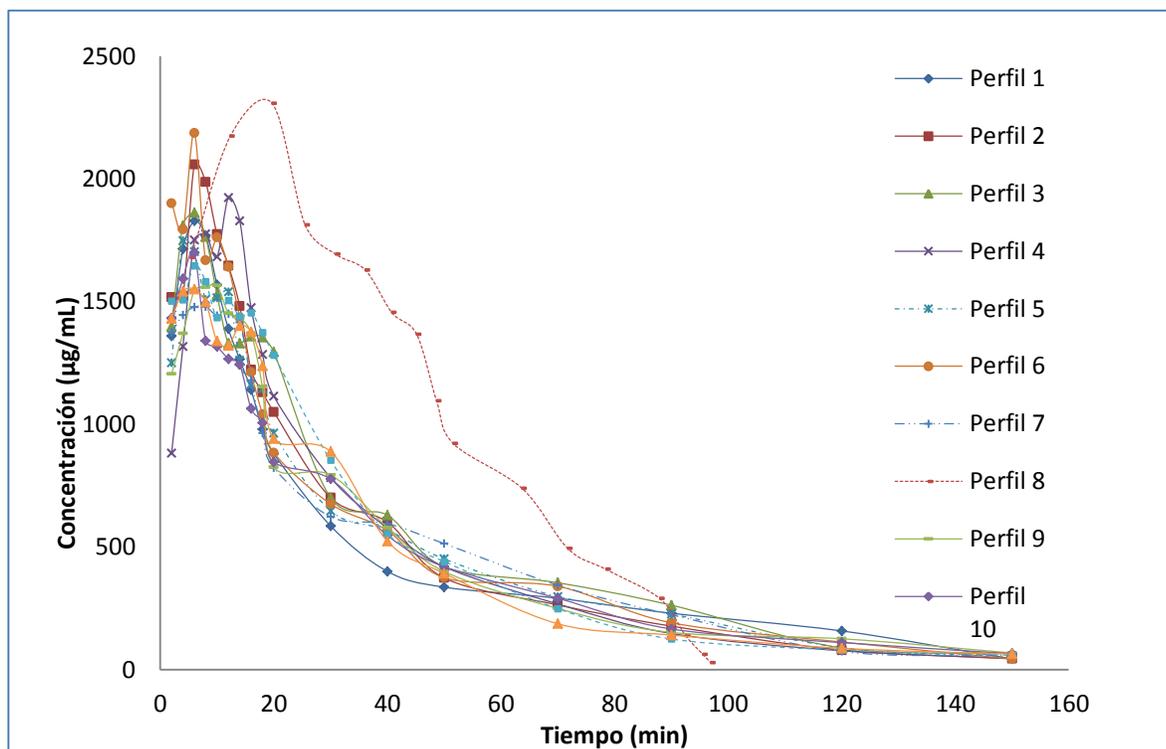


Figura 35. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X208A3).

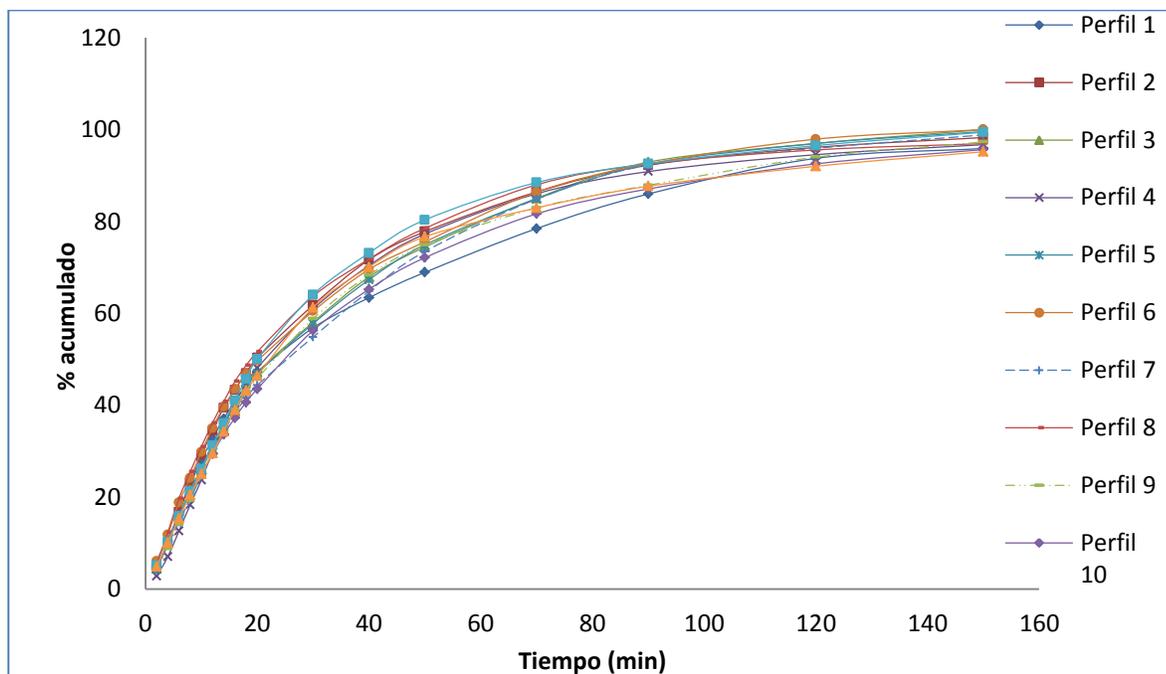


Figura 36. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X208A3).

Tabla 44. Resultados de concentración de ASA del producto de prueba en HClO.1N a los diferentes tiempos de muestreo.

Tiempo (min)	Concentración de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (µg/mL)												Promedio	Desv. Estd.	C.V.
2	1026.75	790.8883	904.3651	1068.6515	891.6523	535.0756	977.8409	880.8979	1219.289	1067.1791	903.9147	1263.673	960.8482	193.9622	20.1866
4	1042.827	1311.7044	1639.477	1576.9036	1372.8679	970.5638	1695.2565	1409.0297	1744.892	1573.8962	1586.658	1716.58	1470.0547	256.1579	17.4251
6	1191.556	1677.693	1803.6282	1690.2045	1614.8417	1256.6616	1819.9721	1622.3295	1893.806	1643.6844	1848.216	1969.388	1669.3317	237.0382	14.1996
8	1437.102	1545.2087	1747.8513	1632.0127	1516.8326	1553.9997	1758.1342	1682.4422	1654.057	1579.9191	1609.067	1904.436	1635.0885	125.9773	7.7046
10	1413.386	1509.6594	1682.3278	1527.6429	1438.2472	1622.6008	1595.6561	1603.0317	1740.757	1565.3515	1538.4	1707.277	1578.6948	101.1622	6.408
12	1576.762	1310.3955	1591.072	1422.8361	1447.1117	1463.1363	1486.0622	1487.7203	1654.952	1473.5412	1485.78	1613.903	1501.1059	94.6108	6.3027
14	1228.536	1338.4527	1415.5784	1302.2724	1514.923	1185.2177	1430.4393	1368.4782	1583.844	1432.1721	1286.257	1586.682	1389.4043	129.8651	9.3468
16	1239.724	1367.7636	1349.7317	1279.2338	1403.822	1087.7672	1337.4951	1285.1469	1456.625	1371.8959	1077.778	1585.221	1320.1837	142.7404	10.8122
18	1185.645	1390.5523	1348.7991	1306.3621	1227.0916	1082.5989	1316.4594	1196.108	1256.256	1337.99	1023.725	1488.583	1263.3475	130.1989	10.3059
20	1182.877	1426.3745	1116.2841	1152.1442	1079.282	1175.6807	1226.1905	967.9945	1124.781	1143.8561	978.4283	1432.356	1167.1874	144.4385	12.3749
30	994.4619	1212.2151	883.3075	931.4747	925.6408	1004.0223	899.1602	823.0129	857.0534	976.9309	840.3547	1012.453	946.674	105.7015	11.1656
40	595.2774	842.1214	535.7774	662.1654	818.6737	694.1374	716.2503	645.9349	566.5464	545.6851	601.6016	535.5519	646.6436	104.9052	16.223
50	527.8138	530.4333	405.2986	368.0326	478.3058	557.3271	471.2608	552.8056	414.3233	426.3893	426.0424	428.2348	465.5223	63.6535	13.6736
70	294.6495	263.4535	337.831	256.4938	309.9291	354.8672	312.9311	496.9031	212.0277	271.3949	321.6483	242.6555	306.232	72.978	23.8309
90	151.883	124.3579	147.2264	141.1147	157.0983	242.4221	170.648	262.8545	143.1145	150.7109	257.5428	135.3826	173.6963	50.0829	28.8336
120	88.9145	64.8655	92.4663	53.1501	69.7536	110.1611	109.2739	85.1928	69.1188	110.9383	100.7673	66.252	85.0712	20.1601	23.6979
150	52.0146	26.0619	49.5944	41.1511	36.3245	71.7998	53.9688	65.6084	40.7068	55.0905	47.3757	32.8197	47.7097	13.241	27.7532

Tabla 45. Resultados del porcentaje acumulado de los perfiles de disolución de Tabletas de ASA del producto de prueba.

Tiempo (min)	Porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo (%)												Promedio	Desv. Estd.	C.V.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
2	4.043754	2.4675714	2.8939685	3.462431	2.8532875	1.669436	2.9726363	2.6779296	3.999268	3.4149732	2.892527	4.043754	960.8482	193.9622	20.1866
4	9.536811	6.5600891	8.1402948	8.5715986	7.2464646	4.6975952	8.126216	6.9613798	9.722515	8.4514412	7.969832	9.536811	1470.0547	256.1579	17.4251
6	15.83885	11.794491	13.911905	14.047861	12.413958	8.6183793	13.658931	11.893261	15.9342	13.711231	13.88412	15.83885	1669.3317	237.0382	14.1996
8	21.93305	16.615542	19.505029	19.335582	17.267823	13.466858	19.003659	17.007886	21.3595	18.766973	19.03314	21.93305	1635.0885	125.9773	7.7046
10	27.39633	21.32568	24.888478	24.285145	21.870214	18.529373	23.854454	21.881102	27.06919	23.776097	23.95602	27.39633	1578.6948	101.1622	6.408
12	32.56082	25.414114	29.979909	28.895134	26.500971	23.094358	28.372083	26.403772	32.49743	28.491429	28.71051	32.56082	1501.1059	94.6108	6.3027
14	37.6382	29.590086	34.509759	33.114497	31.348724	26.792237	32.720619	30.563946	37.69244	33.07438	32.82653	37.6382	1389.4043	129.8651	9.3468
16	42.71091	33.857508	38.828901	37.259215	35.840955	30.186071	36.786604	34.470792	42.47016	37.464447	36.27542	42.71091	1320.1837	142.7404	10.8122
18	47.47438	38.196031	43.145058	41.491828	39.767648	33.563779	40.78864	38.106961	46.59068	41.746015	39.55134	47.47438	1263.3475	130.1989	10.3059
20	52.05792	42.64632	46.717167	45.224775	43.22135	37.231903	44.516259	41.049664	50.27997	45.406354	42.68231	52.05792	1167.1874	144.4385	12.3749
30	68.25717	61.556875	60.496764	60.873549	57.661346	52.894651	58.183495	53.559461	64.33564	61.037248	56.12799	68.25717	946.674	105.7015	11.1656
40	76.826	74.693969	68.854892	71.997929	70.432656	63.723194	69.0705	63.377671	73.627	69.76821	65.75361	76.826	646.6436	104.9052	16.223
50	83.67776	82.968728	75.17755	78.180876	77.894226	72.417497	76.233663	71.780316	80.42191	76.590439	72.57029	83.67776	465.5223	63.6535	13.6736
70	91.44274	91.083096	85.853009	86.491275	87.687985	83.489352	85.746768	86.886169	87.37641	85.275074	82.86304	91.44274	306.232	72.978	23.8309
90	95.77498	94.91332	90.505364	91.063392	92.652289	91.052922	90.934468	94.876945	92.07057	90.097824	91.10441	95.77498	173.6963	50.0829	28.8336
120	98.95507	97.949026	94.758816	93.635858	95.916757	96.208463	95.917358	98.761735	95.49886	95.422864	95.94124	98.95507	85.0712	20.1601	23.6979
150	100.5304	99.168723	97.040157	95.627574	97.616744	99.568694	98.378334	101.75348	97.51792	98.067209	98.21527	100.5304	47.7097	13.241	27.7532

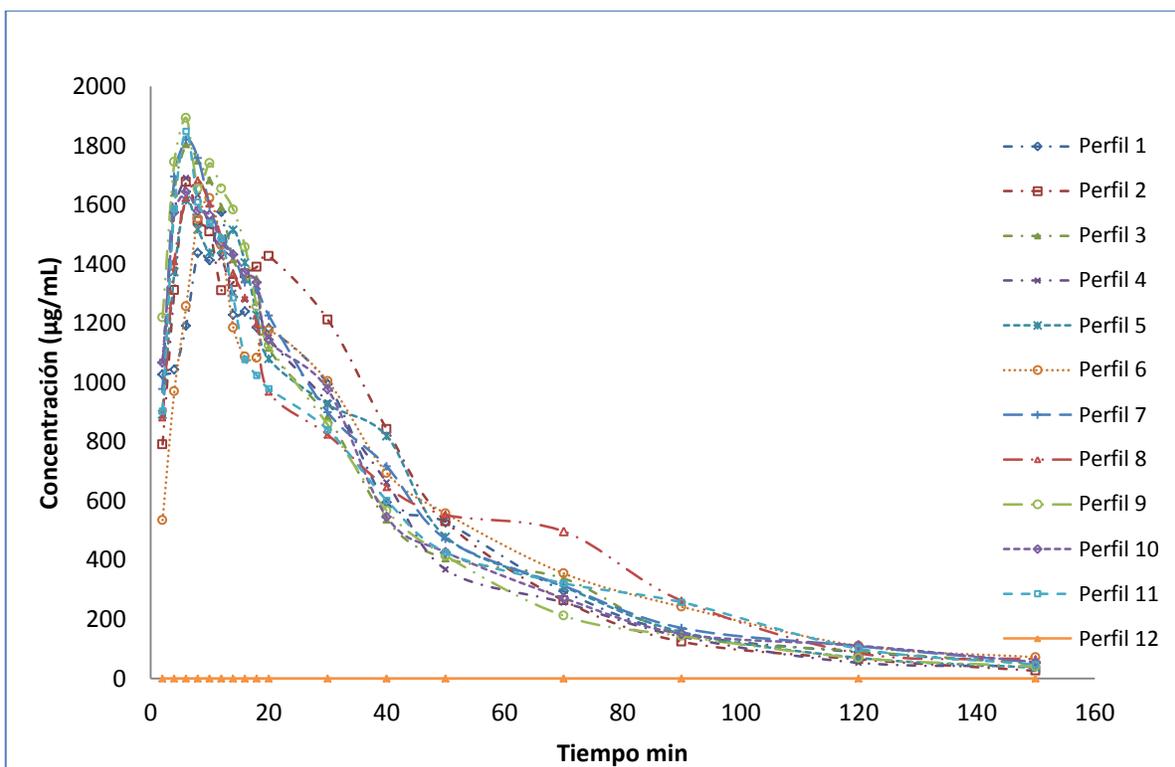


Figura 37. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de prueba en HCl 0.1N.

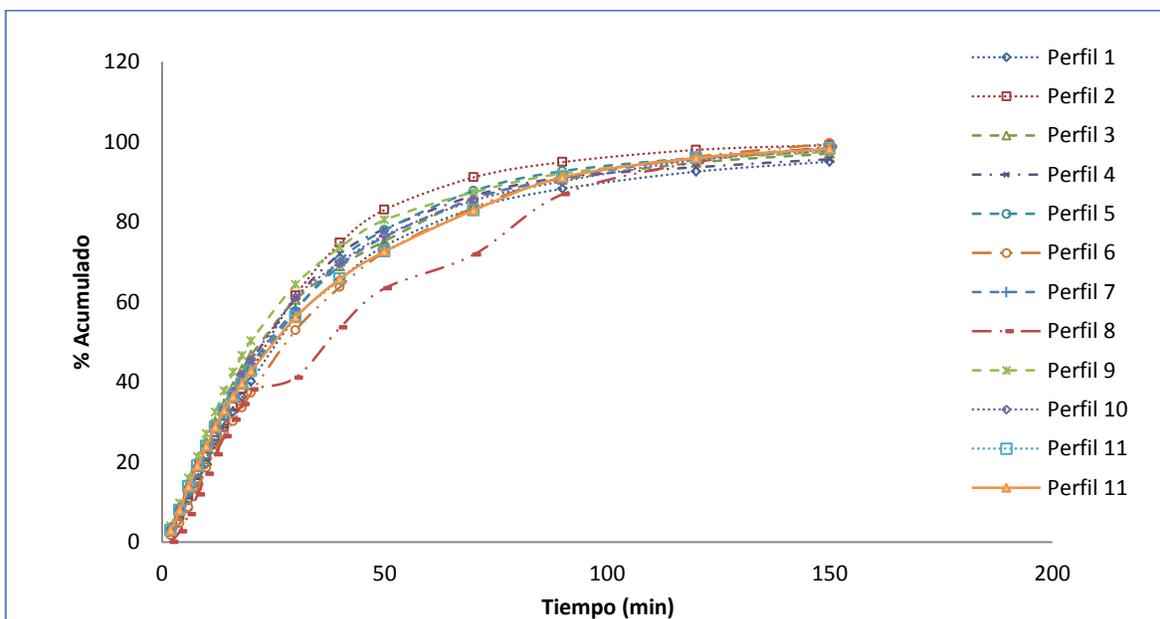


Figura 38. Porcentaje Acumulado de los perfiles de disolución de las tabletas de ácido acetilsalicílico del producto de prueba.

6.3.1. COMPARACIÓN DE PERFILES DE DISOLUCIÓN DEL PRODUCTO DE PRUEBA Y DE REFERENCIA

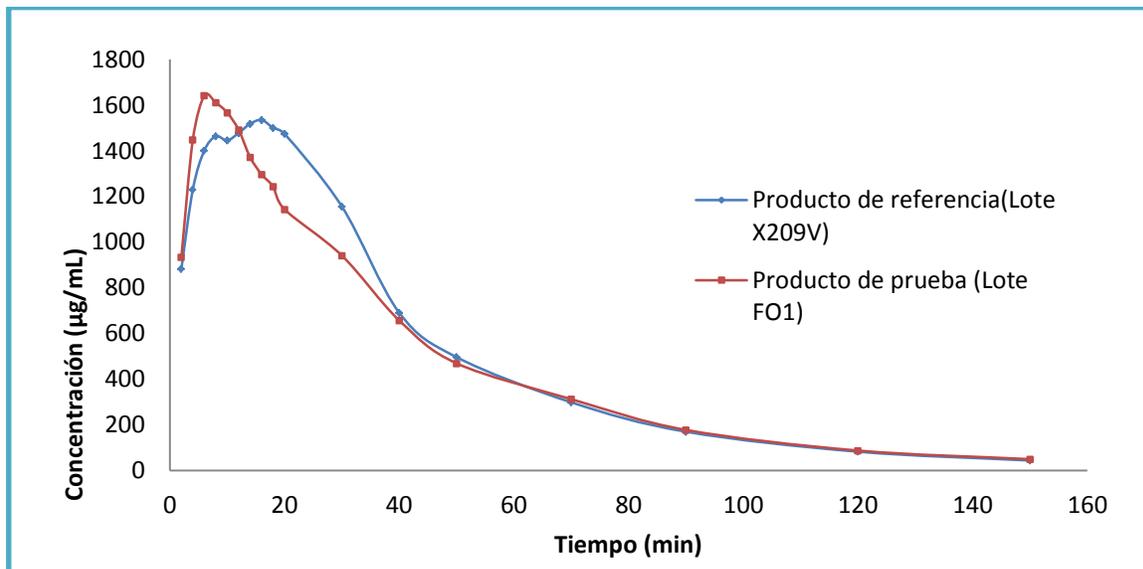


Figura 39. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X209VP) y producto de prueba (FO1).

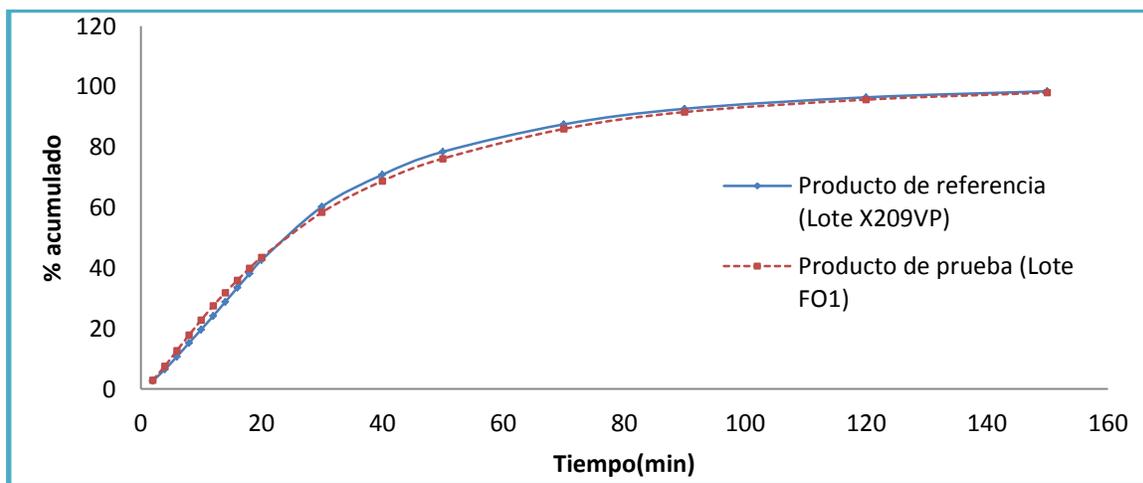


Figura 40. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X209VP).

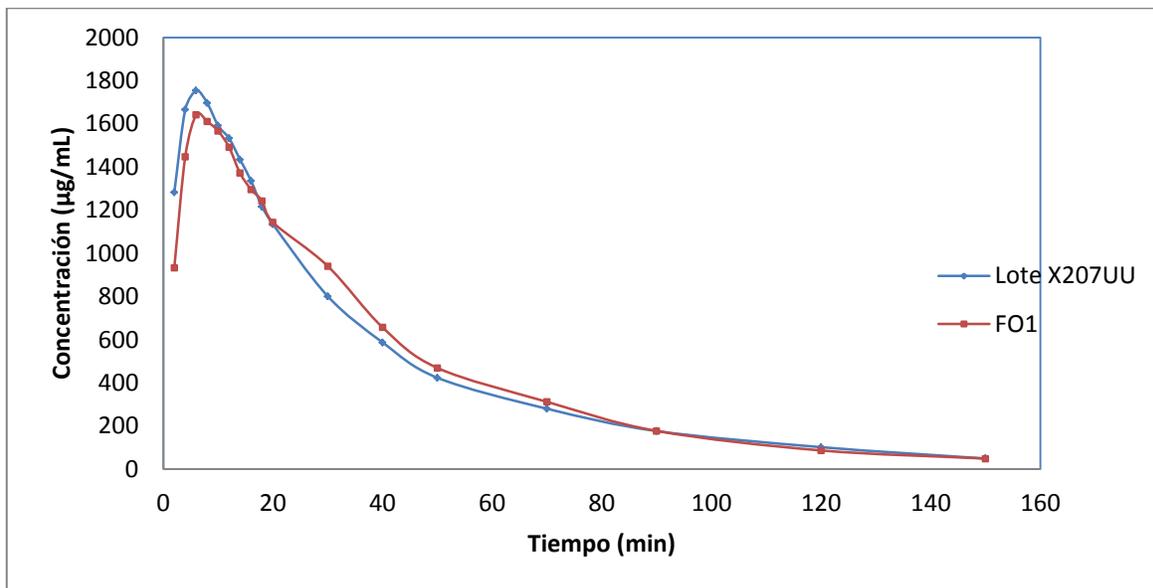


Figura 41. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X207UU) y producto de prueba (FO1).

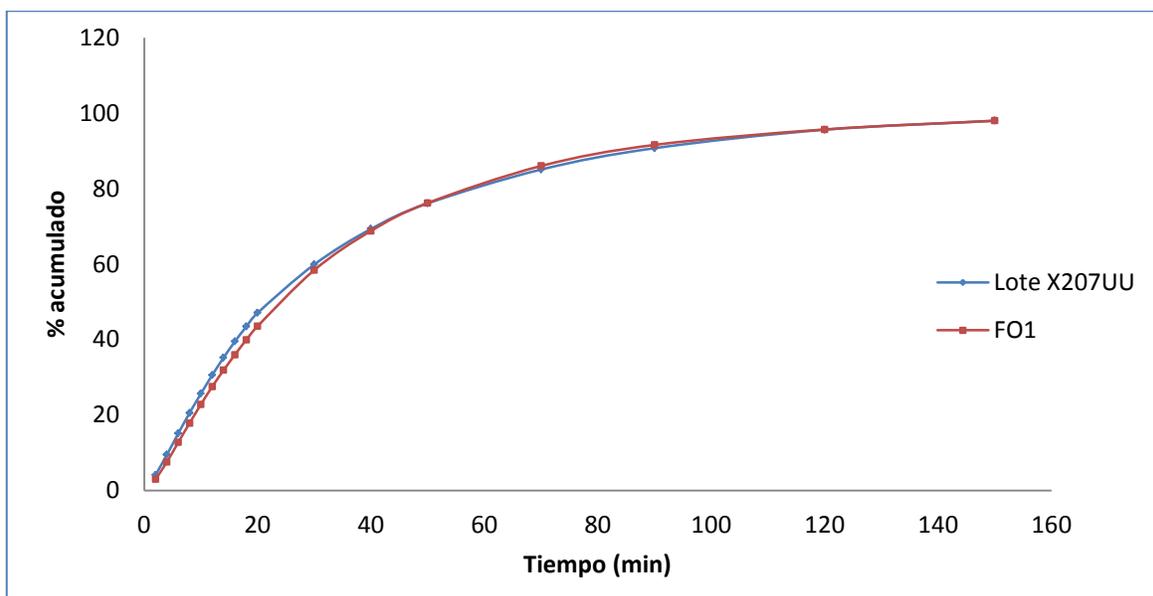


Figura 42. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X207UU).

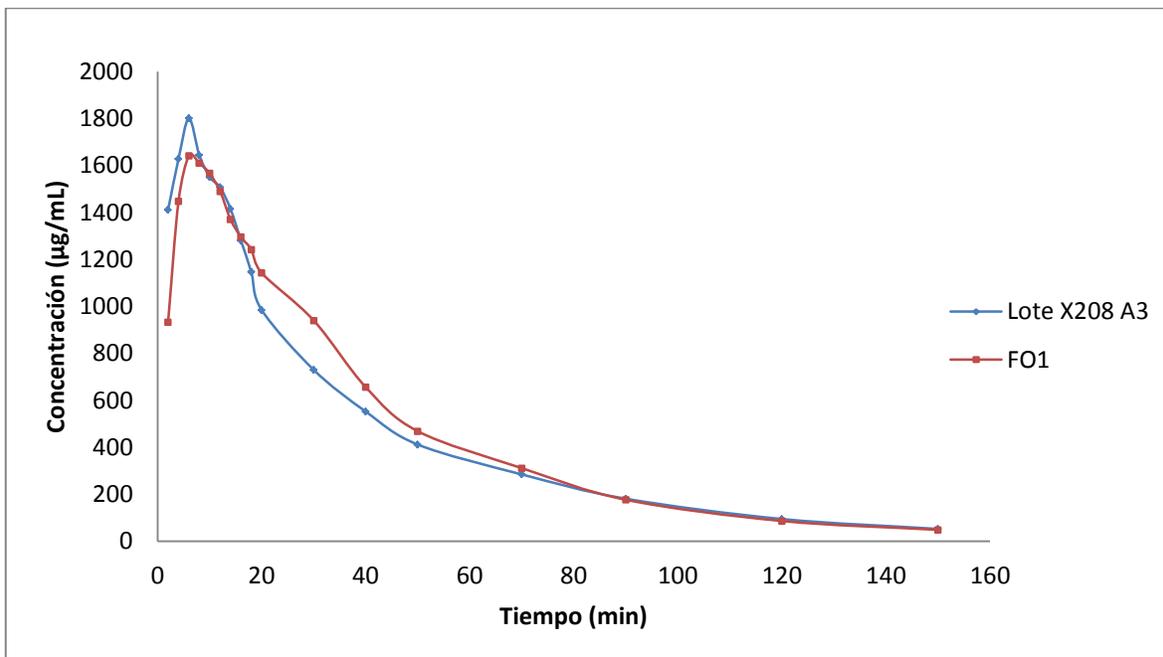


Figura 43. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X208A3) y producto de prueba (FO1).

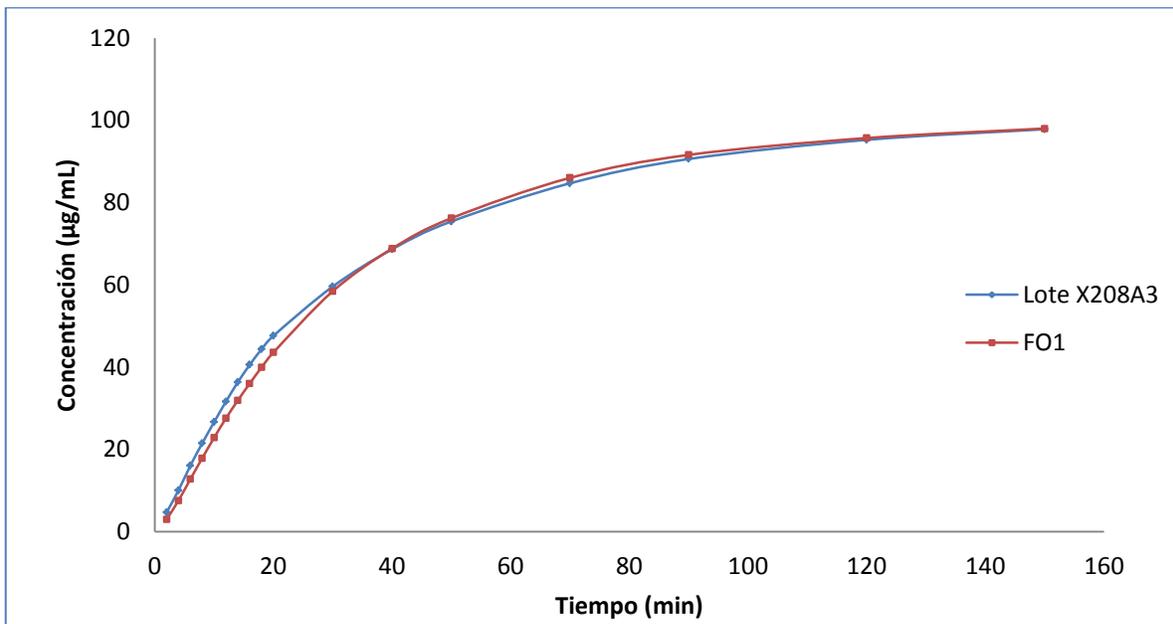


Figura 44. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X208A3).

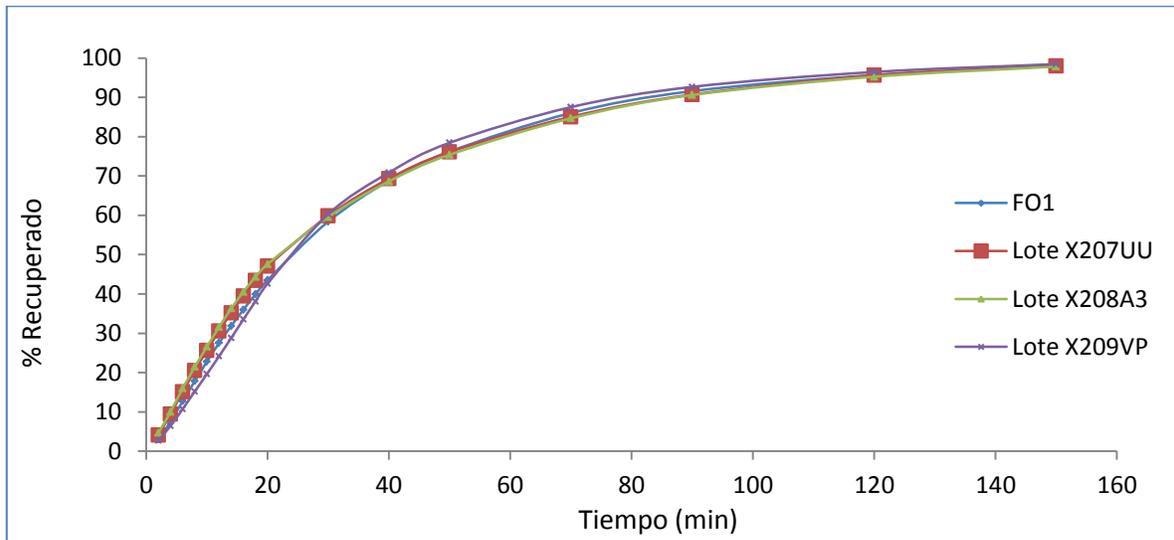


Figura 45. Resultados de los promedios del porcentaje acumulado de ASA de los tres lotes del producto de referencia y el lote de prueba obtenidos en el aparato IV USP.

6.3.2. PERFILES DE DISOLUCIÓN EN EL APARATO II USP.

Se realizó la prueba de disolución en el aparato II USP del lote de referencia que obtuvo el mayor valor de f_2 en el aparato IV USP (lote X209VP), con la finalidad de realizar una comparación de los resultados obtenidos.

Tabla 46. Concentración de ASA en el producto de referencia a los diferentes tiempos de muestreo en el aparato II USP

Tiempo (min)	Concentración de ASA del producto de referencia (Aspirina lote X209VP) ($\mu\text{g/mL}$)												Parámetros de evaluación		
	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Perfil 7	Perfil 8	Perfil 9	Perfil 10	Perfil 11	Perfil 12	X	S	C.V.
1	99.36	107.73	99.22	108.11	119.80	90.86	92.89	86.37	87.36	76.58	74.67	84.98	93.99	12.85	13.67
5	276.79	277.08	269.87	277.49	298.96	264.70	252.67	244.61	237.26	227.62	216.15	236.35	256.63	24.71	9.63
10	452.22	446.64	463.67	482.06	458.44	414.10	416.03	481.27	435.21	400.17	364.61	411.56	435.50	35.25	8.09
15	527.44	511.84	539.31	526.08	517.22	473.80	498.77	538.90	542.93	499.41	453.94	465.81	507.95	30.14	5.93
20	551.70	529.60	555.91	551.72	543.01	508.62	541.45	549.60	568.65	550.09	509.09	499.21	538.22	21.80	4.05
30	565.13	551.27	569.14	549.63	555.10	530.86	554.19	554.54	556.38	558.70	549.30	513.44	550.64	15.00	2.72
40	559.04	551.96	565.22	549.37	550.94	529.75	542.71	554.59	550.38	558.66	548.91	526.92	549.04	11.29	2.06
50	558.91	552.74	558.96	542.35	545.31	538.25	547.23	551.54	549.65	556.65	549.94	528.43	548.33	8.90	1.62
60	555.75	552.69	553.84	544.38	551.39	536.25	546.47	545.62	544.98	554.54	547.63	529.15	546.89	7.86	1.44

Tabla 47. Concentración de ASA en el producto de prueba a los diferentes tiempos de muestreo en el aparato II USP.

Tiempo (min)	Concentración de ASA en el producto de prueba ($\mu\text{g/mL}$)												Parámetros de evaluación		
	perfil 1	perfil 2	perfil 3	perfil 4	perfil 5	perfil 6	perfil 7	perfil 8	perfil 9	perfil 10	perfil 11	perfil 12	\bar{x}	s	C.V.:
1	64.53	69.62	68.76	70.04	67.13	59.48	56.76	56.39	64.10	63.16	62.21	56.67	58.45	5.06	8.66
5	198.05	193.76	202.29	197.02	183.42	186.17	184.91	173.97	181.91	191.77	188.84	169.96	173.62	9.66	5.56
10	343.29	330.05	348.36	356.14	398.29	326.75	327.43	314.51	326.24	334.35	337.54	300.51	311.80	24.30	7.79
15	421.93	410.59	435.74	441.01	454.75	425.25	421.54	414.35	412.06	421.33	422.63	388.05	391.09	16.71	4.27
20	473.82	464.20	474.20	479.88	517.31	468.50	469.00	476.57	455.40	489.44	471.98	459.93	440.02	16.07	3.65
30	517.31	506.40	538.26	517.24	523.40	523.40	526.26	529.02	506.89	530.60	521.56	523.98	484.18	9.19	1.90
40	529.97	527.20	535.10	531.66	543.34	553.49	547.38	555.59	529.89	543.84	545.28	552.08	502.68	10.10	2.01
50	535.32	533.28	539.00	543.75	551.52	556.51	552.25	565.44	539.18	550.01	559.11	563.13	510.65	10.89	2.13
60	549.01	541.71	546.09	541.65	551.56	552.69	548.23	575.45	523.98	552.79	555.81	566.70	512.74	12.83	2.50

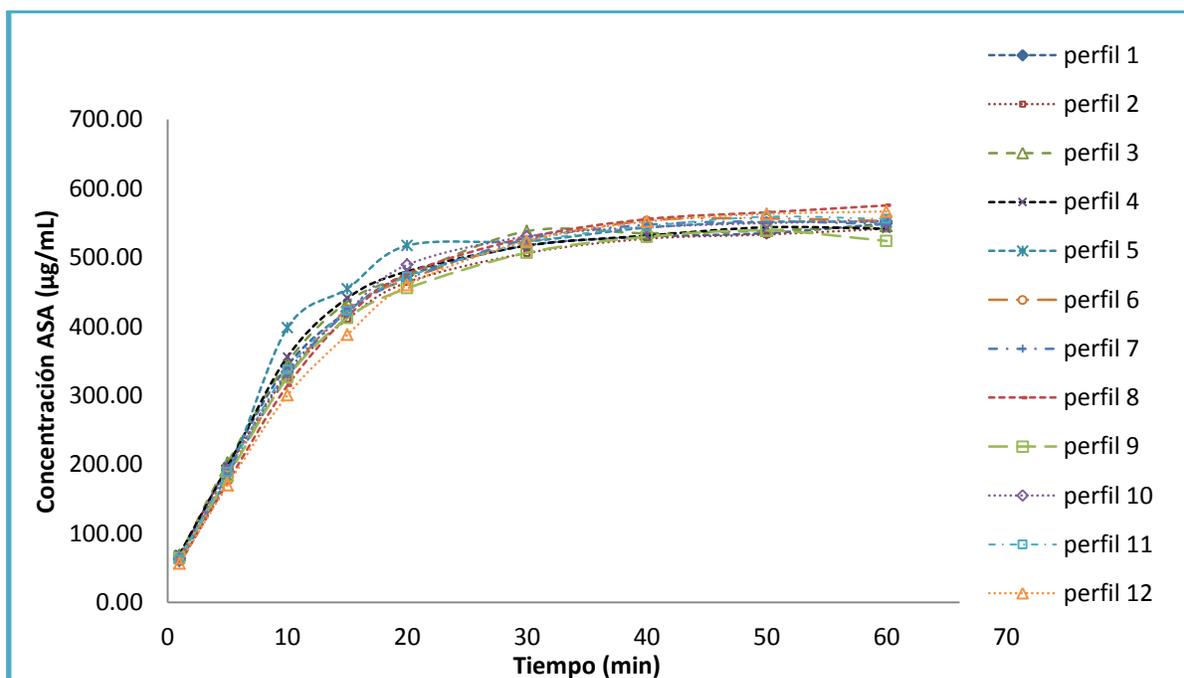


Figura 46. Perfiles de disolución del producto de referencia en el aparato II USP.

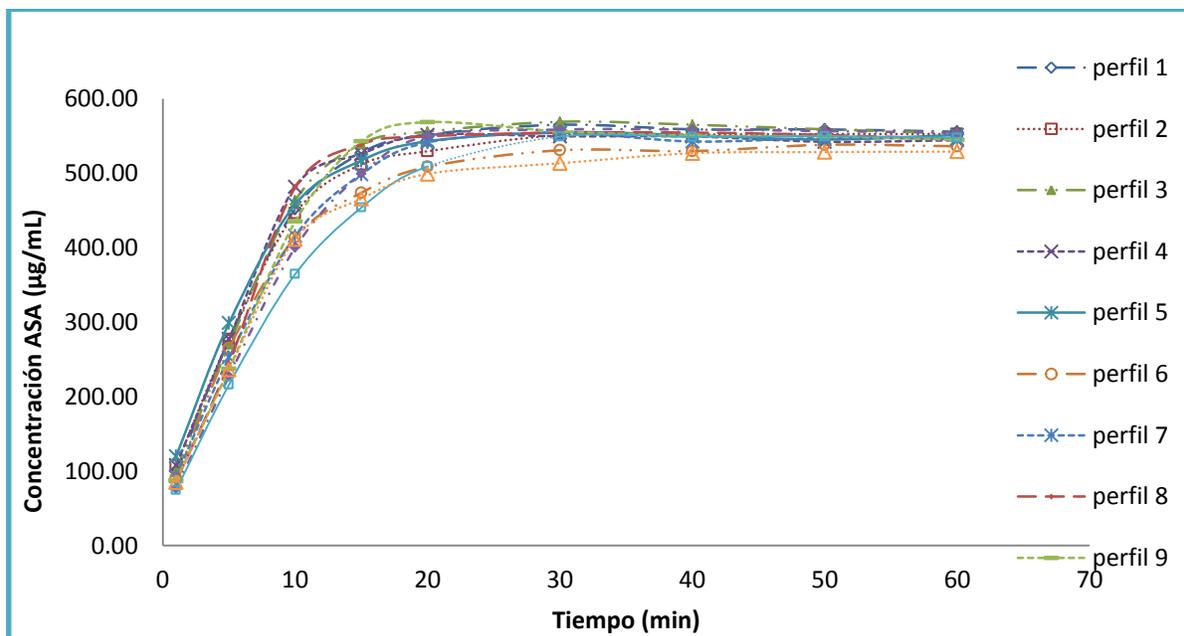


Figura 47. Perfiles de disolución de ASA del producto de prueba en el aparato II USP.

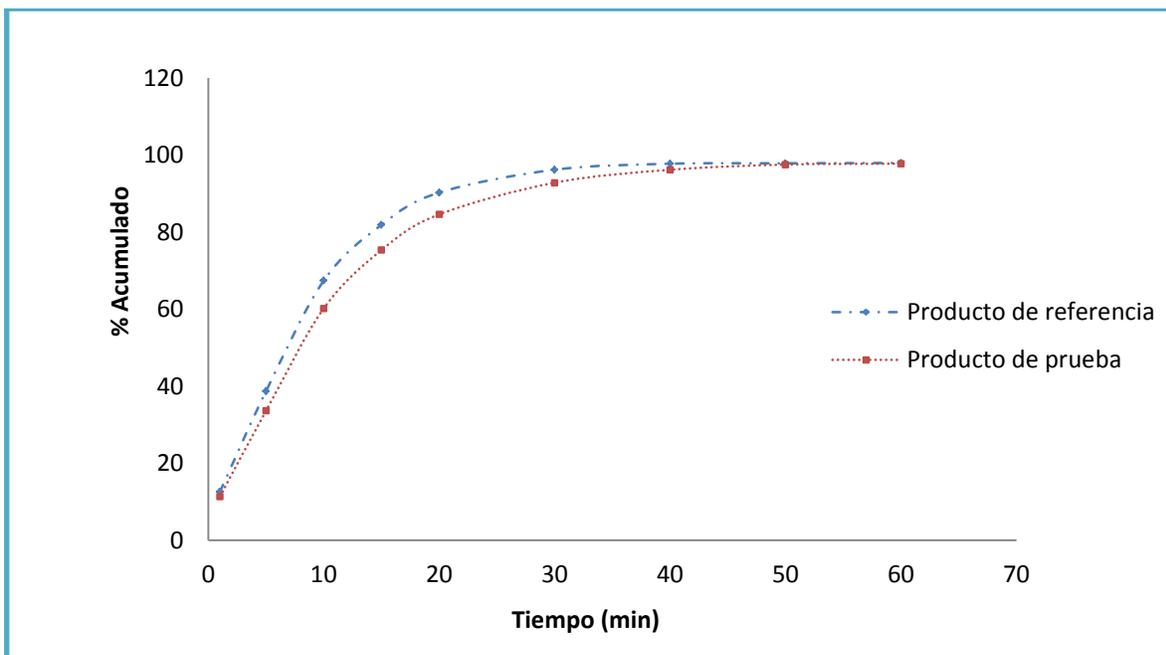


Figura 48. Comparación de perfiles de disolución del producto de referencia y producto de prueba en el aparato II USP.

Prueba de f_2

Tabla 48. Resultados de F2 del producto de prueba con los tres lotes del producto de referencia.

RESULTADOS DE f_2	
LOTE	PRODUCTO DE PRUEBA (FO1)
X209VP	82.26549865
X207UU	80.28971646
X208A3	75.54478319

Para la evaluación de los perfiles de disolución de tabletas de ASA se utilizó la prueba f_2 , en cuyo caso el valor debe comprender en un rango de 50-100 para ser aceptable, al analizar la similitud de los perfiles se estimó un valor de 82.26, 80.28 y 75.54, para los lotes X209VP, X207UU y X208A3 respectivamente, esto en el aparato 4 USP, mientras que en el aparato 2 solo se comparó el mejor de los casos (el lote de prueba y el lote de X209VP) obteniéndose un valor de f_2 de 67.66, por lo que el producto de prueba pasa la equivalencia genérica en ambos aparatos.

Hay que destacar que los perfiles de disolución caracterizados en el aparato IV USP, aportan mayor información de la disolución, que los perfiles obtenidos en el aparato II USP, acercándose más a una correlación *in vivo*, ya que en tales casos podemos calcular algunos parámetros de comparación como ABC_{0-t} , $ABC_{-Cmáx}$, $C_{máx}$, la razón de ABC_{0-t} del producto de prueba y de referencia y la razón

del ABC_0-C_{max} del producto de prueba y de referencia, ya que son parámetros más estrictos que nos dan una mejor idea del comportamiento de la disolución de determinado principio activo.

Tabla 49. Parámetros de comparación de los perfiles de disolución de ASA en el equipo IV para los lotes FO1, X209VP, X207UU y X208A3.

Parámetro de comparación	Resultados				Criterios de aceptación
Parámetro de comparación	Lote X209VP	Lote X207UU	Lote X208A3	Lote FO1 (prueba)	
ABC 0 a C_{max} Ref.	20367.5319	7647.6909	7879.8266	—————	
ABC 0 a C_{max} Prueba	—————	—————	—————	6403.9776	
ABC0-t prueba/referencia	0.9469	1.0179	1.0531	—————	0.8-1.2
ABC 0 a C_{max} Prueba/referencia	0.3144	0.8374	0.8127	—————	0.8-1.3

En cuanto a los parámetros de comparación (ver tabla 49), encontramos que la razón de ABC0-t del producto prueba/ ABC0-t del producto referencia (lote X209VP, X207UU y X208A3) cae dentro de los criterios de aceptación, pero la razón ABC 0 a C_{max} del producto de Prueba/ ABC 0 a C_{max} del producto de referencia (lote X209VP) no cumple con este criterio, por lo tanto que la probabilidad del producto de prueba de pasar un estudio de bioequivalencia se reduce, sin embargo los otros dos lotes (X207UU y X208A3), si cumple con todos los criterios.

Hay que destacar que los perfiles de disolución no solo denotan la similitud entre productos, sino que también dan a conocer la variabilidad que existe de tableta en tableta, de tal manera que al ver los resultados de C.V. encontramos que el producto de referencia tiene mucha variación, lo que nos lleva a sospechar de una falta de control en el proceso de fabricación.

Los porcentajes de recuperación de ASA son aceptables en cada perfil de disolución, ya que son mayores al 85%.

Comparando los resultados de los aparatos 2 y 4 USP, este último tiene mayor poder discriminatorio.

6.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTENIDO DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN TABLETAS DEL PRODUCTO DE PRUEBA

Los parámetros de validación a estudiar están en función de los objetivos del método desarrollado, para ello nos enfocamos primeramente en la optimización de las condiciones experimentales que permitieran obtener resultados eficientes.

6.4.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

6.4.1.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA

La linealidad del sistema para el método de contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas, se evaluó preparando por triplicado 5 concentraciones de ASA con 3 niveles ácido salicílico cada una, dentro de un rango de 16-48 μ g/mL y 0.4-1.4 μ g/mL respectivamente y se calcularon los parámetros de la pendiente, intercepto, el coeficiente de correlación y coeficiente de determinación mediante el método de MCP.

Tabla 50. Parámetros de evaluación para la linealidad del sistema utilizando el software MCP (ISHEJA), para método de contenido de ASA en tabletas.

Linealidad del sistema	
Parámetro	
\bar{x}	1
s	0.0034
C.V.	0.3398
m	0.9999
bo	0.0021
r	0.9999
r ²	0.9999
Criterio de aceptación	
C.V.	≤2
r	0.99
r ²	0.98

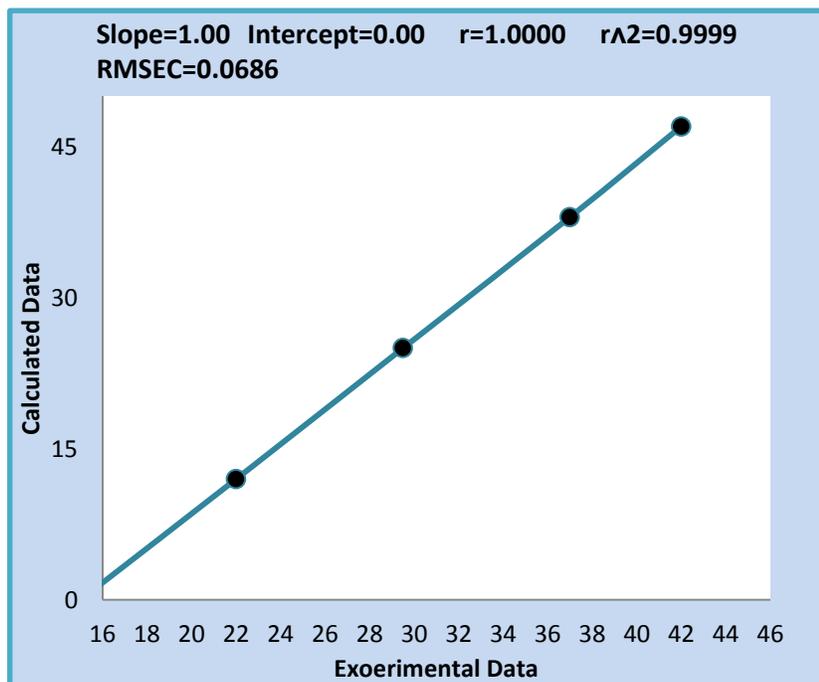


Figura 49. Gráfico de linealidad del sistema obtenido con el programa estadístico Gen Ex.

Los resultados de la regresión demostraron que el modelo es lineal con un buen poder de predicción, donde el 99% de la respuesta analítica (absorbancia) esta explicada por los cambios de concentración del analito en cuestión, con un C.V. menor al 2% por lo que cumple con los criterios de aceptación marcados por la guía de validación del colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, en consecuencia el intervalo de concentraciones es el óptimo para los objetivos planteados (tabla 38 y figura 37).

6.4.1.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL SISTEMA

Se prepararon tres niveles de concentración de asa por dilución y un nivel de ácido salicílico que corresponden a 120% de asa con el 1% de ácido salicílico, 100% de asa con 2% de ácido salicílico y 80% de asa con 3% ácido salicílico.

Tabla 51. Resultados de la precisión y exactitud del sistema para el método de contenido químico calculado con ayuda del software Gen Ex.

C. ASA ($\mu\text{g/mL}$)	C. recuperada	% recuperado	parámetros estadísticos	
48.2784	48.74902	100.9748	\bar{x}	101.3507
	48.59509	100.6559		
	49.14160	101.7879	s	0.47738
	49.17437	101.8558		
	48.87721	101.2403	C.V.	0.47102
	49.04572	101.5893		
32.1856	32.25236	100.2074	\bar{x}	100.3198
	32.47550	100.900		
	32.37863	100.5997	s	0.40374
	32.31785	100.4109		
	32.11664	99.78576	C.V.	0.40246
	32.19032	100.0146		
16.1216	16.04546	99.52774	\bar{x}	99.6954
	15.98300	99.14033		
	15.91821	98.73842	s	0.67652
	16.19377	100.4477		
	16.17015	100.3011	C.V.	0.67859
	16.12435	100.0171		

Los resultados de los criterios de validación considerados en la precisión y exactitud del sistema fueron los siguientes (ver tabla 39):

- Un promedio del porcentaje recuperado que se ajusta al intervalo de 97-103%, que apunta a un sistema exacto que denota la proximidad del valor obtenido con el valor verdadero.
- Un coeficiente de variación menor al 2% en los tres niveles de concentración, lo que significa que el sistema es preciso.

6.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

6.5.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO

Para determinar la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas, se prepararon placebos cargados a 5 niveles de concentración (120, 110, 100, 90 y 80%), a partir de estos se realizaron 3 determinaciones individuales de cada concentración y se determinaron los parámetros de regresión e intervalos de confianza indicativos de linealidad.

Tabla 52. Resultados de la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

Nivel de concentración		C. Adicionada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	C. Recuperada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	% recuperado	Parámetros de regresión	
%	$\mu\text{g}/\text{mL}$					
120	28.4	24.1971	24.9065	102.9316	\bar{x}	100.6312
		24.0257	24.2710	101.0208	s	1.3084
		23.9571	23.7368	99.0801	C.V.	1.3002
110	35.2	22.2828	21.9827	98.6532	r	0.9958
		22.0239	22.1810	100.7133	r ²	0.9916
		22.0868	22.4378	101.5893	m	1.0208
1090	32	20.0761	20.5332	102.2771	b	-0.28703
		20.0260	20.1167	100.4529	IC β_0	-1.42547-0.85144
		20.1118	20.3635	101.2512	IC β_1	0.96479-1.07696
90	28.8	18.0875	18.3956	101.7036		
		18.2490	17.9595	98.4139		
		18.3136	18.3956	100.4480		
80	25.6	16.0129	16.2278	101.3419		
		16.0244	15.9474	99.5198		
		16.0358	16.0471	100.0705		

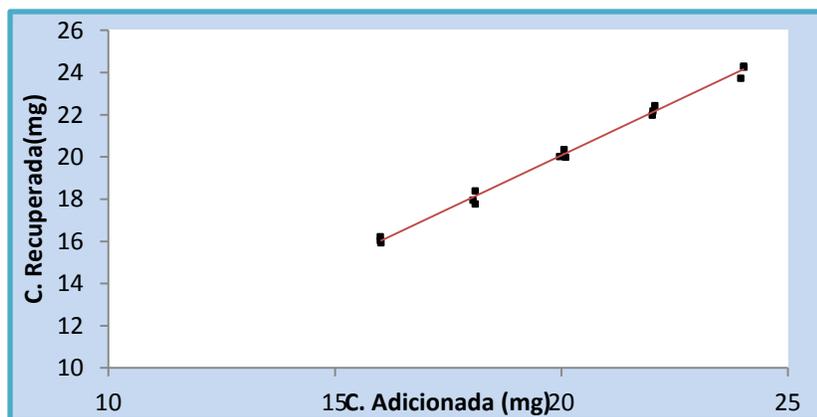


Figura 50. Gráfico de linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

Los Resultados de los parámetros indicativos de la linealidad fueron los siguientes (ver tabla 42):

- El coeficiente de variación global de los factores no supera el 2%.
- En el análisis de regresión se observa que el coeficiente de correlación y coeficiente de determinación no presenta un valor menor al 0.99 y 0.98 respectivamente.
- Un porcentaje de recuperación aceptable (100.6312 %).

Tabla 53. Análisis de variancia e intervalos de confianza con 95% de probabilidad mínima significativa para la linealidad del método para contenido ASA en tabletas.

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	125.0604	125.0604	1546.3605	6.6785E-15
Residuos	13	1.0513	0.0808		
Total	14	126.1118			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	-0.2870	0.5269	-0.5446	0.5952	-1.4254	0.8514
Variable X 1	1.0208	0.0259	39.3237	6.6785E-15	0.9647	1.0769

Para demostrar la linealidad del método no basta con los parámetros básicos de regresión, si no que se debe recurrir a los intervalos de confianza tanto del intercepto como de la pendiente (tabla 43):

- El intervalo de confianza para el intercepto fue de $-1.4254-0.8514$, lo que indica que estadísticamente pasa por cero, demostrando que el método cumple con el requisito de proporcionalidad entre la concentración adicionada y la concentración recuperada. La ordenada al origen básicamente indica el error sistemático, en tal caso conviene que el valor de la ordenada al origen este lo más cercano posible al intercepto lo que demostrará que el sesgo es mínimo.
- Por otra parte el intervalo de confianza de la pendiente fue de $0.964799-1.076969$, rango que incluye al valor de 1 y no pasa por cero, esto corrobora la existencia de la recta.

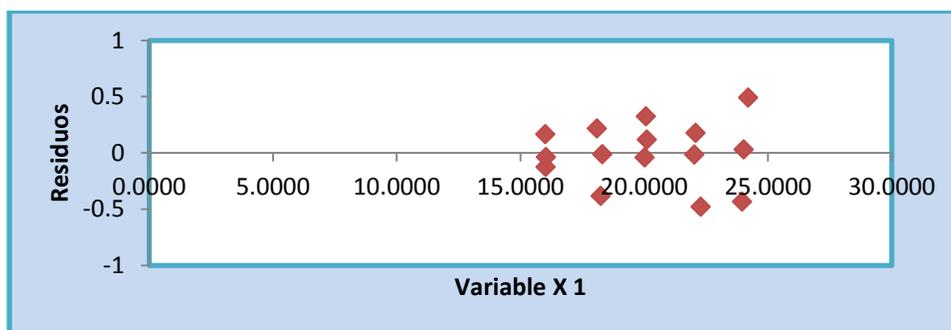


Figura 51. Gráfico de análisis de residuales para la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

Los resultados demuestran una dispersión aleatoria y constante de los datos, puesto que en el gráfico de análisis de residuales (figura 40), no se observa un patrón característico, es decir hay homocedasticidad y por tanto una independencia de los puntos observados, en consecuencia se puede decir, que el modelo se ajusta a los datos obtenidos.

6.5.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Tabla 54. Resultados de precisión y exactitud para validación del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

Nivel de concentración (%)	C. Adicionada	C. Recuperada	% Recuperado	Parámetros de evaluación	
120	24.1971	24.9065	102.9315	\bar{x}	101.561
	24.0257	24.2709	101.0208		
	23.9571	23.7367	99.0800	S	1.4444
	24.060	24.6283	102.3622		
	24.0171	24.3155	101.2423	C.V.	1.4222
	24.0685	24.7253	102.7288		
100	20.0760	20.5332	100.0329	\bar{x}	100.7820
	20.0260	20.1167	100.1404		
	20.1118	20.3634	101.2512	S	1.0055
	20.0188	20.0254	102.2771		
	19.9759	20.0040	100.4528	C.V.	0.9977
	20.1189	20.0764	99.78874		
80	16.0129	16.2278	101.3419	\bar{x}	100.6398
	16.0243	15.9474	99.51975		
	16.0357	16.0471	100.0705	S	1.1039
	16.0929	16.0015	99.4317		
	16.0415	16.2759	101.4612	C.V.	1.0969
	16.0357	16.3587	102.0137		

Los resultados de la tabla 44, muestran que los porcentajes de recuperación de cada nivel entran en los criterios de aceptación, además los coeficientes de variación son menores al 2% por lo que este método es preciso y exacto.

4.5.3. SELECTIVIDAD

El método de Regresión multivariante por mínimos cuadrados parciales, es capaz de predecir la concentración únicamente del analito sin que pueda influir la presencia de interferencia de los excipientes y /o productos de degradación, lo que significa que el método es selectivo y se puede comprobar con los resultados de linealidad, precisión y exactitud. La selectividad nos habla del grado de error en los resultados analíticos, aunados a los componentes de la formulación y /o producto de degradación (ácido salicílico).

4.5.4. PRECISIÓN INTERMEDIA

Se pesaron muestras independientes de ASA al 100% (32µg/mL) por sextuplicado en dos días diferentes y por dos analistas diferentes, trabajando a las mismas condiciones de ensayo.

Tabla 55. Resultados del porcentaje recuperado de ASA, por dos analistas diferentes, en dos días diferentes.

Día	% Recuperado	
	Analista 1	Analista 2
1	101.5512	100.5708
	100.0575	100.2554
	99.1033	99.3101
	99.2007	99.5929
	100.8145	99.8248
	100.4423	99.6625
2	100.3280	100.7409
	100.3853	100.0352
	99.8341	100.4732
	100.5268	99.6801
	100.6046	99.8498
	100.0264	101.8667

Tabla 56. Análisis de variancia anidado para determinar la precisión intermedia del método para contenido químico.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Analista	0.0426744	1	0.0426744	0.09	0.7981
Día*(Analista)	1.00402	2	0.502008	1.09	0.3556
Residuo	9.21794	20	0.460897		
Total (corregido)	10.2646	23			

Se realizó un análisis de variancia del diseño cruzado de anidamiento para evaluar las variaciones del día incluidas en el analista, para demostrar que el método es repetible entre días y reproducible entre analistas. En la tabla 36, se muestran los resultados P value, mismos que son mayores a 0.05, lo cual indica en primera instancia que no hay variabilidad en los porcentajes recuperados de ASA de ambos analistas, en los diferentes días (tabla 46).

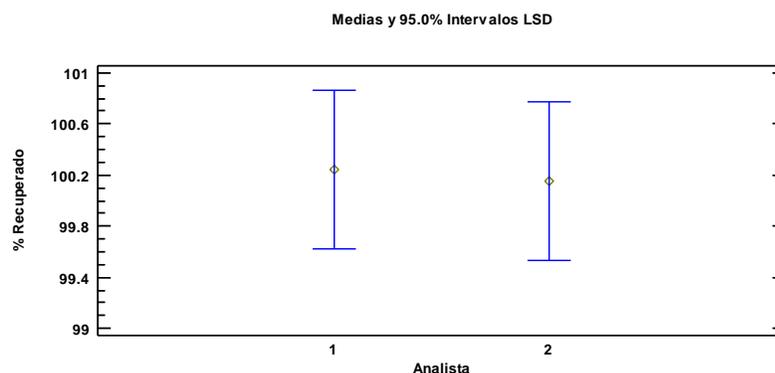


Figura 52. Gráficos de medias con intervalo de confianza de 95% de diferencia mínima significativa. Para evaluar reproducibilidad.

Por otro lado en la figura 43 se muestra el gráfico de contraste de medias (con un intervalo de confianza del 95%, el cual describe perfectamente el efecto del factor analista sobre el porcentaje recuperado de ASA en las muestras, en este caso se ve claramente que el analista no es factor de variabilidad.

4.5.5. ROBUSTEZ

Para determinar la robustez del método se estudió la influencia de las variaciones pequeñas de pH en la determinación de ASA, para lo cual se prepararon tres muestras independientes para cada pH (1.58, 1.92 y 0.94).

Tabla 57. Resultados del porcentaje recuperado de ASA a los diferentes pH (Robustez).

pH	% Recuperación	Parámetros de evaluación	
1.58	98.8603	\bar{x}	99.7963
1.58	100.932	S	1.05047
1.58	99.5962	C.V.	1.05261
1.2	100.587	\bar{x}	100.0113
1.2	99.9231	S	0.5373
1.2	99.5234	C.V.	0.5372
0.94	101.144	\bar{x}	101.2146
0.94	101.978	S	0.7316
0.94	100.520	C.V.	0.7228

Tabla 58. Análisis de variancia para influencia de pH sobre el porcentaje recuperado (robustez).

fuentes	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F- Ratio	P-Valor
Modelo	3.16017	2	1.58008	1.50	0.2961
Residuos	6.31704	6	1.05284		
Total (corr.)	9.47721	8			

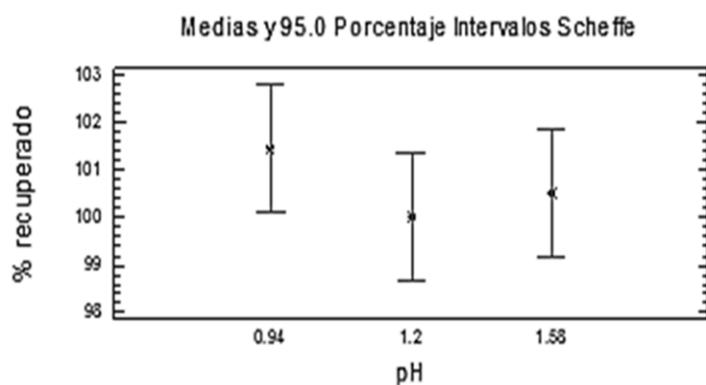


Figura 53. Análisis de medias a un intervalo de confianza del 95% para influencia de pH sobre el porcentaje de recuperación (robustez).

Con el análisis de variancia queda demostrado que variaciones en el porcentaje de recuperación en los 3 diferentes pH no son significativas, ya que el P value es mayor al 0.05 y sin olvidar que en el contraste de medias del porcentaje recuperado existe un traslape de las mismas, que corroboran que el método es capaz de dar el mismo resultado bajo condiciones normales de operación (tabla 48, figura 42).

6.5.4. INFLUENCIA DEL FILTRO

Se prepararon muestras independientes al 100% de ASA y se filtraron utilizando tres diferentes filtros (se realizó por triplicado).

Tabla 59. Resultados del porcentaje de recuperación de ASA utilizando diferentes filtros.

	% recuperación	parámetros de evaluación	
filtro 41	100.5873	\bar{x}	100.0113
filtro 41	99.9231	<i>s</i>	0.5373
filtro 41	99.5234	C.V.	0.5372
filtro 40	99.9884	\bar{x}	100.4010
filtro 40	100.7311	<i>s</i>	0.3781
filtro 40	100.4836	C.V.	0.3766
Filtro	100.8021	\bar{x}	101.0139
filtro	100.6835	<i>s</i>	0.4732
Filtro	101.5560	C.V.	0.4684

Tabla 60. Análisis de la Variancia para el porcentaje recuperado por los diferentes filtros para influencia del filtro.

fuelle	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F- Ratio	P-Valor
Modelo	1.53268	2	0.766341	3.51	0.980
Residuos	1.31146	6	0.218577		
Total (corr.)	2.84414	8			

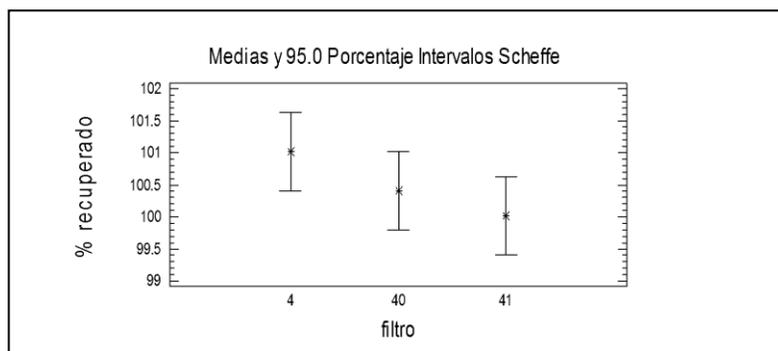


Figura 54. Análisis de medias para influencia del filtro.

En la tabla 49 se muestra que el porcentaje de recuperación de ASA en las muestras entra dentro del intervalo de aceptación utilizando cualquiera de los 3 filtros evaluados.

Al evaluar la influencia del filtro por un análisis de variancia (tabla 50), notamos que no hay variabilidad en el porcentaje de recuperación del analito, ya que la P value es mayor a 0.05. Esto mismo se aprecia en la figura 43 con un traslape de medias a un intervalo de confianza del 95%.

6.6. APLICACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTENIDO DE ASA EN TABLETAS

Se pesaron 20 tabletas del producto de prueba y se sacó el peso promedio, se pesó lo equivalente a 20mg del principio activo y se sometió al ensayo por triplicado con muestras independientes.

Tabla 61. Porcentaje de contenido químico en tabletas de ASA (producto de prueba).

muestras	Teórica (mg)	C. recuperada (mg)	% recuperado	\bar{x}
M1	516.7737	518.9210	100.4155	100.0688
M2	516.7737	512.1506	99.1053	
M3	516.7737	520.3166	100.6855	

El porcentaje de recobro por el método del producto de prueba fue de 100.0688%, lo que indica que el producto entra dentro de las especificaciones para contenido del principio activo (97-103%).

CONCLUSIONES



7. CONCLUSIONES

Finalmente después de todo lo realizado podemos concluir que:

Se desarrolló un método confiable para evaluar perfiles de disolución de ASA en tabletas de liberación inmediata en el apartado 4 USP que cumple con los criterios de:

- ❖ Linealidad
- ❖ Precisión
- ❖ Exactitud
- ❖ Especificidad
- ❖ Precisión intermedia
- ❖ Estabilidad durante el tiempo de ensayo

Se desarrolló un método para determinar contenido de ASA en tabletas que garantiza que los datos obtenidos son confiables y que cumple con los criterios de validación como lo son:

- ❖ Linealidad
- ❖ Precisión
- ❖ Exactitud
- ❖ Especificidad
- ❖ Precisión intermedia
- ❖ Estabilidad durante el tiempo de ensayo
- ❖ Robustez
- ❖ Tolerancia

Los métodos propuestos son aptos para determinar contenido y evaluar perfiles de disolución de ASA en tabletas, cumpliendo con los criterios mínimos sugeridos en la NOM 177 SSA1- 1997, Guía de Validación del Colegio Nacional de Químicos farmacéuticos biólogos e ICH Q2(R1) .

El método PLS, es un método adecuado para el análisis de muestras, en este caso es idóneo para determinar ASA sin la necesidad de un tratamiento previo de la muestra analítica, ya que elimina o controla los factores de variabilidad como las interferencias causadas por el ácido salicílico y con ello mejora la precisión y la exactitud, sin embargo no es oportuno su uso cuando existen problemas de interacciones.

Se pudieron caracterizar y evaluar adecuadamente los perfiles de disolución de ASA en tabletas de liberación inmediata de un producto de prueba y del producto de referencia en el aparato IV USP, encontrando un factor de similitud que se encuentra dentro del rango establecido en la NOM 177 SSA1-1998.

Se realizó una comparación de los perfiles de disolución del aparato II y IV USP, demostrando que el aparato IV contribuye con mayor información acerca de la liberación

de los principios activos, aportando datos como los parámetros de comparación más estrictos, los cuales se implican un mayor acercamiento a los estudios de bioequivalencia.

Se logró determinar la equivalencia genérica entre el producto de prueba y el producto de referencia.

8.- ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
ASA	Ácido acetilsalicílico
b	Ordenada al origen
c	Concentración
C_{max}	Concentración máxima
C.V.	Coeficiente de variación
di	Diferencia de medias
RSD	Desviación estándar relativa (equivalente a C.V.)
ϵ	Constante de absortividad
EMEA	European Medicines Agency
f_2	Factor similitud
IR	Liberación inmediata
ER	Liberación extendida
RR	Liberación retardada
FDA	Food and drugs administration
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
IC	Intervalo de confianza
ICH	International Conference On Harmonisation
ICH Q2 (R1)	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology
INVIC	Correlación <i>in vivo in vitro</i>
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K_a	Constante de absorción
λ	Longitud de onda
min.	Minutos
MCP	Mínimos cuadrados parciales
μg	Microgramos
N	Normal
NOM	Norma Oficial Mexicana
PLS	Mínimos cuadrados parciales
s	Desviación estándar
SAL	Ácido salicílico
USP	United States Pharmacopeia
\bar{x}	Promedio
DMS	Diferencia mínima significativa

9. ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Propiedades físicoquímicas del ácido acetilsalicílico (Moffat, 2004).</i>	10
<i>Tabla 2.-Tipos de validación y las características de cada una de ellas.</i>	16
<i>Tabla 3. Parámetros de desempeño de los métodos analíticos.</i>	17
<i>Tabla 4.- Características y usos de los aparatos USP.</i>	29
<i>Tabla 5. Resultados obtenidos de la prueba de hipótesis.</i>	49
<i>Tabla 6. Longitudes de onda seleccionadas en cada etapa durante la optimización del modelo de calibración.</i>	50
<i>Tabla 7. Recapitulación de condiciones iniciales y finales para el método de perfiles de disolución.</i>	52
<i>Tabla 8. Concentraciones teóricas de ASA y ácido salicílico en los sistemas de la curva de calibración.</i>	53
<i>Tabla 9. Resultados estadísticos de la linealidad del sistema para el método de perfiles de disolución.</i>	54
<i>Tabla 10. Resultados del porcentaje de recuperación de ASA para precisión y exactitud del sistema para el método para perfiles de disolución predichos con el software Gen Ex y Parámetros obtenidos con ayuda de Excel.</i>	55
<i>Tabla 11. Resultados de la validación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto de prueba.</i>	56
<i>Tabla 12. Análisis de variancia para evaluación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto de referencia e intervalos para el intercepto y la pendiente.</i>	57
<i>Tabla 13. Resultados de precisión y exactitud del método para perfiles de disolución de producto de prueba.</i>	59
<i>Tabla 14. Resultados de la curva de adiciones patrón para la evaluación de la linealidad del método para perfiles de disolución del producto innovador (Aspirina).</i>	60
<i>Tabla 15. Análisis de variancia para la linealidad del método del producto de referencia.</i>	62
<i>Tabla 16. Resultados estadísticos de la precisión y exactitud del método.</i>	63
<i>Tabla 17. Tabla general de estabilidad con resultados a los 5 tiempos.</i>	64
<i>Tabla 18. Medias aritméticas (Y) del porcentaje recuperado a todos los tiempos para las tres concentraciones.</i>	64
<i>Tabla 19. Diferencia de las medias aritméticas a los diferentes tiempos con respecto al tiempo 0.</i>	64
<i>Tabla 20. . Analisis de variancia para curva de ASA sin excipientes y sin producto de degradación.</i>	65
<i>Tabla 21. Tabla con concentraciones y parámetros de regresión de la curva de ASA, con producto de degradación y excipientes.</i>	66
<i>Tabla 22. Análisis de variancia de curva de calibración de ASA con excipientes y ácido salicílico.</i>	67
<i>Tabla 23. Resultados de la prueba de hipótesis para comparar las pendientes de ambas curvas.</i>	67
<i>Tabla 24. Porcentaje de recuperación de ASA por diferentes analistas en diferentes días.</i>	68
<i>Tabla 25. Análisis de Variancia para el porcentaje recuperado de ASA con respecto al día y analista.</i>	68
<i>Tabla 26. Resultados de concentración estimada y promedios de las mismas en la evaluación de la sensibilidad del método.</i>	70
<i>Tabla 27. Análisis de ANADEVA para la concentración estimada por la concentración adicionada.</i>	70
<i>Tabla 28. Diferencia de medias de la concentración recuperada a los diferentes niveles.</i>	71
<i>Tabla 29. Resultados de la estimación de LD y LC para el método de perfiles de disolución.</i>	71
<i>Tabla 30. Resultados de medias aritméticas del porcentaje recuperado a los diferentes pH y $y_0 - y_1$.</i>	72
<i>Tabla 31. Resultados de ANADEVA para el porcentaje recuperado a los tres diferentes pH.</i>	72

<i>Tabla 32. Resultados de porcentaje de recuperación en 2 diferentes equipo.</i>	73
<i>Tabla 33. Análisis de variancia para el porcentaje recuperado por los equipos.</i>	73
<i>Tabla 34. Resultados de la validación de la dilución 1/25 en HCl 0.1N para perfiles de disolución.</i>	74
<i>Tabla 35. Análisis de variancia para validación de diluciones 1/25.</i>	75
<i>Tabla 36. Resultados de la validación de la precisión y exactitud de la dilución 1/25 de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.</i>	76
<i>Tabla 37. Resultados de Validación de la dilución 1/10mL de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.</i>	77
<i>Tabla 38. Análisis de variancia para dilución 1/10.</i>	78
<i>Tabla 39. Resultados de concentraciones de ASA a los diferentes tiempos en las 12 tabletas evaluadas en el aparato IV USP del producto de referencia (lote X209VP).</i>	80
<i>Tabla 40. Resultados de las concentraciones de ASA obtenidas a los diferentes tiempos de muestreo para el producto de referencia (lote X207UU).</i>	83
<i>Tabla 41. Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X209UU).</i>	84
<i>Tabla 42. Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X208A3).</i>	86
<i>Tabla 43. Resultados del porcentaje acumulado de ASA a los diferentes tiempos de muestreo del producto de referencia (lote X208A3).</i>	87
<i>Tabla 44. Resultados de concentración de ASA del producto de prueba en HCl 0.1N a los diferentes tiempos de muestreo.</i>	89
<i>Tabla 45. Resultados del porcentaje acumulado de los perfiles de disolución de Tablet de ASA del producto de prueba.</i>	90
<i>Tabla 46. Concentración de ASA en el producto de referencia a los diferentes tiempos de muestreo en el aparato II USP.</i>	96
<i>Tabla 47. Concentración de ASA en el producto de prueba a los diferentes tiempos de muestreo en el aparato II USP.</i>	96
<i>Tabla 48. Resultados de F2 del producto de prueba con los tres lotes del producto de referencia.</i>	98
<i>Tabla 49. Parámetros de comparación de los perfiles de disolución de ASA en el equipo IV para los lotes FO1, X209VP, X207UU y X208A3.</i>	99
<i>Tabla 50. Parámetros de evaluación para la linealidad del sistema utilizando el software MCP (ISHEJA), para método de contenido de ASA en tabletas.</i>	100
<i>Tabla 51. Resultados de la precisión y exactitud del sistema para el método de contenido químico calculado con ayuda del software Gen Ex.</i>	102
<i>Tabla 52. Resultados de la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.</i>	103
<i>Tabla 53. Análisis de variancia e intervalos de confianza con 95% de probabilidad mínima significativa para la linealidad del método para contenido ASA en tabletas.</i>	104
<i>Tabla 54. Resultados de precisión y exactitud para validación del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.</i>	105
<i>Tabla 55. Resultados del porcentaje recuperado de ASA, por dos analistas diferentes, en dos días diferentes.</i>	106
<i>Tabla 56. Análisis de variancia anidado para determinar la precisión intermedia del método para contenido químico.</i>	107
<i>Tabla 57. Resultados del porcentaje recuperado de ASA a los diferentes pH (Robustez).</i>	108
<i>Tabla 58. Análisis de variancia para influencia de pH sobre el porcentaje recuperado (robustez).</i>	108

<i>Tabla 59. Resultados del porcentaje de recuperación de ASA utilizando diferentes filtros.</i>	<i>109</i>
<i>Tabla 60. Análisis de la Variancia para el porcentaje recuperado por los diferentes filtros para influencia del filtro.</i>	<i>109</i>
<i>Tabla 61. Porcentaje de contenido químico en tabletas de ASA (producto de prueba).</i>	<i>110</i>
<i>Tabla 62. Procedimiento para la preparación de los sistemas para curva de calibración para determinar contenido de ASA en tabletas.</i>	<i>125</i>
<i>Tabla 63. Procedimiento de preparación de los sistemas para curva de calibración para evaluar perfiles de disolución.</i>	<i>126</i>
<i>Tabla 64. Procedimiento para la preparación de los sistemas para curva de calibración para determinar contenido de ASA en tabletas.</i>	<i>128</i>
<i>Tabla 65. Procedimiento de preparación de los sistemas para curva de calibración para evaluar perfiles de disolución.</i>	<i>129</i>
<i>Tabla 66. Resultados de absorbancia a las diferentes longitudes de onda para curva de calibración linealidad del sistema para evaluación de perfiles de disolución.</i>	<i>130</i>
<i>Tabla 67. Resultados de absorbancia para evaluación del sistema para el método para evaluación de perfiles de disolución.</i>	<i>132</i>
<i>Tabla 68. Resultados de absorbancias para precisión y exactitud del sistema para método para evaluación de perfiles de disolución.</i>	<i>133</i>
<i>Tabla 69.-Resultados de absorbancias para curva de calibración para la linealidad del método para evaluación de perfiles de disolución.</i>	<i>134</i>
<i>Tabla 70.-Resultados para linealidad del método para perfiles de disolución del producto de prueba.</i>	<i>135</i>
<i>Tabla 71.- Resultados de absorbancias para precisión y exactitud del método para perfiles de disolución para el producto de prueba.</i>	<i>136</i>
<i>Tabla 72. Resultados de curva de calibración para validar el sistema para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.</i>	<i>137</i>
<i>Tabla 73. Resultados de la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.</i>	<i>138</i>
<i>Tabla 74. Resultados para precisión u exactitud del sistema para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.</i>	<i>139</i>

10. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rutas de degradación del ácido acetilsalicílico.	11
Figura 2. Hidrolisis del ácido acetilsalicílico (Iwunze, 2008).	12
Figura 3. La radiación incidente puede ser absorbida por la muestra, no absorbida, reflejada o dispersada. La transmitancia está definida por la relación de la energía que entra (P_o) y la potencia con la que sale (P).	19
Figura 4. Factores que afectan la velocidad de disolución aparente de un fármaco.	34
Figura 5. Estrategia analítica para el desarrollo y la validación del método analítico para perfiles de disolución y contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.	40
Figura 6. Equipos espectrofotométricos utilizados para obtener la señal analítica. A) Espectrofotómetro Cary 100 Varian .B) Espectrofotómetro Cary 1 E Vankel.	42
Figura 7. Aparato 2 USP (paletas) utilizado para la validación del método analítico para evaluación de perfiles de disolución.	43
Figura 8. Aparato 4 USP (celdas de flujo continuo) utilizado para caracterizar perfiles de disolución de tabletas de ASA (producto genérico y producto de referencia).	43
Figura 9. Espectros de absorción de ASA en solución de HCl 0.1N, búfer de acetatos pH 4.5 y búfer de fosfatos pH 6.8.	45
Figura 10. Diagrama de zonas de predominio de especies de ácido acetilsalicílico en función del pH.	45
Figura 11. Comportamiento del espectro de absorción del ácido salicílico, ácido acetilsalicílico y ácido salicílico con ácido acetilsalicílico a un pH de 1.2.	46
Figura 12. Grafico del comportamiento espectral del estándar de ASA, estándar de ASA con excipientes, excipientes y muestra del producto de referencia en HCl 0.1N.	47
Figura 13. Espectros de absorción del estándar de ASA, estándar con excipientes, excipientes y producto de referencia a pH de 4.5.	47
Figura 14. Espectros de absorción del estándar de ácido acetilsalicílico, estándar con excipientes, excipientes y del producto innovador a pH 68.	48
Figura 15. Comportamiento del espectro de absorción de ASA en una solución HCl 0.1N y longitudes elegidas para el método de PLS, para evaluación de perfiles de disolución.	49
Figura 16. Pruebas de disolución realizadas en tabletas de ASA de un producto de referencia (A) y producto de prueba (B) para determinar las condiciones óptimas.	50
Figura 17. Gráfico para la obtención de los factores óptimos para el modelo de calibración utilizando el programa Gen Ex, en este caso se observa que el número de variables más adecuado es 5.	51
Figura 18. Grafico del modelo de calibración obtenido a partir de la evaluación del sistema con ayuda del software Gen EX.	54
Figura 19. Gráfico de concentración adicionada contra concentración estimada de ácido acetilsalicílico para evaluar la linealidad del método para perfiles de disolución en el producto de prueba.	57
Figura 20. Gráfico de residuales para la linealidad del método.	58
Figura 21. Gráfica de linealidad del método para perfiles de disolución del producto de referencia.	61
Figura 22. Análisis de residuales para linealidad del método para el producto de referencia.	61
Figura 23. Gráfico de las dos curvas de calibración.	66
Figura 24. Análisis de medias para el porcentaje recuperado en función del analista.	69
Figura 25. Análisis de medias para porcentaje recuperado en los tres diferentes pH (1.6, 1.2 y 0.9), con un 95% de confianza.	72
Figura 26.-Análisis de medias de comparación del porcentaje recuperado de ASA por dos equipos diferentes, que demuestra que no hay diferencia significativa al utilizar un equipo u otro.	73

Figura 27. Validación de las disoluciones 1/25 para perfiles de disolución de ASA en HCl 0.1 N.	75
Figura 28. Gráfico de residuales de la validación de la dilución 1/25 de ASA en HCl 0.1N.	75
Figura 29. Validación de ASA 1/10 de ASA en HCl 0.1N para perfiles de disolución.	77
Figura 30. Gráfico de residuales de la dilución 1/10 de ASA en HCl 0.1 N para perfiles de disolución.	78
Figura 31. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209VP).	82
Figura 32. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209VP).	82
Figura 33. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209UU).	85
Figura 34. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X209UU).	85
Figura 35. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X208A3).	88
Figura 36. Gráfico del % acumulado de asa a los diferentes tiempos de muestreo en la evaluación de Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de referencia (Aspirina lote X208A3).	88
Figura 37. Perfiles de disolución de las 12 tabletas del producto de prueba en HCl 0.1N.	91
Figura 38. Porcentaje Acumulado de los perfiles de disolución de las tabletas de ácido acetilsalicílico del producto de prueba.	91
Figura 39. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X209VP) y producto de prueba (FO1).	92
Figura 40. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X209VP).	92
Figura 41. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X207UU) y producto de prueba (FO1).	93
Figura 42. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X207UU).	93
Figura 43. Comparación de perfiles utilizando como medio de disolución HCl 0.1N en el apartado IV USP del producto de referencia (X208A3) y producto de prueba (FO1).	94
Figura 44. Promedio del porcentaje acumulado de ASA en el producto de prueba (FO1) y producto de referencia (X208A3).	94
Figura 45. Resultados de los promedios del porcentaje acumulado de ASA de los tres lotes del producto de referencia y el lote de prueba obtenidos en el aparato IV USP.	95
Figura 46. Perfiles de disolución del producto de referencia en el aparato II USP.	97
Figura 47. Perfiles de disolución de ASA del producto de prueba en el aparato II USP.	97
Figura 48. Comparación de perfiles de disolución del producto de referencia y producto de prueba en el aparato II USP.	98
Figura 49. Gráfico de linealidad del sistema obtenido con el programa estadístico Gen Ex.	101
Figura 50. Gráfico de linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.	104
Figura 51. Gráfico de análisis de residuales para la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.	105
Figura 52. Gráficos de medias con intervalo de confianza de 95% de diferencia mínima significativa. Para evaluar reproducibilidad.	107
Figura 53. Análisis de medias a un intervalo de confianza del 95% para influencia de pH sobre el porcentaje de recuperación (robustez).	108
Figura 54. Análisis de medias para influencia del filtro.	110

REFERENCIAS

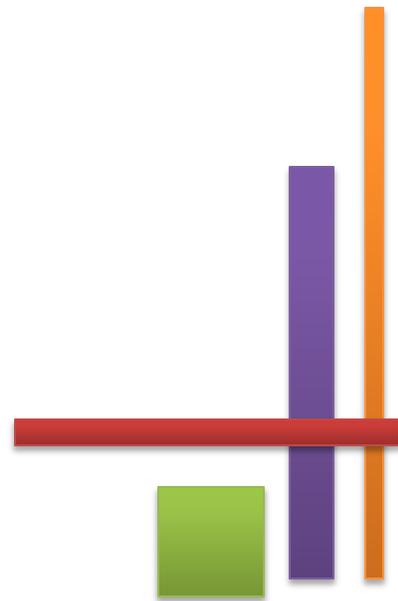


11. REFERENCIAS

1. Peltonen, L., Liljeroth, P., Heikkil, T., Kontturi, K., & Hirvonen, J. (2003). Dissolution testing of acetylsalicylic acid by a channel flow method--correlation to USP basket and intrinsic dissolution methods. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(5), 395-401.
2. Dumitrescu, V., Surmeian, M., Doneanu, C., & Stanescu, S. (1996). Computer program for the determination of salicylic acid content in aspirin by derivative spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 333(1-2), 181-186.
3. Torrado, S., Cadorniga, R., & Torrado, J. J. (1996). Effect of drug release rate on bioavailability of different aspirin tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 133(1-2), 65-70.
4. Ermer, J. (2004). Selectivity or specificity? Validation of analytical methods from the perspective of an analytical chemist in the pharmaceutical industry. *Quality Operations, Global Analytical Development*, , 869-870.
5. M. Blanco, M. A. (2005). Method, Simultaneous quantitation of five active principles in a pharmaceutical preparation: Development and validation of a near infrared spectroscopic. *Analytical Chemistry Unity*, 280-286.
6. Taylor, J. K. (1983). Validation of Analytical Methods . *Analytical Chemistry*, 600-608.
7. Mongay F.C. (2005). *Quimiometría*. Universidad de valencia. España. 423pp.
8. Miller J. N. (2002). *Estadística y Quimiometría para química analítica*. Pearson Educación. 278pp.
9. *Guía de Validación de Métodos Analíticos*. Colegio Nacional de químicos Farmacéuticos Biólogos. Métodos 123pp.
10. *Guideline for Industry Analytical Procedures and Methods Validation*, August 2000, FDA.
11. *Guideline for Industry: Text on Validation of Analytical Procedures ICH-Q2 (R1)*, March 1995.
12. NOM-177-SSA1-1998 "Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable"
13. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm>
14. *Guidance for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*. August 1997. FDA
15. Guerrero B. A. (2005). Tesis de licenciatura. Desarrollo y validación de un método analítico para perfiles de disolución e hidrocortizida. México. UNAM. 139 pp.
16. Lugo S. N. A. (2006). Tesis de licenciatura. Desarrollo y validación de un método analítico par perfiles de disolución de clorhidrato de propafenona en tabletas por espectrofotometría ultravioleta. México. UNAM.
17. Huerta S. M. (2009) Tesis de licenciatura. Aplicación del método de mínimos cuadrados parciales en la determinación de uniformidad de contenido químico por espectrofotometría UV. De acetaminofén (AOAP y naproxeno (nap presentes en tabletas .México. UNAM. 82pp.
18. Cervantes S. G. (2009).Tesis de licenciatura. Cuantificación simultanea de las vitaminas B1, B6 y cianocobalamina presentes en un inyectable mediante un método espectrofotométrico multivariable. México. UNAM. 97pp.

19. Orientación para la industria: las pruebas de disolución de la inmediata liberación de formas farmacéuticas orales sólidas. EE.UU. Administración de Alimentos y Medicamentos, Rockville, MD, EE.UU., 1997.
20. EURACHEM Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. (1998). A laboratory Guide to Method Validation and related topics., 61.
21. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory (IUPAC Technical Report). (2002). International Union of Pure and Applied Chemistry, 74(5), 835-855.
22. Boubeta, J. V. (2008). Estadística práctica para la investigación de ciencias de la salud. La Coruña, España: Netbiblo.
23. Gallegos, R. S. (2003). Introducción al análisis de datos experimentales. Universitat Jume I.
24. Iwunze, M. O. (2008). Absorptiometric Determination of Acetylsalicylic Acid in Aqueous Ethanol Solution. Analytical Letters, 41, 2944–2953.
25. Moffat, A. C. (2004). Clarke's Analysis of Drugs and Poisons (3 ed.). Pharmaceutical Pr.
26. Peter Meredith. (2003). Bioequivalence and Other Unresolved Issues in Generic Drug Substitution. Clinical Therapeutics, 25 (No 11), 2875-2890.
27. Pietro FAGIOLINO, R. E. (2005). Intercambiabilidad de Medicamentos. Bioequivalencia y Equivalencia Terapéutica. Acta Farm. Bonaerense, 24(2), 179-189.
28. , M. A. (2008). Tesis de licenciatura, Cuantificación espectrofotométrica UV de aspirina y cafeína contenida en tabletas, aplicando el método de mínimos cuadrados parciales. UNAM, Fes Cuautitlan Edo. de Mexico.
29. Santos, N. A. (2006). Desarrollo y Validación de un método analítico para evaluación de perfiles de disolución de clorhidrato de propafenona en tabletas por espectrofotometría ultravioleta. UNAM, Mexico.
30. Sierra, I. (2010). Análisis instrumental. Netbiblo, La Coruña, España. 236pp.
31. FIP Guidelines For Dissolution Testing of solid oral products. (1997)
32. ICH Guideline Q4B annex 7(r2) On dissolution test- general chapter (2010).

12. ANEXOS



ANEXO 1

PNO para preparación de la solución de HCl 0.1N.

1. Se Colocar 250mL de agua desionizada en un matraz volumétrico de 1000mL.
2. Adicionar con ayuda de una pipeta graduada 8.5mL de HCl concentrado.
3. Agitar ligeramente el matraz.
4. Adicionar aproximadamente 600mL de agua desionizada.
5. Medir el pH con el potenciómetro (pH 1.2).
6. Ajustar el pH si es necesario para obtener un pH de 1.2 con HCl concentrado o con NaOH 1N.
7. Llevar a la marca de aforo con agua desionizada

ANEXO 2

PNO para la curva de calibración para contenido de ASA

1. Se pesó 50g de estándar de ASA con ayuda de un pesamuestras.
 - 1.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 1.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 1.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 1.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (**solución A**).
2. Se pesó 20mg de ácido salicílico con ayuda de un pesamuestra.
 - 2.1. Se pasó a un matraz aforado de 100mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 2.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 2.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 2.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (**solución B**).
3. De la **solución B** tomar 6mL con una pipeta volumétrica y pasar a un matraz volumétrico de 100mL.
 - 3.1. Llevar a la marca de aforo con una solución de HCl 0.1N (**solución C**).
4. Se procedió a la preparación de la curva de calibración en base a la siguiente tabla:

Tabla 62. Procedimiento para la preparación de los sistemas para curva de calibración para determinar contenido de ASA en tabletas.

Sistema	mL de ASA (solución A)	C. de ASA $\mu\text{g/mL}$	mL de Ac. Salicílico (solución C)	C. de Ac. Salicílico $\mu\text{g/mL}$	Volumen de aforo (mL)
1	6	48	1	4	25
2	6		2	0.9	25
3	6		3	1.4	25
6	5	40	1	4	25
7	5		2	0.9	25
8	5		3	1.4	25
9	4	32	1	4	25
10	4		2	0.9	25
11	4		3	1.4	25
12	3	24	1	4	25
13	3		2	0.9	25
14	3		3	1.4	25
15	2	16	1	4	25
16	2		2	0.9	25
17	2		3	1.4	25

ANEXO 3

PNO para la curva de calibración para evaluación de perfiles de disolución de tabletas de ASA

1. Se pesó 50g de estándar de ASA con ayuda de un pesamuestras.
 - 1.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 1.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 1.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 1.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (solución A).

2. Se pesó 40mg de ácido salicílico con ayuda de un pesamuestra.
 - 2.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 2.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 2.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 2.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (solución B).

3. De la **solución B** tomar 6mL con una pipeta volumétrica y pasar a un matraz volumétrico de 100mL.

3.1. Llevar a la marca de aforo con una solución de HCl 0.1N (**solución C**).

4. Se procedió a la preparación de la curva de calibración en base a la siguiente tabla:

Tabla 63. Procedimiento de preparación de los sistemas para curva de calibración para evaluar perfiles de disolución.

Sistema	mL de ASA (solución A)	C. de ASA $\mu\text{g/mL}$	mL de Ac. Salicílico (solución C)	C. de Ac. Salicílico $\mu\text{g/mL}$	Volumen de aforo (mL)
1	8	64	1	4	25
2	8		2	0.9	25
3	8		3	1.4	25
6	5	40	1	4	25
7	5		2	0.9	25
8	5		3	1.4	25
9	4	32	1	4	25
10	4		2	0.9	25
11	4		3	1.4	25
12	3	24	1	4	25
13	3		2	0.9	25
14	3		3	1.4	25
15	2	16	1	4	25
16	2		2	0.9	25
17	2		3	1.4	25
18	0.5	4	1	4	25
19	0.5		2	0.9	25
20	0.5		3	1.4	25

ANEXO 4

PNO para preparación de la solución de HCl 0.1N.

1. Se Colocar 250mL de agua desionizada en un matraz volumétrico de 1000mL.
2. Adicionar con ayuda de una pipeta graduada 8.5mL de HCl concentrado.
3. Agitar ligeramente el matraz.
4. Adicionar aproximadamente 600mL de agua desionizada.
5. Medir el pH con el potenciómetro (pH 1.2).
6. Ajustar el pH si es necesario para obtener un pH de 1.2 con HCl concentrado o con NaOH 1N.
7. Llevar a la marca de aforo con agua desionizada.

ANEXO 5

PNO para la curva de calibración para contenido de ASA

1. Se pesó 50g de estándar de ASA con ayuda de un pesamuestras.
 - 1.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 1.2. Se agitó el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 4.1. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 4.2. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (**solución A**).

2. Se pesó 20mg de ácido salicílico con ayuda de un pesamuestra.
 - 2.1. Se pasó a un matraz aforado de 100mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 2.2. Se agitó el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 2.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 2.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (**solución B**).

3. De la **solución B** tomar 6mL con una pipeta volumétrica y pasar a un matraz volumétrico de 100mL.
 - 3.1. Llevar a la marca de aforo con una solución de HCl 0.1N (**solución C**).

4. Se procedió a la preparación de la curva de calibración en base a la siguiente tabla:

Tabla 64. Procedimiento para la preparación de los sistemas para curva de calibración para determinar contenido de ASA en tabletas.

Sistema	mL de ASA (solución A)	C. de ASA $\mu\text{g/mL}$	mL de Ac. Salicílico (solución C)	C. de Ac. Salicílico $\mu\text{g/mL}$	Volumen de aforo (mL)
1	6	48	1	4	25
2	6		2	0.9	25
3	6		3	1.4	25
6	5	40	1	4	25
7	5		2	0.9	25
8	5		3	1.4	25
9	4	32	1	4	25
10	4		2	0.9	25
11	4		3	1.4	25
12	3	24	1	4	25
13	3		2	0.9	25
14	3		3	1.4	25
15	2	16	1	4	25
16	2		2	0.9	25
17	2		3	1.4	25

ANEXO 6

PNO para la curva de calibración para evaluación de perfiles de disolución de tabletas de ASA

1. Se pesó 50g de estándar de ASA con ayuda de un pesamuestras.
 - 1.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 1.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 1.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 1.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (solución A).

2. Se pesó 40mg de ácido salicílico con ayuda de un pesamuestra.
 - 2.1. Se pasó a un matraz aforado de 250mL y se lavó el pesamuestras con 3mL de etanol por triplicado dejando caer el etanol en el matraz.
 - 2.2. Se agito el matraz ligeramente por 2min hasta disolver el estándar de ASA.
 - 2.3. Se volvió el pesamuestra con 5mL de HCl 0.1N por triplicado.
 - 2.4. Se llevó a la marca de aforo con HCl 0.1N (solución B).

3. De la **solución B** tomar 6mL con una pipeta volumétrica y pasar a un matraz volumétrico de 100mL.
 - 3.1. Llevar a la marca de aforo con una solución de HCl 0.1N (**solución C**).

4. Se procedió a la preparación de la curva de calibración en base a la siguiente tabla:

Tabla 65. Procedimiento de preparación de los sistemas para curva de calibración para evaluar perfiles de disolución.

Sistema	mL de ASA (solución A)	C. de ASA $\mu\text{g/mL}$	mL de Ac. Salicílico (solución C)	C. de Ac. Salicílico $\mu\text{g/mL}$	Volumen de aforo (mL)
1	8	64	1	4	25
2	8		2	0.9	25
3	8		3	1.4	25
6	5	40	1	4	25
7	5		2	0.9	25
8	5		3	1.4	25
9	4	32	1	4	25
10	4		2	0.9	25
11	4		3	1.4	25
12	3	24	1	4	25
13	3		2	0.9	25
14	3		3	1.4	25
15	2	16	1	4	25
16	2		2	0.9	25
17	2		3	1.4	25
18	0.5	4	1	4	25
19	0.5		2	0.9	25
20	0.5		3	1.4	25

ANEXO 7.

Tabla 66. Resultados de absorbancia a las diferentes longitudes de onda para curva de calibración linealidad del sistema para evaluación de perfiles de disolución.

Sistema	Absorbancias																		
	[ASA]	[SAL]	Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)
S1	4.0344	0.48684	0.0191	0.0251	0.0278	0.0279	0.0272	0.0243	0.0197	0.0164	0.0166	0.0189	0.0962	0.1355	0.1903	0.2108	0.2122	0.1709	0.1581
S2	4.0344	0.48684	0.019	0.025	0.0285	0.0282	0.0277	0.0245	0.0203	0.0157	0.0168	0.019	0.0952	0.1345	0.1894	0.2115	0.2126	0.1718	0.1593
S3	4.0344	0.48684	0.018	0.0245	0.0277	0.0275	0.0272	0.0237	0.0193	0.0154	0.0159	0.0182	0.0958	0.1349	0.1899	0.2109	0.2123	0.171	0.1578
S4	4.0344	0.97368	0.0271	0.0321	0.0332	0.032	0.0308	0.0269	0.0218	0.0174	0.0184	0.0219	0.1228	0.1689	0.2273	0.2468	0.247	0.1988	0.1857
S5	4.0344	0.97368	0.0274	0.0314	0.0324	0.0315	0.0309	0.0271	0.0217	0.0183	0.0196	0.022	0.1204	0.164	0.2198	0.2382	0.2382	0.1923	0.1802
S6	4.0344	0.97368	0.0281	0.0327	0.0336	0.0322	0.0313	0.0275	0.0227	0.0191	0.0201	0.023	0.1222	0.1664	0.2212	0.2384	0.2381	0.1914	0.1796
S7	4.0344	1.46052	0.0378	0.0402	0.0389	0.0369	0.0353	0.0309	0.0254	0.0211	0.0226	0.0269	0.1485	0.1982	0.2535	0.2671	0.266	0.2128	0.2022
S8	4.0344	1.46052	0.037	0.0391	0.0379	0.0355	0.0342	0.03	0.024	0.0199	0.0216	0.0248	0.1456	0.1953	0.2499	0.262	0.261	0.206	0.1937
S9	4.0344	1.46052	0.038	0.0402	0.0388	0.0364	0.035	0.0307	0.0254	0.0206	0.0226	0.0258	0.148	0.1983	0.2534	0.2662	0.2651	0.2118	0.2008
S10	16.1376	0.48684	0.0516	0.085	0.1022	0.1053	0.1042	0.0939	0.0801	0.0635	0.0651	0.0709	0.3107	0.4533	0.6691	0.7636	0.773	0.6325	0.5803
S11	16.1376	0.48684	0.0534	0.0865	0.1044	0.1072	0.1057	0.095	0.0805	0.0644	0.0654	0.072	0.3143	0.4578	0.6754	0.7711	0.7793	0.6375	0.5855
S12	16.1376	0.48684	0.0579	0.0914	0.1091	0.112	0.1102	0.1002	0.0856	0.0697	0.0709	0.0773	0.318	0.4609	0.6771	0.7711	0.7809	0.6399	0.588
S13	16.1376	0.97368	0.0645	0.0949	0.1106	0.1126	0.1105	0.0995	0.0849	0.0689	0.0704	0.0788	0.3402	0.4874	0.7017	0.7913	0.7996	0.6541	0.6044
S14	16.1376	0.97368	0.0647	0.0951	0.1117	0.1142	0.1117	0.1002	0.0853	0.0691	0.0709	0.0784	0.3443	0.4937	0.7127	0.8056	0.8143	0.6664	0.6154
S15	16.1376	0.97368	0.0661	0.0966	0.1125	0.1145	0.1122	0.1012	0.0868	0.0706	0.0722	0.08	0.3433	0.4913	0.7077	0.7977	0.806	0.6602	0.6097
S16	16.1376	1.46052	0.071	0.099	0.1124	0.1131	0.1105	0.0986	0.0831	0.0664	0.0683	0.0767	0.3601	0.512	0.727	0.8119	0.8189	0.6649	0.6144
S17	16.1376	1.46052	0.0725	0.1008	0.1141	0.115	0.1122	0.1002	0.0847	0.0683	0.0703	0.0786	0.3623	0.5144	0.7295	0.8146	0.8211	0.6651	0.615
S18	16.1376	1.46052	0.0714	0.0994	0.1129	0.1144	0.1116	0.0993	0.0838	0.0669	0.069	0.0775	0.3623	0.5154	0.7307	0.8159	0.824	0.6673	0.6158
S19	24.2064	0.48684	0.0758	0.1254	0.1521	0.1576	0.1554	0.1398	0.1189	0.0952	0.0963	0.1057	0.453	0.6631	0.9801	1.1208	1.1343	0.9308	0.8531
S20	24.2064	0.48684	0.0767	0.1268	0.1529	0.1586	0.1556	0.1402	0.1191	0.0957	0.0971	0.106	0.4539	0.6635	0.9818	1.1227	1.137	0.9337	0.8575
S21	24.2064	0.48684	0.0775	0.1273	0.1545	0.1594	0.1569	0.1423	0.1214	0.0975	0.099	0.1085	0.4561	0.6647	0.9836	1.1224	1.1384	0.9351	0.8591
S22	24.2064	0.97368	0.0855	0.1335	0.158	0.1623	0.1592	0.1427	0.1212	0.0974	0.0991	0.1096	0.4798	0.6952	1.0138	1.1517	1.1628	0.9532	0.8768
S23	24.2064	0.97368	0.0903	0.1386	0.1632	0.1676	0.164	0.148	0.1264	0.1029	0.1049	0.1146	0.4859	0.7024	1.0216	1.1586	1.1704	0.9607	0.8855
S24	24.2064	0.97368	0.0855	0.1329	0.1575	0.1615	0.1583	0.1421	0.1201	0.0958	0.0976	0.1076	0.4783	0.6939	1.012	1.148	1.1595	0.9504	0.8759
S25	24.2064	1.46052	0.0967	0.1412	0.1638	0.1668	0.1637	0.1461	0.1238	0.0998	0.1018	0.1131	0.504	0.7228	1.0404	1.172	1.1821	0.9663	0.8912
S26	24.2064	1.46052	0.0936	0.1383	0.1609	0.1635	0.1604	0.1431	0.121	0.0965	0.0984	0.1098	0.5001	0.7191	1.0362	1.1655	1.1765	0.9605	0.8852
S27	24.2064	1.46052	0.0934	0.1386	0.1617	0.1643	0.1606	0.1434	0.1211	0.0963	0.0984	0.1094	0.5005	0.7196	1.038	1.1692	1.1789	0.9619	0.8869
S28	32.2752	0.48684	0.1009	0.1667	0.2041	0.2108	0.2075	0.187	0.1589	0.1261	0.1282	0.1403	0.5985	0.8758	1.2959	1.4755	1.4948	1.2281	1.1272
S29	32.2752	0.48684	0.101	0.1677	0.2035	0.2108	0.2069	0.1863	0.159	0.1266	0.1285	0.1405	0.5975	0.8741	1.2926	1.4727	1.4901	1.2275	1.1276
S30	32.2752	0.48684	0.1034	0.1703	0.2071	0.2138	0.2105	0.1902	0.1624	0.1304	0.1324	0.1447	0.6035	0.8802	1.2992	1.4799	1.4972	1.2338	1.1355
S31	32.2752	0.97368	0.1102	0.1747	0.2087	0.2139	0.2108	0.189	0.16	0.1279	0.1298	0.1427	0.6225	0.9049	1.3217	1.4978	1.5145	1.2417	1.1419
S32	32.2752	0.97368	0.1104	0.1747	0.2087	0.2143	0.2106	0.189	0.1606	0.1285	0.13	0.1434	0.6243	0.9062	1.3216	1.4968	1.5138	1.2419	1.1422
S33	32.2752	0.97368	0.111	0.1744	0.2087	0.2143	0.2104	0.1889	0.1606	0.1279	0.13	0.1432	0.622	0.9031	1.3182	1.4927	1.5071	1.2407	1.1443
S34	32.2752	1.46052	0.1178	0.1791	0.2109	0.2152	0.2105	0.1885	0.1593	0.1264	0.1291	0.1433	0.6445	0.9302	1.345	1.5151	1.5329	1.2498	1.1493
S35	32.2752	1.46052	0.1185	0.1802	0.2113	0.2153	0.211	0.1883	0.1593	0.1262	0.1288	0.1425	0.6437	0.93	1.345	1.5136	1.5267	1.2519	1.1506
S36	32.2752	1.46052	0.1167	0.1782	0.2093	0.2145	0.2099	0.1871	0.1585	0.1255	0.128	0.1422	0.6435	0.9295	1.3441	1.5107	1.5275	1.2501	1.1517
S37	40.344	0.48684	0.1235	0.2061	0.2506	0.2593	0.255	0.2294	0.1949	0.1546	0.1566	0.1725	0.7393	1.0798	1.583	1.7906	1.8103	1.4998	1.3818



S38	40.344	0.48684	0.1247	0.2058	0.2505	0.2591	0.2551	0.2295	0.1944	0.1548	0.1568	0.1723	0.7398	1.0791	1.5829	1.7877	1.8109	1.5009	1.3822
S39	40.344	0.48684	0.1271	0.209	0.2538	0.2618	0.2575	0.2315	0.1972	0.1569	0.159	0.1748	0.7417	1.0817	1.5849	1.7922	1.8109	1.5033	1.3847
S40	40.344	0.97368	0.1334	0.2137	0.2562	0.2626	0.2586	0.2315	0.1963	0.156	0.1582	0.1745	0.7616	1.1064	1.6059	1.807	1.8255	1.5116	1.3951
S41	40.344	0.97368	0.1327	0.2124	0.2545	0.2614	0.2565	0.2296	0.1943	0.1541	0.1559	0.1728	0.7618	1.104	1.6069	1.8047	1.8242	1.5068	1.3883
S42	40.344	1.46052	0.1351	0.2152	0.2569	0.2646	0.2593	0.2331	0.1983	0.1572	0.1599	0.1766	0.7661	1.1112	1.6134	1.8127	1.832	1.5157	1.3966
S43	40.344	1.46052	0.1423	0.2196	0.2599	0.2659	0.2608	0.2335	0.1967	0.1568	0.1587	0.1759	0.7879	1.138	1.6357	1.8313	1.8484	1.5254	1.4072
S44	40.344	1.46052	0.1437	0.2203	0.2603	0.2668	0.261	0.2335	0.1983	0.1577	0.1602	0.1778	0.789	1.1384	1.6374	1.8327	1.8498	1.5273	1.4087
S45	40.344	1.46052	0.1435	0.2201	0.261	0.2665	0.2613	0.2336	0.1977	0.1576	0.1601	0.1777	0.7897	1.139	1.6361	1.8281	1.8471	1.5262	1.4064
S46	64.5504	0.48684	0.2006	0.3321	0.4043	0.4174	0.4107	0.3682	0.3142	0.2497	0.253	0.278	1.1662	1.676	2.2865	2.4309	2.4379	2.1782	2.0457
S47	64.5504	0.48684	0.1987	0.3317	0.4028	0.416	0.409	0.3674	0.3124	0.2484	0.251	0.2758	1.1675	1.6815	2.2914	2.4311	2.4322	2.174	2.0514
S48	64.5504	0.48684	0.1995	0.332	0.4033	0.4157	0.4095	0.3676	0.3127	0.2486	0.2516	0.2768	1.1688	1.6888	2.3399	2.5044	2.4897	2.2111	2.0653
S49	64.5504	0.97368	0.2098	0.3394	0.4084	0.4202	0.4126	0.37	0.3149	0.2507	0.2542	0.2795	1.191	1.7036	2.2911	2.4278	2.4348	2.1747	2.0518
S50	64.5504	1.46052	0.209	0.3392	0.408	0.4203	0.4134	0.3707	0.3154	0.2507	0.2533	0.2793	1.1923	1.7032	2.3009	2.462	2.5014	2.2337	2.0979
S51	64.5504	1.46052	0.2099	0.3397	0.4092	0.4215	0.4141	0.3706	0.3157	0.2513	0.2541	0.2801	1.1976	1.7184	2.3546	2.5178	2.5195	2.2366	2.0989
S52	64.5504	1.46052	0.2203	0.3471	0.4134	0.4246	0.4166	0.373	0.3167	0.2519	0.2555	0.2821	1.2151	1.7265	2.2926	2.4062	2.4132	2.1684	2.055
S53	64.5504	1.46052	0.2214	0.3476	0.4143	0.4257	0.4171	0.3746	0.3181	0.2543	0.2577	0.2845	1.214	1.7247	2.2888	2.4098	2.4158	2.1675	2.048
S54	64.5504	1.46052	0.221	0.3478	0.4142	0.4243	0.4171	0.3745	0.3185	0.2541	0.2571	0.2844	1.214	1.7247	2.2871	2.4093	2.4151	2.1708	2.0484



Tabla 67. Resultados de absorbancia para evaluación del sistema para el método para evaluación de perfiles de disolución.

SISTEMA	ABSORBANCIAS																		
	[ASA]	[SAL]	Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)
s1	16.1216	0.48384	0.0516	0.0858	0.1033	0.1067	0.105	0.0943	0.08	0.0629	0.0631	0.0697	0.3052	0.448	0.664	0.7602	0.7696	0.6289	0.5762
s2	16.1216	0.48384	0.0511	0.0852	0.1023	0.1054	0.1037	0.0935	0.0792	0.0626	0.0627	0.0689	0.3042	0.4463	0.6613	0.7583	0.768	0.6278	0.5753
s3	16.1216	0.48384	0.0516	0.0854	0.1028	0.1057	0.1048	0.0932	0.0801	0.0634	0.064	0.0701	0.3058	0.4461	0.6619	0.7571	0.7674	0.628	0.5754
s4	16.1216	0.96768	0.0617	0.0932	0.1085	0.1107	0.1084	0.0966	0.0823	0.0656	0.0664	0.0739	0.3313	0.478	0.6946	0.7862	0.7938	0.6477	0.5955
s5	16.1216	0.96768	0.0638	0.095	0.1106	0.1125	0.1106	0.099	0.0848	0.0681	0.0691	0.0762	0.3342	0.4821	0.6983	0.7895	0.7987	0.6526	0.601
s6	16.1216	0.96768	0.0638	0.0953	0.1114	0.1131	0.1109	0.0998	0.0854	0.0683	0.0694	0.0765	0.3367	0.4848	0.7023	0.7934	0.8031	0.6568	0.6037
s7	16.1216	1.45152	0.07	0.0993	0.1124	0.1135	0.1109	0.0989	0.0839	0.0667	0.0677	0.0758	0.3533	0.5046	0.7195	0.8061	0.8148	0.6613	0.6109
s8	16.1216	1.45152	0.0719	0.1006	0.1139	0.115	0.1121	0.099	0.0839	0.0663	0.0677	0.0765	0.3588	0.5117	0.7281	0.8154	0.8224	0.6686	0.6169
s9	16.1216	1.45152	0.0725	0.1008	0.1146	0.1159	0.1128	0.1004	0.0853	0.0684	0.07	0.0788	0.3574	0.5083	0.7246	0.812	0.8211	0.6683	0.6166
s10	24.1824	0.48384	0.075	0.1254	0.1528	0.1588	0.1559	0.1402	0.1201	0.0953	0.0963	0.1055	0.4485	0.6576	0.978	1.1207	1.1367	0.9348	0.8574
s11	24.1824	0.48384	0.077	0.1278	0.1549	0.1605	0.1581	0.1427	0.1225	0.0983	0.0992	0.1085	0.4509	0.6599	0.9808	1.1234	1.1396	0.9367	0.8606
s12	24.1824	0.48384	0.0766	0.1274	0.1548	0.1598	0.1576	0.1422	0.1219	0.0972	0.0982	0.1079	0.4512	0.6603	0.9811	1.1236	1.1392	0.9372	0.8596
s13	24.1824	0.96768	0.0844	0.1327	0.1581	0.162	0.1592	0.1428	0.1214	0.0962	0.0974	0.1076	0.4724	0.6874	1.0077	1.1466	1.161	0.9508	0.8734
s14	24.1824	0.96768	0.084	0.1318	0.1564	0.1608	0.1581	0.1417	0.1209	0.0961	0.0971	0.1072	0.469	0.6826	1.0001	1.1378	1.1526	0.943	0.8664
s15	24.1824	0.96768	0.085	0.1327	0.1583	0.1625	0.1601	0.1435	0.1228	0.0977	0.099	0.1092	0.4739	0.6876	1.0075	1.1471	1.1609	0.9515	0.8735
s16	24.1824	1.45152	0.0941	0.1389	0.1623	0.1648	0.1615	0.1442	0.1221	0.0971	0.0981	0.1096	0.4965	0.7165	1.0341	1.1651	1.1782	0.9612	0.8851
s17	24.1824	1.45152	0.092	0.1376	0.1607	0.1631	0.1599	0.1429	0.1213	0.0959	0.0975	0.1082	0.4937	0.7119	1.0302	1.1626	1.1748	0.9578	0.8802
s18	24.1824	1.45152	0.0943	0.1403	0.1629	0.1657	0.1627	0.1452	0.1239	0.0991	0.1007	0.112	0.4979	0.7149	1.0331	1.1654	1.1786	0.9627	0.8858
s19	32.2432	0.48384	0.0976	0.1647	0.2019	0.2095	0.2054	0.1842	0.1579	0.1251	0.1259	0.1388	0.5892	0.8635	1.2827	1.4653	1.4882	1.2247	1.1223
s20	32.2432	0.48384	0.0977	0.1649	0.2018	0.2089	0.2055	0.1849	0.1578	0.125	0.1262	0.1385	0.5885	0.8629	1.2797	1.4632	1.4825	1.2208	1.1182
s21	32.2432	0.48384	0.0976	0.1649	0.2012	0.2085	0.2054	0.1845	0.1571	0.1249	0.1255	0.1379	0.5886	0.8631	1.281	1.4649	1.4829	1.2204	1.1189
s22	32.2432	0.96768	0.1052	0.1705	0.2046	0.2108	0.2069	0.1853	0.1578	0.1251	0.1265	0.1399	0.6101	0.8874	1.3035	1.4779	1.4957	1.2289	1.1279
s23	32.2432	0.96768	0.106	0.1712	0.2057	0.2116	0.2079	0.1861	0.1587	0.1256	0.1267	0.1401	0.6121	0.8922	1.3083	1.4853	1.5029	1.2355	1.1397
s24	32.2432	0.96768	0.1055	0.1705	0.205	0.2107	0.2072	0.1855	0.158	0.1251	0.1262	0.1397	0.6109	0.8902	1.3062	1.4823	1.5005	1.2308	1.1301
s25	32.2432	1.45152	0.1151	0.1779	0.2098	0.2147	0.2108	0.1881	0.16	0.1265	0.1282	0.1426	0.6344	0.9179	1.3336	1.5057	1.523	1.2478	1.147
s26	32.2432	1.45152	0.1157	0.178	0.2099	0.2153	0.2108	0.1885	0.1602	0.1272	0.1284	0.1433	0.6354	0.9184	1.334	1.5061	1.5223	1.2478	1.1492
s27	32.2432	1.45152	0.1159	0.1789	0.211	0.2163	0.2117	0.1899	0.1612	0.1282	0.1293	0.1439	0.6374	0.9214	1.3382	1.5126	1.5282	1.2533	1.1538
s28	40.304	0.48384	0.1232	0.2077	0.2539	0.2628	0.2591	0.2332	0.1993	0.1587	0.1604	0.1752	0.733	1.0732	1.5824	1.7974	1.8184	1.5115	1.3905
s29	40.304	0.48384	0.1217	0.2059	0.2518	0.2603	0.2565	0.2307	0.1976	0.1572	0.158	0.173	0.7292	1.0684	1.5794	1.7954	1.8158	1.5069	1.3846
s30	40.304	0.48384	0.1232	0.2075	0.2536	0.2621	0.2584	0.232	0.1988	0.1577	0.1592	0.1747	0.7337	1.0744	1.5863	1.8001	1.8221	1.5132	1.3912
s31	40.304	0.96768	0.1315	0.2138	0.2574	0.2659	0.2612	0.2341	0.1998	0.1584	0.16	0.1766	0.7569	1.1024	1.6116	1.8228	1.8412	1.5272	1.4067
s32	40.304	0.96768	0.1346	0.2172	0.2614	0.2695	0.265	0.239	0.2038	0.1636	0.1652	0.1821	0.7634	1.1085	1.6146	1.8259	1.845	1.5299	1.4107
s33	40.304	0.96768	0.1339	0.2157	0.2597	0.268	0.2632	0.2369	0.2022	0.162	0.1634	0.1806	0.76	1.1039	1.6033	1.8081	1.8288	1.5174	1.3974
s34	40.304	1.45152	0.1438	0.2235	0.2651	0.2717	0.2671	0.2391	0.205	0.1646	0.1661	0.1838	0.7845	1.134	1.6376	1.8372	1.8546	1.5368	1.4173
s35	40.304	1.45152	0.1454	0.2248	0.2667	0.2737	0.2688	0.2412	0.2064	0.1657	0.1676	0.1853	0.7886	1.1389	1.6441	1.8505	1.8633	1.5474	1.4251
s36	40.304	1.45152	0.147	0.2265	0.2687	0.2748	0.2704	0.2424	0.2083	0.1676	0.1701	0.1876	0.7904	1.1392	1.6419	1.8421	1.8605	1.5433	1.4238
s37	48.3648	0.48384	0.151	0.2512	0.3061	0.3168	0.3125	0.2814	0.2414	0.194	0.1957	0.2141	0.8799	1.2806	1.8603	2.0833	2.1018	1.773	1.6389
s38	48.3648	0.48384	0.1504	0.2502	0.3052	0.3154	0.3109	0.2802	0.2403	0.1935	0.195	0.2136	0.8771	1.2771	1.8587	2.0804	2.1063	1.7659	1.6309
s39	48.3648	0.48384	0.1529	0.2537	0.3084	0.3199	0.3146	0.2842	0.2457	0.1979	0.1994	0.2171	0.8848	1.2887	1.8747	2.098	2.1215	1.7865	1.6483
s40	48.3648	0.96768	0.1584	0.2568	0.3088	0.3183	0.3127	0.2808	0.2402	0.1915	0.1938	0.2131	0.9015	1.3052	1.8841	2.0933	2.1132	1.7792	1.6467
s41	48.3648	0.96768	0.1546	0.2522	0.3037	0.3131	0.3073	0.2757	0.2345	0.1856	0.1877	0.2073	0.8964	1.3018	1.8789	2.0948	2.1121	1.7802	1.6429
s42	48.3648	0.96768	0.1543	0.2525	0.3039	0.313	0.3073	0.2755	0.2346	0.1859	0.1879	0.2077	0.897	1.3018	1.8781	2.0917	2.1105	1.7757	1.6416
s43	48.3648	1.45152	0.1644	0.2594	0.3084	0.3161	0.3102	0.2776	0.2359	0.187	0.1892	0.2092	0.9195	1.3283	1.9008	2.1111	2.1301	1.7878	1.6549
s44	48.3648	1.45152	0.1635	0.2594	0.3087	0.3172	0.3113	0.2782	0.2363	0.1873	0.1894	0.21	0.9213	1.3308	1.9009	2.1126	2.1276	1.7908	1.657
s45	48.3648	1.45152	0.1653	0.2608	0.3104	0.3187	0.3126	0.2801	0.238	0.1887	0.1912	0.2114	0.9228	1.3332	1.9036	2.1095	2.1257	1.7879	1.6558

Tabla 68. Resultados de absorbancias para precisión y exactitud del sistema para método para evaluación de perfiles de disolución.

	ABSORBANCIAS																		
	[ASA]	[SAL]	Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)
m1.1	48.2784	0.4818	0.1447	0.2493	0.3065	0.3187	0.3141	0.2837	0.2437	0.1955	0.1979	0.2159	0.8717	1.2737	1.8528	2.0678	2.0899	1.7731	1.6393
m1.2	48.2784	0.4818	0.1476	0.252	0.3102	0.322	0.3175	0.2878	0.2476	0.1997	0.2015	0.2202	0.8761	1.2779	1.8612	2.0868	2.1043	1.7843	1.6482
m1.3	48.2784	0.4818	0.147	0.2517	0.3088	0.3206	0.3168	0.2868	0.2462	0.1978	0.1997	0.2183	0.8746	1.2773	1.8595	2.085	2.0993	1.7808	1.646
m1.4	48.2784	0.4818	0.1474	0.2516	0.3085	0.3211	0.3167	0.2861	0.2464	0.1983	0.1998	0.2184	0.8766	1.2794	1.8667	2.0968	2.1169	1.7849	1.6511
m1.5	48.2784	0.4818	0.1498	0.2536	0.3101	0.3219	0.3177	0.2877	0.2476	0.1988	0.2009	0.2198	0.8759	1.2776	1.8631	2.0922	2.1122	1.7845	1.6505
m1.6	48.2784	0.4818	0.1538	0.2582	0.3156	0.3275	0.3231	0.2929	0.2531	0.2058	0.2075	0.2264	0.8851	1.2863	1.8687	2.0944	2.1134	1.7918	1.6602
m2.1	32.1856	0.9636	0.111	0.1766	0.211	0.2169	0.2129	0.1912	0.164	0.1319	0.1333	0.1474	0.6181	0.8973	1.3156	1.4922	1.5107	1.2414	1.1408
m2.2	32.1856	0.9636	0.1103	0.1757	0.2102	0.2164	0.2126	0.1915	0.164	0.1312	0.1331	0.1466	0.6176	0.897	1.3136	1.4927	1.5083	1.241	1.1411
m2.3	32.1856	0.9636	0.1116	0.1769	0.2128	0.219	0.2156	0.1939	0.1666	0.1341	0.136	0.1494	0.6232	0.9025	1.3195	1.4965	1.5164	1.2472	1.1463
m2.4	32.1856	0.9636	0.1121	0.1774	0.2127	0.2181	0.215	0.1932	0.1655	0.1333	0.1352	0.1493	0.6224	0.9018	1.3193	1.4981	1.5159	1.2496	1.1495
m2.5	32.1856	0.9636	0.1117	0.1769	0.2119	0.2177	0.2141	0.192	0.1651	0.1324	0.1343	0.1475	0.6212	0.9004	1.3197	1.4952	1.5151	1.2465	1.1464
m2.6	32.1856	0.9636	0.1126	0.1777	0.2125	0.2179	0.2151	0.194	0.166	0.1337	0.1353	0.1487	0.6234	0.9035	1.3187	1.4976	1.5156	1.2475	1.1466
m3.1	16.1216	1.4454	0.0705	0.1013	0.1172	0.1193	0.1172	0.1057	0.0917	0.0755	0.0768	0.0845	0.3452	0.4923	0.705	0.7951	0.8031	0.659	0.6077
m3.2	16.1216	1.4454	0.0721	0.1034	0.119	0.1206	0.119	0.1074	0.094	0.079	0.0799	0.0875	0.3481	0.494	0.7066	0.7961	0.8051	0.6608	0.6113
m3.3	16.1216	1.4454	0.0696	0.1002	0.1155	0.1177	0.1157	0.1042	0.09	0.074	0.075	0.0827	0.344	0.4901	0.7029	0.7917	0.8	0.6549	0.6046
m3.4	16.1216	1.4454	0.0684	0.0994	0.1146	0.1165	0.1154	0.1035	0.0899	0.0731	0.0742	0.0823	0.3439	0.4909	0.7046	0.793	0.802	0.6566	0.6053
m3.5	16.1216	1.4454	0.0701	0.1004	0.116	0.1179	0.1155	0.1046	0.091	0.0748	0.0753	0.0839	0.3447	0.4916	0.7032	0.7924	0.8017	0.6553	0.6052
m3.6	16.1216	1.4454	0.0719	0.103	0.1181	0.1205	0.1188	0.1069	0.0934	0.0778	0.0786	0.0866	0.3477	0.4933	0.7068	0.7963	0.8042	0.6592	0.6079



Tabla 69.-Resultados de absorancias para curva de calibración para la linealidad del método para evaluación de perfiles de disolución.

sistemas	Concentración		Absorancias																
	[ASA]	[SAL]	Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)
s1	4.0224	0.48288	0.019	0.0262	0.0298	0.0296	0.0292	0.0256	0.0213	0.0171	0.0178	0.0202	0.0977	0.137	0.1909	0.2099	0.2119	0.1697	0.1565
s2	4.0224	0.48288	0.0188	0.0257	0.0287	0.0286	0.0287	0.0243	0.0208	0.017	0.0173	0.0197	0.0968	0.1365	0.1903	0.2101	0.2114	0.1688	0.1554
s3	4.0224	0.48288	0.0195	0.0263	0.0295	0.0291	0.0286	0.025	0.0208	0.0159	0.0163	0.0187	0.0967	0.137	0.1922	0.2125	0.2141	0.171	0.1573
s4	4.0224	0.96576	0.0272	0.0316	0.0329	0.0318	0.031	0.026	0.0214	0.0168	0.0174	0.0202	0.1179	0.1619	0.2162	0.2309	0.2313	0.1821	0.1694
s5	4.0224	0.96576	0.0282	0.0324	0.0334	0.0317	0.0312	0.026	0.0213	0.017	0.0167	0.0206	0.119	0.1634	0.2175	0.2332	0.2335	0.1827	0.1704
s6	4.0224	0.96576	0.0278	0.0325	0.0335	0.0317	0.0312	0.0261	0.0217	0.0168	0.0181	0.0209	0.1198	0.1638	0.2185	0.2332	0.233	0.1837	0.1704
s7	4.0224	1.44864	0.0371	0.0394	0.0384	0.0359	0.0344	0.0285	0.0235	0.0185	0.0201	0.0237	0.1452	0.1954	0.2506	0.2619	0.2617	0.2062	0.1957
s8	4.0224	1.44864	0.0365	0.0386	0.0382	0.0354	0.0343	0.0288	0.0236	0.0186	0.0197	0.0241	0.145	0.1944	0.2499	0.2617	0.2608	0.2087	0.1981
s9	4.0224	1.44864	0.037	0.0392	0.0384	0.036	0.035	0.0291	0.0239	0.02	0.0208	0.0255	0.146	0.1952	0.25	0.2609	0.2608	0.2062	0.1953
s10	16.0896	0.48288	0.0528	0.085	0.1031	0.1054	0.1042	0.0925	0.0795	0.0631	0.064	0.0709	0.3097	0.4507	0.6642	0.7543	0.764	0.6209	0.5701
s11	16.0896	0.48288	0.055	0.0879	0.1058	0.1084	0.1069	0.0959	0.0821	0.0663	0.0672	0.0748	0.315	0.457	0.6701	0.7624	0.7718	0.6294	0.5776
s12	16.0896	0.48288	0.0551	0.0876	0.1055	0.1082	0.107	0.0957	0.0821	0.0663	0.0668	0.0746	0.3138	0.4556	0.6687	0.7597	0.7691	0.6265	0.5749
s13	16.0896	0.96576	0.0651	0.0953	0.111	0.1132	0.1111	0.0992	0.0845	0.0684	0.07	0.0779	0.3411	0.4881	0.7029	0.7907	0.7984	0.6485	0.5959
s14	16.0896	0.96576	0.0644	0.095	0.1108	0.1127	0.1104	0.0983	0.0844	0.0681	0.0695	0.0774	0.3403	0.4869	0.7	0.786	0.7944	0.6452	0.5935
s15	16.0896	0.96576	0.0636	0.094	0.1098	0.1115	0.1098	0.0984	0.0847	0.0684	0.0694	0.0769	0.3391	0.486	0.7008	0.7879	0.7964	0.6505	0.6004
s16	16.0896	1.44864	0.0714	0.0994	0.1128	0.1133	0.1112	0.0981	0.0833	0.0669	0.0683	0.0767	0.361	0.5117	0.7258	0.8082	0.8159	0.6624	0.6114
s17	16.0896	1.44864	0.0731	0.1017	0.1158	0.1165	0.1139	0.1006	0.0868	0.0705	0.0727	0.0814	0.3683	0.522	0.7377	0.8224	0.8302	0.6739	0.6227
s18	16.0896	1.44864	0.0735	0.1017	0.1147	0.1158	0.1135	0.1007	0.0859	0.0692	0.0715	0.0798	0.3646	0.5165	0.731	0.8147	0.8209	0.6664	0.6167
s19	24.1344	0.48288	0.0794	0.1289	0.1562	0.1604	0.1582	0.142	0.1214	0.0988	0.1	0.11	0.4603	0.6705	0.9888	1.126	1.1403	0.9366	0.862
s20	24.1344	0.48288	0.081	0.1309	0.1582	0.1631	0.1613	0.1446	0.1249	0.1014	0.1032	0.113	0.4642	0.6755	0.9936	1.132	1.1463	0.9468	0.8727
s21	24.1344	0.48288	0.0789	0.1284	0.1556	0.1599	0.157	0.1408	0.1208	0.0981	0.0987	0.1091	0.4583	0.667	0.9845	1.1234	1.137	0.9369	0.8619
s22	24.1344	0.96576	0.0901	0.1381	0.1628	0.1669	0.1639	0.1469	0.1265	0.1026	0.1055	0.116	0.4895	0.7037	1.0218	1.1568	1.1696	0.9612	0.8868
s23	24.1344	0.96576	0.1061	0.1542	0.1806	0.1848	0.1826	0.146	0.1235	0.1262	0.1383	0.1543	0.7296	1.0485	1.1826	1.1948	0.984	0.9089	
s24	24.1344	0.96576	0.0968	0.1443	0.17	0.1736	0.1713	0.1547	0.1343	0.1123	0.1148	0.1277	0.5013	0.7158	1.0326	1.1644	1.177	0.9629	0.8886
s25	24.1344	1.44864	0.0983	0.1437	0.1667	0.1692	0.166	0.1477	0.1264	0.1029	0.1056	0.1175	0.5103	0.7299	1.0463	1.1742	1.1853	0.9656	0.8939
s26	24.1344	1.44864	0.0952	0.1399	0.1626	0.1651	0.162	0.1433	0.1224	0.0983	0.1001	0.1117	0.503	0.7218	1.0364	1.1636	1.1749	0.9546	0.8788
s27	24.1344	1.44864	0.0956	0.1405	0.1631	0.1656	0.1625	0.1438	0.1229	0.0981	0.1001	0.1119	0.5046	0.7232	1.0381	1.1668	1.1775	0.9561	0.8811
s28	32.1792	0.48288	0.1017	0.1673	0.2031	0.2102	0.2066	0.1853	0.1587	0.1265	0.1278	0.1409	0.6004	0.8757	1.2868	1.4617	1.4807	1.2174	1.1174
s29	32.1792	0.48288	0.1017	0.1676	0.203	0.2093	0.2066	0.1849	0.1575	0.126	0.1275	0.1404	0.5995	0.8743	1.2851	1.46	1.4753	1.2139	1.1193
s30	32.1792	0.48288	0.1041	0.1689	0.2059	0.2129	0.2093	0.1871	0.1601	0.1284	0.1299	0.1433	0.6034	0.8787	1.292	1.4654	1.4826	1.2182	1.1202
s31	32.1792	0.96576	0.1206	0.1843	0.2182	0.2234	0.2199	0.1982	0.1709	0.1393	0.141	0.1555	0.6376	0.9178	1.3296	1.4991	1.5161	1.247	1.1493
s32	32.1792	0.96576	0.1184	0.1819	0.2165	0.2223	0.2188	0.1963	0.1692	0.1372	0.1387	0.1535	0.6362	0.9164	1.3272	1.4962	1.514	1.242	1.145
s33	32.1792	0.96576	0.1224	0.1864	0.2209	0.2267	0.2227	0.2008	0.1735	0.1426	0.1449	0.1597	0.6431	0.9233	1.3338	1.5053	1.5192	1.2488	1.1495
s34	32.1792	1.44864	0.1278	0.1895	0.2214	0.2255	0.2217	0.1986	0.1708	0.1394	0.1414	0.1574	0.6604	0.944	1.3544	1.5175	1.5315	1.2595	1.1624
s35	32.1792	1.44864	0.1363	0.1984	0.2304	0.2349	0.2319	0.2086	0.1818	0.1504	0.1533	0.1688	0.6748	0.9593	1.3703	1.5377	1.5497	1.2717	1.1778
s36	32.1792	1.44864	0.1278	0.189	0.2212	0.2253	0.2215	0.1981	0.1709	0.1386	0.1408	0.1563	0.6618	0.9473	1.3569	1.5222	1.5374	1.2601	1.1618
s37	40.224	0.48288	0.132	0.2135	0.2584	0.2662	0.2624	0.2347	0.2023	0.1626	0.1653	0.1813	0.748	1.0842	1.5765	1.7725	1.7916	1.4879	1.3727
s38	40.224	0.48288	0.1311	0.2139	0.2589	0.2671	0.2629	0.236	0.2034	0.1634	0.1658	0.1828	0.753	1.0934	1.5899	1.7849	1.8055	1.4987	1.3828
s39	40.224	0.48288	0.1293	0.2122	0.2569	0.2648	0.2608	0.2344	0.2014	0.1611	0.163	0.1787	0.7485	1.0855	1.5775	1.7752	1.7894	1.49	1.3709
s40	40.224	0.96576	0.1399	0.2193	0.2614	0.2688	0.2637	0.2362	0.2015	0.1607	0.164	0.181	0.7718	1.1147	1.6045	1.7941	1.8138	1.5063	1.3901
s41	40.224	0.96576	0.1388	0.2184	0.2612	0.2674	0.2632	0.2353	0.2017	0.1622	0.1642	0.1814	0.7712	1.1127	1.6056	1.7927	1.8103	1.5048	1.3918
s42	40.224	0.96576	0.1374	0.218	0.2603	0.2668	0.2623	0.2346	0.2011	0.16	0.1625	0.1798	0.7728	1.1157	1.6123	1.8023	1.8196	1.5096	1.3929
s43	40.224	1.44864	0.145	0.2221	0.2619	0.2675	0.2629	0.2337	0.1992	0.1588	0.1616	0.1795	0.7905	1.1363	1.6269	1.8144	1.8358	1.522	1.4056
s44	40.224	1.44864	0.144	0.2209	0.2616	0.267	0.2619	0.234	0.1987	0.1576	0.1605	0.179	0.7906	1.1363	1.6253	1.8107	1.8243	1.5131	1.3984
s45	40.224	1.44864	0.1455	0.2226	0.2629	0.2679	0.2639	0.2347	0.1999	0.1592	0.1618	0.18	0.7922	1.1405	1.6363	1.8306	1.8485	1.5246	1.4092
s46	64.3584	0.48288	0.1989	0.3304	0.4028	0.4155	0.4096	0.3668	0.3138	0.2489	0.2513	0.277	1.1646	1.674	2.2925	2.431	2.4417	2.1801	2.0573
s47	64.3584	0.48288	0.2003	0.3317	0.4033	0.4161	0.411	0.3672	0.3133	0.2495	0.252	0.2771	1.1654	1.6799	2.309	2.4574	2.4679	2.1946	2.0607
	64.3584	0.48288	0.1984	0.3305	0.4019	0.415	0.4088	0.3656	0.3121	0.2486	0.2519	0.2767	1.1653	1.6784	2.3091	2.4634	2.4732	2.1959	2.0647
	64.3584	0.96576	0.2097	0.3391	0.4085	0.419	0.4126	0.3689	0.3144	0.25	0.2532	0.2794	1.1862	1.6915	2.2469	2.3538	2.3509	2.117	2.0038



s45	40.224	1.44864	0.1455	0.2226	0.2629	0.2679	0.2639	0.2347	0.1999	0.1592	0.1618	0.18	0.7922	1.1405	1.6363	1.8306	1.8485	1.5246	1.4092
s46	64.3584	0.48288	0.1989	0.3304	0.4028	0.4155	0.4096	0.3668	0.3138	0.2489	0.2513	0.277	1.1646	1.674	2.2925	2.431	2.4417	2.1801	2.0573
s47	64.3584	0.48288	0.2003	0.3317	0.4033	0.4161	0.411	0.3672	0.3133	0.2495	0.252	0.2771	1.1654	1.6799	2.309	2.4574	2.4679	2.1946	2.0607
s48	64.3584	0.48288	0.1984	0.3305	0.4019	0.415	0.4088	0.3656	0.3121	0.2486	0.2519	0.2767	1.1653	1.6784	2.3091	2.4634	2.4732	2.1959	2.0647
s49	64.3584	0.96576	0.2097	0.3391	0.4085	0.419	0.4126	0.3689	0.3144	0.25	0.2532	0.2794	1.1862	1.6915	2.2469	2.3538	2.3509	2.117	2.0038
s50	64.3584	0.96576	0.2124	0.3417	0.4105	0.4227	0.4152	0.3713	0.3174	0.2535	0.2569	0.2843	1.1882	1.6861	2.2193	2.3371	2.3325	2.1031	1.9937
s51	64.3584	0.96576	0.2094	0.3386	0.4082	0.4193	0.4127	0.37	0.3152	0.2511	0.2545	0.2808	1.1862	1.6894	2.2284	2.3353	2.34	2.1046	1.9985
s52	64.3584	1.44864	0.2189	0.3451	0.4132	0.4237	0.4167	0.372	0.3172	0.2534	0.2573	0.2846	1.2095	1.7135	2.248	2.3467	2.3454	2.1223	2.0561
s53	64.3584	1.44864	0.2221	0.3498	0.4166	0.4272	0.4192	0.3743	0.3194	0.2553	0.2597	0.2872	1.2136	1.7162	2.2504	2.3552	2.3587	2.1206	2.0138
s54	64.3584	1.44864	0.2202	0.3467	0.4137	0.4251	0.4174	0.3736	0.3189	0.2548	0.2585	0.2855	1.209	1.7124	2.2538	2.3555	2.3568	2.1248	2.0155

Tabla 70.-Resultados para linealidad del método para perfiles de disolución del producto de prueba.

sistemas	absorbacias ---linealidad del metodo																		
l1	4.0512	1	0.0209	0.0315	0.038	0.0394	0.0399	0.0372	0.0346	0.0317	0.0326	0.0353	0.0994	0.1387	0.1997	0.2283	0.2316	0.1984	0.1854
l2	3.888	1	0.0186	0.0287	0.0346	0.0365	0.0361	0.0341	0.0314	0.029	0.0297	0.0319	0.091	0.1264	0.1827	0.2086	0.2118	0.1817	0.1695
l3	3.8528	1	0.0172	0.0276	0.0333	0.0344	0.0351	0.0332	0.0312	0.0286	0.0291	0.0318	0.0908	0.1264	0.1829	0.2082	0.2113	0.1813	0.169
l4	16.144	1	0.0562	0.0934	0.1146	0.1193	0.1186	0.1087	0.0962	0.0816	0.083	0.0901	0.3128	0.4518	0.6708	0.7698	0.7814	0.6496	0.5982
l5	16.2	1	0.0486	0.0839	0.1046	0.1089	0.108	0.098	0.0845	0.0687	0.0702	0.0763	0.2992	0.4396	0.6569	0.756	0.7673	0.6338	0.5831
l6	16.232	1	0.0463	0.0832	0.1037	0.108	0.1073	0.097	0.0844	0.0689	0.07	0.0764	0.2982	0.4381	0.655	0.753	0.7643	0.6305	0.5789
l7	32.408	1	0.0901	0.161	0.2012	0.2102	0.2082	0.1875	0.1618	0.1308	0.1323	0.1446	0.5731	0.845	1.2677	1.4597	1.4808	1.224	1.1224
l8	32.264	1	0.0929	0.1635	0.204	0.2124	0.2099	0.1898	0.1637	0.1324	0.1339	0.1466	0.5773	0.8507	1.2776	1.4737	1.4957	1.2328	1.1302
l9	32.36	1	0.0901	0.1612	0.2016	0.2104	0.2085	0.1882	0.1621	0.1309	0.1319	0.144	0.5734	0.8466	1.273	1.4665	1.488	1.2273	1.1263
l10	40.272	1	0.1133	0.2018	0.2525	0.2626	0.2605	0.2345	0.2025	0.163	0.1646	0.1793	0.7141	1.0512	1.5759	1.8108	1.8348	1.5247	1.401
l11	40.304	1	0.1142	0.2028	0.2529	0.2643	0.261	0.236	0.2041	0.1643	0.1657	0.1817	0.7144	1.0511	1.5703	1.7976	1.8221	1.5196	1.3942
l12	40.304	1	0.1125	0.2014	0.2514	0.2626	0.2591	0.2342	0.2017	0.1621	0.1632	0.1787	0.7145	1.0506	1.5537	1.7615	1.7837	1.4932	1.3763
l13	64.44	1	0.1964	0.3279	0.4003	0.413	0.4071	0.3643	0.3113	0.2464	0.2488	0.2745	1.1621	1.6715	2.29	2.4285	2.4392	2.1776	2.0548
l14	64.376	1	0.1968	0.3282	0.3998	0.4126	0.4075	0.3637	0.3098	0.246	0.2485	0.2736	1.1619	1.6764	2.3055	2.4539	2.4644	2.1911	2.0572
l15	64.336	1	0.1943	0.3264	0.3978	0.4109	0.4047	0.3615	0.308	0.2445	0.2478	0.2726	1.1612	1.6743	2.305	2.4593	2.4691	2.1918	2.0606

Tabla 71.- Resultados de absorbancias para precisión y exactitud del método para perfiles de disolución para el producto de prueba.

sistemas	[ASA]		[SAL]		Absorbancias														
p1	24.248	0	0.0647	0.1184	0.1486	0.1553	0.1541	0.1398	0.1193	0.0966	0.0974	0.1064	0.4279	0.6308	0.9403	1.0764	1.0907	0.9179	0.8459
p2	24.304	0	0.065	0.1189	0.1498	0.1562	0.1548	0.1397	0.1194	0.0964	0.0977	0.1068	0.4306	0.6343	0.9456	1.0843	1.0976	0.9076	0.8352
p3	24.216	0	0.0677	0.121	0.1512	0.1576	0.1556	0.1402	0.1212	0.0978	0.0989	0.1085	0.432	0.6356	0.951	1.0933	1.1096	0.9174	0.842
p4	24.104	0	0.0676	0.1211	0.1516	0.1582	0.1565	0.1408	0.1215	0.0987	0.0997	0.1089	0.4339	0.6391	0.9596	1.102	1.12	0.9227	0.8465
p5	24.048	0	0.0658	0.1188	0.1494	0.1551	0.1546	0.1394	0.1209	0.0971	0.0989	0.108	0.4315	0.6369	0.9541	1.0952	1.1106	0.9172	0.8409
p6	24.112	0	0.0681	0.1216	0.1527	0.1591	0.1572	0.1413	0.1225	0.0982	0.0995	0.1091	0.4331	0.6393	0.9591	1.1009	1.1178	0.924	0.8476
p7	32.376	0	0.0899	0.1604	0.2012	0.2099	0.2074	0.1865	0.1604	0.1291	0.1305	0.1422	0.5726	0.8448	1.2701	1.4622	1.4826	1.2266	1.1229
p8	32.072	0	0.0903	0.1613	0.2015	0.2102	0.2082	0.1881	0.1616	0.13	0.1317	0.1436	0.5742	0.8472	1.2725	1.4662	1.4867	1.2258	1.1256
p9	32.264	0	0.0901	0.1612	0.2016	0.2104	0.2085	0.1882	0.1621	0.1309	0.1319	0.144	0.5734	0.8466	1.273	1.4665	1.488	1.2273	1.1263
p10	32.168	0	0.0928	0.1637	0.2051	0.2139	0.2116	0.1914	0.1658	0.1346	0.136	0.1476	0.5804	0.8519	1.2832	1.4798	1.5026	1.2408	1.1379
p11	32.36	0	0.0911	0.1624	0.203	0.2117	0.2088	0.1884	0.1625	0.1314	0.1325	0.1451	0.5755	0.8478	1.2762	1.4714	1.4942	1.2326	1.1285
p12	32.048	0	0.0929	0.1635	0.204	0.2124	0.2099	0.1898	0.1637	0.1324	0.1339	0.1466	0.5773	0.8507	1.2776	1.4737	1.4957	1.2328	1.1302
p13	40.272	0	0.1133	0.2018	0.2525	0.2626	0.2605	0.2345	0.2025	0.163	0.1646	0.1793	0.7141	1.0512	1.5759	1.8108	1.8348	1.5247	1.401
p14	40.36	0	0.1137	0.2032	0.2531	0.2638	0.261	0.2357	0.2033	0.1638	0.1653	0.1807	0.7152	1.0526	1.5778	1.8136	1.84	1.5254	1.3998
p15	40.088	0	0.1127	0.2019	0.2513	0.2631	0.2598	0.2348	0.2016	0.1626	0.1633	0.1788	0.7118	1.0491	1.575	1.8088	1.836	1.526	1.3995
p16	40.304	0	0.113	0.2021	0.2524	0.2631	0.2603	0.2348	0.2023	0.1631	0.164	0.1784	0.7141	1.0518	1.5753	1.8107	1.8365	1.5251	1.3976
p17	40.016	0	0.1103	0.1999	0.2499	0.2603	0.2578	0.2318	0.1991	0.1591	0.1607	0.1751	0.7102	1.0485	1.5727	1.8036	1.8281	1.5237	1.4018
p18	40.128	0	0.1129	0.2021	0.2524	0.2638	0.2608	0.2358	0.2031	0.1637	0.1655	0.1807	0.7164	1.0537	1.5757	1.8042	1.8269	1.5319	1.4161

Tabla 72. Resultados de curva de calibración para validar el sistema para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

SISTEMA	Asorbancias																		
	[ASA]	[SAL]	Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)
S1	16.058	0.9778	0.0573	0.0899	0.1079	0.1106	0.1088	0.0976	0.0834	0.0677	0.0688	0.0763	0.3265	0.4714	0.6891	0.784	0.7931	0.6438	0.5908
S2	16.058	0.4889	0.066	0.0969	0.1126	0.1144	0.1118	0.0997	0.0849	0.0688	0.0704	0.0789	0.353	0.5032	0.721	0.8102	0.8176	0.659	0.6064
S3	16.058	1.4666	0.0759	0.1045	0.1179	0.1189	0.1159	0.1029	0.0878	0.0716	0.0735	0.0833	0.3796	0.5341	0.7513	0.8353	0.8414	0.6759	0.6243
S4	24.086	0.4889	0.0811	0.1319	0.1596	0.1644	0.1618	0.1454	0.1247	0.1016	0.1033	0.1142	0.4783	0.6925	1.0174	1.1604	1.1747	0.9578	0.88
S5	24.086	0.9778	0.0911	0.1397	0.1653	0.169	0.1658	0.1486	0.1273	0.1042	0.1062	0.1182	0.5046	0.7237	1.0483	1.1867	1.1994	0.9719	0.8935
S6	24.086	1.4666	0.0989	0.145	0.1681	0.1706	0.1669	0.1485	0.1266	0.103	0.1054	0.1183	0.5268	0.7507	1.0759	1.2105	1.2219	0.9887	0.9117
S7	32.115	0.4889	0.1049	0.1732	0.2104	0.2171	0.2134	0.1919	0.1644	0.1333	0.1351	0.1492	0.623	0.9043	1.333	1.5243	1.5438	1.2613	1.1582
S8	32.115	0.9778	0.1138	0.18	0.2147	0.2201	0.216	0.1936	0.1653	0.1341	0.1363	0.1516	0.6491	0.9356	1.3656	1.5531	1.5712	1.2799	1.1761
S9	32.115	1.4666	0.125	0.1891	0.2222	0.2268	0.2222	0.1988	0.1701	0.1382	0.141	0.1572	0.6784	0.9705	1.4021	1.5871	1.6047	1.3084	1.2057
S10	40.144	0.4889	0.1294	0.2154	0.2623	0.271	0.2665	0.2396	0.2052	0.1656	0.168	0.1853	0.7702	1.1177	1.6458	1.883	1.9076	1.5666	1.4383
S11	40.144	0.9778	0.1403	0.2241	0.2687	0.2761	0.2709	0.2429	0.2076	0.1675	0.1702	0.1885	0.7971	1.1503	1.6789	1.9122	1.9353	1.5835	1.4539
S12	40.144	1.4666	0.1459	0.2264	0.2684	0.2743	0.2688	0.2402	0.2049	0.1653	0.1684	0.1878	0.8158	1.1715	1.6982	1.927	1.9495	1.5944	1.4668
S13	49.104	0.4889	0.1545	0.2493	0.2996	0.3074	0.3012	0.2688	0.2284	0.1833	0.1871	0.2086	0.908	1.3088	1.9002	2.1574	2.1836	1.796	1.6529
S14	49.104	0.9778	0.1656	0.2587	0.3074	0.3142	0.3076	0.2741	0.2329	0.1872	0.1915	0.214	0.9394	1.3464	1.9399	2.194	2.2196	1.8254	1.683
S15	49.104	1.4666	0.1734	0.2641	0.3103	0.3159	0.3088	0.2744	0.2325	0.1867	0.1911	0.2146	0.9618	1.3728	1.9646	2.2146	2.2394	1.8406	1.6989

Tabla 73. Resultados de la linealidad del método para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

SISTEMA	[ASA]	Asorbancias																	
		Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)	
m1	24.1971	0.1018	0.1732	0.2121	0.2186	0.2146	0.1919	0.1633	0.1309	0.1331	0.1477	0.632	0.9213	1.3612	1.5561	1.5755	1.2767	1.168	35.1723
m2	24.0257	0.1022	0.1736	0.2124	0.2188	0.2147	0.192	0.1631	0.1308	0.1332	0.1477	0.632	0.9211	1.3611	1.5557	1.5752	1.2768	1.1687	35.4895
m3	23.9571	0.1045	0.1771	0.217	0.2239	0.2201	0.1975	0.1689	0.1367	0.1392	0.1539	0.6394	0.9306	1.375	1.5729	1.5932	1.2956	1.1875	35.9004
m4	22.2828	0.1168	0.197	0.2408	0.2484	0.244	0.2186	0.1867	0.1507	0.1534	0.17	0.7149	1.0389	1.5303	1.7495	1.7716	1.442	1.3214	39.8504
m5	22.0239	0.116	0.196	0.2394	0.2473	0.243	0.2176	0.1853	0.149	0.1516	0.1679	0.7127	1.0366	1.5284	1.7464	1.7684	1.4382	1.3177	38.8336
m6	22.0868	0.109	0.1873	0.2302	0.238	0.2339	0.2097	0.1791	0.144	0.1464	0.1617	0.6736	0.983	1.4575	1.6705	1.6927	1.3766	1.2599	37.9788
m7	20.0761	0.096	0.1625	0.199	0.2052	0.2015	0.181	0.1547	0.1249	0.1267	0.1403	0.5903	0.8597	1.2707	1.4536	1.4714	1.1942	1.0942	32.0064
m8	20.0260	0.096	0.1645	0.2016	0.2083	0.2046	0.1835	0.1565	0.1261	0.1283	0.1417	0.5966	0.8706	1.2892	1.4758	1.4938	1.2109	1.1085	32.5815
m9	20.1118	0.0969	0.1637	0.2006	0.2074	0.204	0.184	0.1585	0.1294	0.1318	0.1451	0.5863	0.852	1.2595	1.4422	1.4606	1.1905	1.092	32.1867
m10	18.0875	0.0758	0.1296	0.1589	0.1639	0.161	0.1441	0.123	0.0988	0.1006	0.1112	0.4699	0.6863	1.0168	1.1635	1.1779	0.951	0.8696	25.9645
m11	18.2490	0.0737	0.1258	0.1545	0.1591	0.1561	0.1397	0.1193	0.0959	0.0976	0.1079	0.4555	0.6647	0.985	1.127	1.141	0.9205	0.8412	25.5158
m12	18.3136	0.0737	0.1257	0.154	0.1589	0.1559	0.1397	0.1193	0.0961	0.098	0.1084	0.456	0.6656	0.9856	1.1278	1.1415	0.921	0.8418	25.6754



Tabla 74. Resultados para precisión u exactitud del sistema para contenido de ácido acetilsalicílico en tabletas.

SISTEMA	[ASA]	Asorbancias																	
		Abs(289)	Abs(284)	Abs(279)	Abs(275.6)	Abs(274)	Abs(270)	Abs(266)	Abs(259)	Abs(256.6)	Abs(254)	Abs(242)	Abs(239)	Abs(234)	Abs(230)	Abs(229)	Abs(220)	Abs(218)	
M1	24.1971429	0.1168	0.197	0.2408	0.2484	0.244	0.2186	0.1867	0.1507	0.1534	0.17	0.7149	1.0389	1.5303	1.7495	1.7716	1.442	1.3214	39.8504079
M2	24.2709804	0.116	0.196	0.2394	0.2473	0.243	0.2176	0.1853	0.149	0.1516	0.1679	0.7127	1.0366	1.5284	1.7464	1.7684	1.4382	1.3177	38.8335686
M3	23.7367548	0.1146	0.1958	0.2404	0.2482	0.2437	0.219	0.1872	0.1512	0.1536	0.1692	0.6983	1.0173	1.5061	1.7254	1.748	1.4243	1.3046	38.9048361
M4	24.6283615	0.1141	0.1954	0.2399	0.2478	0.2433	0.2182	0.1862	0.1499	0.1524	0.1684	0.7041	1.0265	1.5199	1.7409	1.7634	1.435	1.3141	39.5726915
M5	24.3155225	0.1134	0.1942	0.2381	0.2459	0.2417	0.2165	0.1849	0.1491	0.1518	0.1678	0.7015	1.0229	1.514	1.7334	1.7558	1.4284	1.308	39.4053784
M6	24.7253685	0.109	0.1873	0.2302	0.238	0.2339	0.2097	0.1791	0.144	0.1464	0.1617	0.6736	0.983	1.4575	1.6705	1.6927	1.3766	1.2599	37.9788077
M7	20.5332186	0.0956	0.1624	0.1988	0.2052	0.2016	0.1806	0.1542	0.1244	0.1264	0.1398	0.589	0.8586	1.2697	1.4531	1.4711	1.1934	1.0931	32.0407448
M8	20.116709	0.096	0.1625	0.199	0.2052	0.2015	0.181	0.1547	0.1249	0.1267	0.1403	0.5903	0.8597	1.2707	1.4536	1.4714	1.1942	1.0942	32.0064252
M9	20.3634553	0.096	0.1645	0.2016	0.2083	0.2046	0.1835	0.1565	0.1261	0.1283	0.1417	0.5966	0.8706	1.2892	1.4758	1.4938	1.2109	1.1085	32.5815286
M10	20.0254655	0.0949	0.163	0.2003	0.207	0.2031	0.1819	0.1554	0.1254	0.1275	0.1409	0.5917	0.8628	1.2774	1.4624	1.4805	1.2007	1.0997	32.8531498
M11	20.0040158	0.0969	0.1637	0.2006	0.2074	0.204	0.184	0.1585	0.1294	0.1318	0.1451	0.5863	0.852	1.2595	1.4422	1.4606	1.1905	1.092	32.1867344
M12	20.0764558	0.0935	0.1602	0.1967	0.2032	0.2	0.1798	0.1538	0.1248	0.1267	0.14	0.5805	0.8463	1.2532	1.4357	1.4541	1.183	1.0844	32.1223292
M13	16.2278	0.0758	0.1296	0.1589	0.1639	0.161	0.1441	0.123	0.0988	0.1006	0.1112	0.4699	0.6863	1.0168	1.1635	1.1779	0.951	0.8696	25.9644665
M14	15.9474	0.0737	0.1258	0.1545	0.1591	0.1561	0.1397	0.1193	0.0959	0.0976	0.1079	0.4555	0.6647	0.985	1.127	1.141	0.9205	0.8412	25.5158234
M15	16.0471	0.0737	0.1257	0.154	0.1589	0.1559	0.1397	0.1193	0.0961	0.098	0.1084	0.456	0.6656	0.9856	1.1278	1.1415	0.921	0.8418	25.6753862
M16	16.0015331	0.0771	0.1308	0.1599	0.165	0.1619	0.1446	0.1233	0.0991	0.1005	0.1111	0.4692	0.6848	1.0151	1.1615	1.1758	0.9492	0.8678	25.6024529
M17	16.2759154	0.0752	0.1281	0.1568	0.1617	0.1588	0.142	0.1212	0.0973	0.099	0.1097	0.4637	0.6768	1.0027	1.1475	1.1616	0.9375	0.8573	26.0414646
M18	16.3587205	0.0742	0.127	0.1558	0.1606	0.1575	0.141	0.1202	0.0964	0.0981	0.1088	0.463	0.6759	1.0019	1.1464	1.1602	0.9354	0.8552	26.1739527

