

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS METODOS ANALITICOS PARA DETERMINACION DE PINDOLOL EN TABLETAS

T E S I S

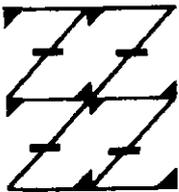
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N :

MA. ANTONIETA LIMA MALDONADO

MA. ARACELI VAZQUEZ MAYORGA

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO ES
DE NUESTRA REFLEXIÓN

MEXICO, D. F.

1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

271054



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.

DEDICATORIA

Dedico ésta tesis a la memoria de mi mamá la señora Olga Mayorga quien con su amor y comprensión me ayudó a iniciar mi carrera profesional.

A mi papá el señor José Jesús Vázquez quién con su apoyo y cariño me facilitó el camino de mi superación.

Y a mis hermanos:

José de Jesús y Eduardo Enrique

Quienes siempre confiaron en mi y me dieron aliento para seguir adelante.

Con todo mi amor dedico éste trabajo a mi esposo Javier quien siempre me apoyó y me impulsó para no decaer y seguir luchando hasta obtener mi título profesional

Y muy en especial a mi hijito Javier Iván, quien fue mi compañía en todos mis trámites académicos y el motor para nunca desistir

Y con todo cariño y admiración por su gran ayuda y colaboración a mi gran amiga Tony

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico muy en especial al amor de mis amores. A ti Javier quien con tu amor y comprensión me ayudaste en los momentos más difíciles a seguir adelante, a no darme por vencida hasta lograr lo que uno quiere.

También se la dedico a aquellas personas que quiero tanto mi hija: Talia, mis padres: Rosa y Jaime, mis hermanos: Yazmin, Irma y Jaime, quienes han estado conmigo apoyándome para alcanzar mis metas.

A ti Ara, amiga mía que te has encontrado a mi lado ayudando a poder alcanzar esta meta deseada, te doy especialmente las gracias por todo

Esta tesis también está dedicada al Ingeniero José Luis Alavez Manzano, a quien le damos nuestro eterno agradecimiento por toda su ayuda recibida ya que sin ésta, no habría sido posible terminar esta impresión.

JURADO

Presidente : M. en C. Gloria Velásquez Vaquero
Vocal M. en C. Patricia Parra Cervantes
Secretario: Q.F.B. Rebeca López Martínez
Suplente: Q.F.B. Jorge Carlin Hernández
Suplente: Q.F.B. Cirenía Sandoval López

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| Introducción | 3 |
| I. Fundamentación del tema | 4 |
| A. Validación de métodos analíticos | 4 |
| B. Objetivos de la validación | 5 |
| C. Factores que influyen en la validación | 5 |
| D. Tipos de validaciones | 6 |
| E. Fuentes de error en la validación | 7 |
| F. Parámetros de la validación | 9 |
| 1. Linealidad | 9 |
| 2. Exactitud | 9 |
| 3. Repetibilidad | 9 |
| 4. Reproducibilidad | 10 |
| 5. Especificidad | 10 |
| 6. Sensibilidad | 11 |
| II. Fundamento de la espectrofotometría al ultravioleta (U.V.) | 12 |
| III. Fundamento de cromatografía de líquidos de alta resolución (C.L.A.R.) | 13 |
| IV. Propiedades del Pindolol | 16 |
| V. Planteamiento del problema | 19 |
| VI. Objetivos | 20 |
| VII. Hipótesis | 21 |
| VIII. Material | 22 |
| IX. Procedimiento | 24 |
| A. Validación del método | 24 |
| B. Validación del sistema | 25 |
| X. Resultados | 27 |
| A. Validación del sistema espectrofotométrico | 27 |
| B. Validación del sistema cromatográfico | 30 |
| C. Validación del método espectrofotométrico | 33 |
| D. Validación del método cromatográfico | 42 |
| E. Comparación de métodos | 49 |
| XI. Gráficas | 50 |
| XII. Análisis de resultados | 64 |

INTRODUCCIÓN

Cuando se desarrollan nuevos métodos analíticos, es necesario realizar una evaluación para comprobar que el método es adecuado para el fármaco en estudio, por lo cual es necesario llevar a cabo una validación. Así mismo, se hace necesario contar con otro método de análisis el cual nos permita tener otra alternativa para la cuantificación del Pindolol, el cual es un beta - bloqueador, que protege al corazón contra la estimulación excesiva por las catecolaminas durante el estrés físico y psíquico, así como también en reposo.

Con éste fin se compararon dos métodos analíticos. Espectrofotometría al ultravioleta U.V. y cromatografía de líquidos de alta resolución C.L.A.R. , encontrándose que ambos métodos son precisos, exactos, lineales, reproducibles y específicos; Además de ser equiparables en cuanto a precisión, exactitud y linealidad, por lo tanto estos métodos pueden ser utilizados indistintamente.

I. FUNDAMENTACION DEL TEMA

A. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Cuando se desarrollan nuevos métodos analíticos, es necesario realizar una evaluación para comprobar que el método es adecuado para el fármaco en estudio, para lo cual se requiere llevar a cabo una validación.

La validación de métodos analíticos es una respuesta reciente a las necesidades de la industria farmacéutica considerada de gran importancia, pues ayuda a completar los requerimientos de la empresa reforzando las tareas de control de calidad en sus aspectos físicos, fisicoquímicos y microbiológicos. Así mismo, refuerza el apoyo brindado por control de calidad hacia los departamentos de producción y desarrollo. La validación de métodos analíticos involucra varios aspectos, estos son:

1. Aseguramiento de la calidad.

- a. Con la validación de métodos analíticos se obtendrá una mejor eficiencia y seguridad, minimizando riesgos que puedan ocasionar resultados erróneos.
- b. Cumple los requerimientos establecidos.
- c. Asegura la uniformidad, reproducibilidad y calidad del producto
- d. Garantiza la integridad del producto.

2. Legales

Las empresas farmacéuticas al contar con métodos analíticos validados, aseguran la obtención de productos de buena calidad y sin variabilidad entre lote y lote, evitando así pérdidas de producto y problemas de reproceso, los cuales implican grandes pérdidas económicas, de tiempo y de productividad:

Existe un gran número de definiciones para el término validación.

" La validación de un método analítico es un proceso por el cual queda establecido por estudio de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas ". (15)

" Es el proceso para determinar que tan adecuada es una metodología para proporcionar resultados analíticos dentro de un margen establecido (15)

" Confianza que tiene una compañía en sus trabajos de procesos que se están haciendo o que se harán en ésta ". (15)

" La validación de un método analítico consiste en determinar la exactitud y establecer la variabilidad ". (15)

B. OBJETIVOS DE LA VALIDACIÓN

1. Producir los resultados confiables analíticos posibles.
2. Verificar que una metodología particular esté basada en principios técnicos seguros y que han sido optimizados para propósitos prácticos de medición.
3. Asegurar que el método, instrumentos, disolventes, reactivos, material utilizado para el compuesto a analizar y verificar si son adecuados. (15, 19)

C. FACTORES A TOMAR EN CUENTA PARA EL DISEÑO DE LA VALIDACIÓN

1. TÉCNICOS

- a. Personal: Asegurarse de que se cuenta con el personal capacitado, tanto para la realización de las técnicas, manejo del equipo, instrumental, etc., como para el análisis estadístico de los resultados. (3)
- b. Equipo: Que se disponga del equipo necesario y que éste se encuentre en óptimas condiciones de trabajo.
- c. Reactivos: El laboratorio debe de estar dotado de todos los reactivos necesarios para el análisis que se vaya a realizar. Dichos reactivos deben contar con la calidad requerida así como tenerse en la cantidad suficiente.

2. ECONÓMICO

Ya que con la validación se obtiene una disminución de costos en todos los aspectos es importante tomar en cuenta.

- a. tiempo de análisis: Es importante para la economía de la empresa al considerar el tiempo en que se realizará el proyecto.
- b. Costo total del producto: Observar el costo de las muestras del producto que se vayan a utilizar en relación con el costo total del producto.
- c. Costo total del proyecto: Tomar en cuenta todos los reactivos que se vayan a utilizar, el personal requerido, equipo e instrumentos.

De la misma manera es importante establecer prioridades de los métodos a validar, tomando en cuenta las necesidades de la empresa. (3)

D. TIPOS DE VALIDACIONES.

El tipo de validación se elige en función de los objetivos que se pretenden alcanzar, de los recursos que se dispone y el tipo de problema que se quiera abordar.

1. De acuerdo a los métodos analíticos que se quieran validar.

Categoría I. Métodos analíticos para cuantificar componentes principales de sustancias a granel o principios activos (incluyendo conservadores) en productos farmacéuticos terminados.

Categoría II. Métodos analíticos para determinar impurezas en sustancias a granel o compuestos de degradación en productos farmacéuticos terminados.

Categoría III. Métodos analíticos para determinar características físicas (por ejemplo, disolución, liberación de principio activo, etc.) (3)

2. De acuerdo al período de captación de la información

a. Retrospectivo

1. retrospectivo normal: Estudio cuya información se obtuvo anteriormente a su planeación con fines ajenos a la validación que se pretende realizar.

2. Retrospectivo parcial: Estudio que cuenta con una parte de información y el resto está por obtenerse. (3)

b. Prospectivo

1. Prospectivo normal: Estudio en el que toda información se recogerá de acuerdo a los criterios del investigador y para los fines específicos de la investigación después de la planeación de éste.

2. Concurrente: Es un tipo de validación prospectiva que se aplica exclusivamente en productos y métodos que se realizan esporádicamente

c.Revalidación: Es la repetición parcial o total de un programa de validación, cuyo arreglo corresponde al grado de las alteraciones introducidas en el procedimiento

ya validado. El procedimiento es el mismo que para una validación prospectiva, pero los controles se realizan en las áreas donde se hayan efectuado los cambios.

E. FUENTES DE ERROR EN LA VALIDACIÓN

Cualquier proceso de medición está sujeto a error. El error de un método analítico debe evaluarse y controlarse para determinar la exactitud y establecerse precisión. El error de un método está formado por el error sistemático (determinado) y el aleatorio (indeterminado)

1. Errores determinados

Los errores de este pueden clasificarse como sigue:

a. Errores instrumentales: Estos se presentan cuando se tiene lo siguiente:

- I. equipo defectuoso
- II. balanzas sin calibrar
- III. impurezas en los reactivos

La cantidad de reactivo empleado y por lo tanto la cantidad de impurezas añadidas pueden ser proporcional al tamaño de la muestra que se toma para el análisis.

b. Error del método: Estos son los errores más graves de un análisis. La mayoría de los errores anteriores pueden corregirse o reducirse al mínimo, pero los errores inherentes al método no pueden cambiarse a menos que se modifiquen las condiciones de la determinación.

Algunas fuentes de error metódicos son: La coprecipitación de impurezas, la ligera solubilidad del precipitado, las reacciones secundarias, las reacciones incompletas (3)

c. Errores de operación: Estos incluyen los errores personales y pueden reducirse por la experiencia y cuidados del analista en las manipulaciones físicas que efectúe.

Las operaciones en las que se presentan dichos errores incluyen: la transferencia de soluciones, efervescencia y proyección durante la distribución, muestras que no están bien secas etc.

Existe otra forma de clasificar el error sistemático:

d. Error sistemático (constante): Se refiere al error sistemático independiente de la concentración real de la sustancia a ser determinada y está expresada en unidades de concentración.

Las fuentes principales de errores constantes son:

I. Interferencias: Esta fuente de error es debida a la presencia de un componente, el cual, por sí mismo no produce una lectura pero que inhibe o realiza la medición (ésta interferencia también causa una insuficiente selectividad)

II. Correcciones inadecuadas en el blanco. (3, 15)

e. Error proporcional (relativo): Es un error sistemático que depende de la concentración del análisis y está expresada en unidades relativas, tales como porcentaje. Los errores proporcionales son causados por errores de la calibración y más particularmente por lo siguiente:

I. La suposición incorrecta de linealidad por encima del rango de análisis.

II. Diferentes pendientes en la línea de calibración para la muestra estándar.

Los errores sistemáticos pueden ser estudiados por una variedad de métodos, algunos de éstos (adición al estándar, o recobro experimental, medición de linealidad) detectan solo errores proporcionales, en tanto que otros métodos no pueden ser usados cuando un error proporcional está presente. Otra fuente de error la cual no puede ser clasificada fácilmente en alguna de éstas categorías es por ejemplo el análisis continuo automático, concerniente a la contaminación de la muestra se llama error de reserva, el cual ocurre cuando muestras sucesivas toman una ruta común en un sistema automatizado a causa de su dependencia de los parámetros del método, puede ser considerado como un error sistemático, de otra manera ninguna constante no relativa depende también de la concentración de la muestra previa. En el análisis de una serie larga en una secuencia al azar, éste error puede ser considerado parte del error al azar. (3, 15)

2. Error indeterminado (al azar) da lugar a medidas imprecisas y es evaluado por lo tanto por medio de la precisión (o imprecisión), en tanto los errores sistematicos causan resultados inexactos (incorrectos) y están referidos en términos de exactitud. Usualmente la precisión se estudia primero, valores sistemáticos pueden determinarse solo cuando los errores al azar o indeterminados son suficientemente pequeños.

Los errores que no son posibles de controlar, son evaluados mediante la validación y se mantienen constantes aquellos cuyo control si se pueda manejar, pero que influyen grandemente en la obtención de resultados. (3)

F. PARÁMETROS DE LA VALIDACIÓN

Los métodos de validación empiezan más bien como una necesidad; éstos métodos deben ser los más convenientes y deben ser validados mediante los siguientes parámetros: (19,20,25)

1. LINEALIDAD

Indica el grado en que la respuesta del método se aproxima a una función lineal del tipo $Y = bX + a$ (donde $b = 1$ y $a = 0$) Al trabajar a diferentes concentraciones, se manejan de tres a cinco niveles, de tres a cinco concentraciones diferentes; tres niveles de 80, 90, 100, 110, y 120 por ciento con respecto a la concentración central. Se hace uso del estadígrafo de contraste t de student.

2. EXACTITUD

Es la concordancia que existe entre un valor determinado experimentalmente y su valor real, se utilizan de seis a diez muestras de una misma concentración, o bien, de quince a veinte muestras de tres a cinco niveles.

contraste de hipótesis:

$$H_0 = \mu = 100\%$$

$$H_1 = \mu \neq 100\%$$

Utiliza el estadígrafo de contraste t de student con $\alpha = 0.05$

3. REPETIBILIDAD:

Es la concordancia con respecto al valor central entre resultados sucesivos obtenidos en un método bajo condiciones iguales de trabajo. Se manejan de seis a diez muestras a la misma concentración. Utiliza el estadígrafo de contraste χ^2_1 llamada ji cuadrada.

contraste de hipótesis:

contraste de hipótesis:

$$H_0 = \sigma \leq 2\%$$

$$H_1 = \sigma > 2\%$$

4. REPRODUCIBILIDAD

Es la concordancia con respecto a un valor real de un método pero bajo diferentes condiciones (analista, tiempo, aparatos, laboratorio, día).

Para evaluar éste parámetro se aplica un estadígrafo de prueba F con dos varianzas, donde su modelo estadístico lineal del diseño experimental es:

$$Y_{jk} = D + D_i + D_j + D_{ij} + E_{jk}$$

Se hace uso de la tabla de Análisis de varianza (ANADEVA)

5. ESPECIFICIDAD

En éste tipo de prueba se asegura que la respuesta medible solo se debe a la sustancia que se desea analizar y no a excipientes o productos de degradación los cuales se pueden formar durante el almacenamiento del material.

Para demostrar éste punto se puede llevar a cabo las siguientes pruebas:

- a. Analizando el placebo de la formulación bajo las mismas condiciones que se trabaja en la formulación.

- b. Se pueden adicionar los productos de degradación del principio activo al placebo de la formulación, cuando no se conocen tales productos, entonces es necesario someter al fármaco y a la formulación bajo condiciones que aceleren el

proceso degradativo; se emplean para esto; temperatura, luz solar, luz ultravioleta, medio oxidante, pH alcalino, pH ácido, etc. (19, 20, 25)

6. SENSIBILIDAD

Para evaluar tal parámetro se lleva a cabo el análisis de la muestra donde se vaya disminuyendo la concentración hasta un punto donde la respuesta deje de ser confiable.

- a. Límite de detección: Es la mínima cantidad de muestra que puede ser detectada, pero no precisamente cuantificada.
- b. Límite de cuantificación: es la mínima cantidad de muestra que puede ser cuantificada. (19, 20, 25)

II. FUNDAMENTO DE LA ESPECTROFOTOMETRIA AL ULTRAVIOLETA (U.V.)

La espectroscopía de absorción incluye la visible, ultravioleta, infrarroja, de microondas y de resonancia magnética nuclear. La elección del tipo de espectroscopía a emplear depende de la estructura y propiedades del espécimen. Las bandas de absorción en las regiones visibles y ultravioleta tienen coeficiente de extinción altos permitiendo la identificación con cantidades ínfimas de material, sino también una forma de especificar y controlar la pureza de la sustancia.

El intervalo completo de radiaciones se denomina espectro electromagnético, que comprende las siguientes regiones.

| | |
|-------------------------|----------------------|
| 10^{-12} — 10^{-11} | Rayos cósmicos |
| 10^{-11} — 10^{-8} | Rayos gama |
| 10^{-8} — 10^{-6} | Rayos X |
| 10^{-6} — 10^{-5} | Ultravioleta |
| 10^{-5} — 10^{-4} | Visible |
| 10^{-2} — 10 | Microondas |
| 10 — 10^8 | Frecuencia de radio. |

Los intervalos de longitud de onda para el ultravioleta corresponden de 200 a 400 nm.

Cuando la molécula absorbe radiación, su energía aumenta en una cantidad igual a la cedida por el fotón que se expresa con la siguiente relación:

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad \nu = c/\lambda$$

En la cual h es la constante de Planck, ν , c y λ son respectivamente la frecuencia y la longitud de onda de la radiación.

La espectrofotometría se basa en la ley de Lambert y de Beer que establece que cuando pasa luz monocromática por un medio transparente, la disminución de la intensidad, con el espesor del medio, es proporcional a la intensidad de la luz, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida disminuye exponencialmente al aumentar el espesor del medio absorbente.

Dicha ley se expresa como:

de donde:

$$A = \epsilon c b$$

A = Absorbancia y está en función de la concentración en litros por mol –centímetro.

ϵ = coeficiente de extinción molar.

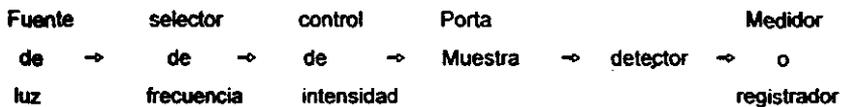
c = Concentración en moles por litro.

b = Longitud que atraviesa la radiación; en cm.

En la espectrofotometría ultravioleta y visible la radiación proporciona energía capaz de excitar electrones de una molécula desde su estado fundamental hasta un estado excitado.

La concentración límite mas baja para el análisis espectrofotométrico es alrededor de 1×10^{-5} M.

A. INSTRUMENTACION DE ABSORCION ULTRAVIOLETA (U.V.)



III. FUNDAMENTO DE CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

(C.L.A.R.)

La cromatografía de líquidos de alta resolución está basada en la distribución de una mezcla de sustancias entre dos fases, donde una de ellas es un líquido que pasa a través de una fase estacionaria que permite separar a los componentes dependiendo de sus características fisicoquímicas al salir del sistema de separación son detectadas, registradas y cuantificadas.

Es un método altamente selectivo en el cual se utilizan cantidades de muestra muy pequeñas, es rápido y versátil. La desventaja de este método es que es muy costoso (7, 8)

Ventajas y limitaciones de la cromatografía de líquidos de alta resolución (C.L.A.R.)

VENTAJAS:

- Velocidad de análisis
- Alta resolución
- Resultados cuantitativos
- Buena sensibilidad
- Automatización
- Amplio espectro de aplicaciones.

DESVENTAJAS

- Instrumentación costosa
- Dificil análisis cualitativo
- No existe detector universal sensible
- Experiencia indispensable.

Diagrama de un sistema cromatográfico.

Disolvente → Bomba → Inyector → Columna → Detector → Registrador y
procesador de
datos

Para seleccionar y desarrollar el método C.L.A.R. debemos tener en cuenta los siguientes parámetros.

1. Peso molecular de la sustancia que se desea separar
2. Fase móvil
3. Solubilidad de la muestra
4. Columna cromatográfica
5. Estabilidad de la columna, muestra y fase móvil.
6. Interferencias por excipientes o posibles productos de degradación. (21, 26, 27)

A. CLASIFICACION DE ACUERDO A LA FASE MÓVIL

1. Cromatografía en fase normal:

La fase estacionaria es fuertemente polar (sílica gel) y la fase móvil es no polar (n - hexano) las muestras polares son retenidas sobre la columna y se retienen menos ó no los materiales no polares.

2. Cromatografía en fase inversa

La fase estacionaria es no polar tales como el agua ó algún alcohol, en éste caso el material que tiene características no polares es retenido mayor tiempo.

IV. PROPIEDADES DEL PINDOLOL

SINÓNIMOS: Prinodolol, 1 - (1hidroxi - indol - 4 - yloxy - 3 -) (1 - methylethyl) amino - 2 - propanol, 4 - (2 - hidroxi - 3 - (isopropilamino) propoxi) indole.

Calvisken, Decreten, Pynastin, Visken. (25)

FORMULA DESARROLLADA:



FORMULA CONDENSADA: C₁₄H₂₀N₂O₂ (25)

PESO MOLECULAR: 248.32 g / mol. (25)

PUNTO DE FUSIÓN: 169 - 173 °C (25)

DESCRIPCIÓN: Polvo cristalino blanco con ligero olor característico. (25)

EMPAQUE Y ALMACENAMIENTO: Conservar en contenedores bien cerrados, protegidos de la luz (25)

METODOS DE IDENTIFICACION: Absorción infrarrojo, absorción ultravioleta, pureza cromatográfica (25)

PERDIDA AL SECADO: Secado a 105 °C por 4 horas: es no mayor de 0.5 % de su peso

RESIDUO DE IGNICION: No más de 0.1 % (25)

METALES PESADOS: 0.002 % (25)

INDICACIONES TERAPEUTICAS: Hipertensión arterial, angina de pecho (prevención de los ataques), taquicardia sinusal y auricular, taquicardia paroxinica, taquicardia en pacientes con aleteo o fibrilación auriculares, extrasístoles supraventriculares, síndrome de corazón hiperkinético (9)

Es un potente antagonista de los receptores adrenérgicos durante más de 24 horas después de la administración oral.

REACCIONES SECUNDARIAS Se suele tolerar bien. Los efectos secundarios son la fatiga, vértigos, trastornos gastrointestinales, principalmente náuseas, cefaleas, trastornos del sueño. En la mayoría de los casos estos efectos secundarios son de naturaleza benigna y pasajera.

SOLUBILIDAD: Prácticamente insoluble en agua, lentamente soluble en metanol y muy lentamente soluble en cloroformo.

CONSTANTE DE DISOCIACIÓN pK 9.7 (24 ° C)

COEFICIENTE DE PARTICIÓN - 0.9

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA R_f 0.49

CROMATOGRAFIA DE GASES R_I 2260

USOS. El pindolol es utilizado para el tratamiento de hipertensión arterial esencial, angina de pecho y arritmias protegiendo al corazón contra la estimulación excesiva por las catecolaminas durante el estrés físico y psicológico así como también en reposo, siendo este un beta bloqueador.

MONOGRAFIA DEL PINDOLOL TABLETAS

ASPECTO:Tableta circular, plana, bordes biselados, con una ranura en una cara y Sandoz en la otra cara, diámetro 7 mm..

COLOR: Blanquecino

OLOR: Inodora o débil olor característico

COLOR: Blanquecino

OLOR: Inodora o débil olor característico

HUMEDAD: Máximo 5%

DESINTEGRACION: Máximo 15 minutos

RUPTURA: Máxima 4 tabletas

DUREZA : Mínimo 3.57 Kg

pH : 8.8 a 9.8

PESO: 108 A 116 mg / tableta

FRIABILIDAD: Máximo 2.5 %

IDENTIFICACION: La mancha de la muestra debe corresponder al Rf de la sustancia de referencia.

CONTENIDO DE PINDOLOL: 95%-2- propanol

PERDIDA AL SECADO: no mas que 5%

PRODUCTOS DE DEGRADACION:

. 1 - (7 - (2 - hidroxil - 3- isopropil amino propil indol -4- yloxy)-3-isopropilamino-2-
propanol.

. 1 - (1-(2 - hidroxil-3-isopropilaminopropil)indol-4- yloxil) -3- isopropil amino

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El Pindolol es un bloqueador con efecto broncodilatador e hipertensivo, para el cual se debe de contar con métodos analíticos confiables para su cuantificación como materia prima y en producto terminado.

Se evaluarán dos métodos analíticos: Espectrofotometría ultravioleta (U. V.) y cromatografía de líquidos de alta resolución (C.L.A.R.).

Así mismo para la confiabilidad del sistema es necesario llevar a cabo una validación con el fin de garantizar que el método, los instrumentos, los disolventes, los reactivos y todo aquello utilizado durante el ensayo son adecuados para el compuesto que se está analizando.

Esto se lleva a cabo para evaluar la precisión, exactitud, linealidad, sensibilidad y especificidad de los métodos en estudio.

VI. OBJETIVOS.

A. Objetivo general:

1. Validar y comparar los métodos espectrofotométrico y cromatográfico para cuantificar el pindolol en tabletas.

B. Objetivos específicos.

1. Determinar la linealidad espectrofotométrica y cromatográfica del sistema.
2. Determinar la precisión espectrofotométrica y cromatográfica del sistema
3. Determinar la linealidad de los métodos (U. V. y C.L.A.R.)
4. Determinar la exactitud de los métodos (U. V. y C.L.A.R.)
5. Determinar la repetibilidad de los métodos (U.V. y C.L.A.R.)
6. Determinar la reproducibilidad de los métodos (U. V. y C.L.A.R.)
7. Determinar la especificidad de los métodos (U. V. y C.L.A.R.)
8. Determinar la sensibilidad de los métodos (U.V. y C.L.A.R.)
9. Comparar los métodos espectrofotométrico y cromatográfico

VII. HIPÓTESIS.

Tanto la espectrofotometría ultravioleta como la cromatografía de líquidos de alta resolución resultan ser métodos equiparables para la cuantificación de pindolol en tabletas. Debido a que por medio de cualquiera de estos métodos se puede cuantificar el Pindolol y resultar igualmente *confiables*.

VIII. MATERIAL.

A. Equipo:

1. Espectrofotómetro Shimadzu UV - visible, modelo 240 con graficador Graphic Printer PR- Shimadzu.
2. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Perkin - Elmer serie 2 con bomba de onda variable y detector LC - 65 T Perkin - Elmer de longitud de onda variable
3. Automuestreador LC 600 Perkin - Elmer
4. Consola Perkin - Elmer sigma 10 Shcromatography data station
5. Agitador magnético variomag electronicruhrer multipoint HP
6. Balanza analítica Mettler AK - 160
7. Baño ultrasónico, marca thelco modelo 182
8. Parrilla de calentamiento marca / Lindberg, modelo 53166
9. Lámpara ultravioleta para revelar, marca Mineralight, modelo UVS - 11

B. Material de vidrio:

1. Matraz volumétrico 100 ml, pyrex
2. Matraz volumétrico 50 ml, pyrex
3. Matraz volumétrico 25 ml , Pyrex
4. Pipetas volumétricas 15 ml, Pyrex
5. Pipetas volumétricas 5 ml, Pyrex
6. Pipetas volumétricas 4 ml, Pyrex
7. Vasos de precipitados 1000 ml, Pyrex
8. Vasos de precipitados 100 ml, Pyrex
9. Condensadores 24 / 40 ,Corning
10. Matraz balón 250 ml. Corning
11. Embudos de filtración, Pyrex
12. Matraz Erlenmeyer 125 ml, Pyrex

C. Reactivos:

1. Estándar secundario de Pindolol lote 810305
2. Metanol grado reactivo RA, marca JT Baker
3. Metanol grado HPLC, marca Cromasol
4. Carbonato de Amonio RA, marca JT Baker
5. Diclorometano RA, marca Cromasol
6. Yodo resublimado RA, marca JT Baker
7. Papel filtro Wattman No. 2
8. Placas preparativas Kieselgel 60 F, 20 x 20 cm; de 0.25 mm de espesor.
lote DC - 5554

IX. PROCEDIMIENTO

A. MÉTODO ESPECTROFOTOMETRICO

Para la concentración del 100 % (llegar a una concentración de 15 µg / ml.)

Pesar el equivalente a 15 mg. del principio activo, adicionar 30 ml. de metanol, agitar 30 minutos y llevar a 100 ml con metanol, filtrar a través de papel filtro Wattman No. 2, desechar los primeros 10 ml, tomar una alícuota de 5 ml y llevar a 50 ml con metanol (15 µg / ml). Leer a 265 nm utilizando como blanco metanol.

ESTÁNDAR: Trabajar bajo las mismas condiciones que la muestra hasta llegar a 15 µg / ml.

B. MÉTODO CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

Para la concentración del 100% (llegar a una concentración de 15 µg / ml.)

Pesar el equivalente a 15 mg. de principio activo, adicionar 30 ml de metanol grado HPLC agitar 30 minutos y llevar a 100 ml con fase móvil (metanol / carbonato de sodio 9: 1), filtrar a través de papel filtro Wattman No. 2, desechar los primeros 10 ml., tomar una alícuota de 5 ml. y llevar a 50 ml. con metanol grado HPLC (15 µg / ml.) leer en el cromatógrafo.

Condiciones cromatográficas:

Flujo: 2 ml por minuto

Temperatura: Temperatura ambiente

Columna: 4.6 mm de diámetro y 25 cm de longitud (Steel)

Longitud de onda : 265 nm

Fase móvil: Diclorometano: Metanol : ácido fórmico :(75 : 23 : 1.5)

C. VALIDACION DEL SISTEMA.

LINEALIDAD

Se determinó, construyendo una curva de calibración de una misma solución patrón, utilizando 5 diluciones y haciendo análisis por duplicado para cada dilución, 80, 90, 100, 110 y 120 %

PRECISIÓN

Se determinó por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema .

D. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

EXACTITUD

Se analizó de 6 a 10 placebos cargados (placebo más el principio activo) con el 100% de principio activo de manera independiente por el mismo analista.

PRECISIÓN

Se evaluó mediante la repetibilidad y la reproducibilidad del método, utilizando placebos cargados.

REPETIBILIDAD

Se analizó de 6 a 10 muestras con placebos cargados a una sola concentración (100 %)

REPRODUCIBILIDAD

Se efectuó con dos analistas en dos días diferentes por triplicado de cada muestra de placebo cargado con una concentración del 100 %.

LINEALIDAD

Se analizó con un placebo cargados del principio activo, a cinco concentraciones, 80, 90,100,110,120 % haciendo el análisis por triplicado.

SENSIBILIDAD

Se realizó desde una concentración de 5.0 μ g / ml hasta una concentración de 0.25 μ g/ml. realizando el análisis por duplicado.

ESPECIFICIDAD

Se utilizaron los dos productos de degradación, excipientes, placebos y estándar realizando el análisis por triplicado, observando la respuesta que emiten.

X. RESULTADOS.

PRECISIÓN DEL SISTEMA PARA U.V.

| Calificación | Nota |
|--------------|------|
| 5.00 | 0.52 |
| 5.00 | 0.54 |
| 5.00 | 0.51 |
| 5.00 | 0.52 |
| 5.00 | 0.56 |
| 5.00 | 0.54 |

TABLA No. 1
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| | |
|------------------|----------------------------|
| n = 6 | |
| $\bar{X} = 0.53$ | |
| $\sigma = 0.016$ | |
| S = 0.018 | |
| $\chi^2 = 6.33$ | $\chi^2(0.975), 5 = 12.83$ |
| CV = 3.3% | $\chi^2(0.025), 5 = 0.83$ |

INTERVALO DE CONFIANZA

$$0.011 < 0.016 < 0.044$$

ÁREA DE ACEPTACIÓN

$$\chi^2_{\text{cálculo}} < \chi^2_{(0.975)}$$

$$6.33 < 12.83$$

$$\chi^2_{\text{cálculo}} > \chi^2_{(0.025)}$$

$$6.33 > 0.83$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA PARA U.V.

| X | Y |
|------|------|
| 4.00 | 0.41 |
| 4.00 | 0.40 |
| 4.50 | 0.45 |
| 4.50 | 0.47 |
| 5.00 | 0.52 |
| 5.00 | 0.53 |
| 5.50 | 0.58 |
| 5.50 | 0.57 |
| 6.00 | 0.62 |
| 6.00 | 0.61 |

TABLA No. 2
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| | |
|--|---------------------------|
| n = 10 | |
| Ordenada al origen = -0.019 | |
| Pendiente = 0.107 | |
| Coefficiente de Correlación = 0.993 | |
| Coefficiente de Variación = 0.7 % | |
| t (ordenada al origen) = 0.790 | t (0.975) 8 = 2.306 |
| t (pendiente) = 0.886 | T (0.025) , 8 = - 2.306 |

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA ORDENADA AL ORIGEN**

$$- 2.306 < 1.790 < 2.306$$

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA PENDIENTE**

$$-2.306 < 0.886 < 2.306$$

AREA DE ACEPTACION

$$t \text{ cálculo} \leq t (0.975)$$

$$0.790 < 2.306$$

$$t \text{ cálculo} \geq t (0.025)$$

$$0.886 > -2.306$$

PRECISIÓN DEL SISTEMA PARA C.L.A.R.

| Concentración (mg/ml) | Respuesta (Hr/min) |
|-----------------------|--------------------|
| 5.00 | 7.21 |
| 5.00 | 7.20 |
| 5.00 | 7.21 |
| 5.00 | 7.20 |
| 5.00 | 7.19 |
| 5.00 | 7.22 |

TABLA No. 3
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| | |
|-------------------------------------|---|
| n = 6 | |
| $\bar{X} = 7.205$ | |
| $\sigma = 0.009$ | |
| S = 0.010 | |
| $\chi^2 = 1.081$ | $\chi^2 (0.025), 5 = 0.83$ |
| CV = 0.14 % | $\chi^2 (0.975), 5 = 12.83$ |

INTERVALO DE CONFIANZA

$$0.0062 < 0.009 < 0.024$$

AREA DE ACEPTACION

$$\chi^2 < \chi^2 (0.975)$$

$$1.81 < 12.83$$

$$\chi^2 \text{ cálculo} > \chi^2 (0.025)$$

$$1.081 > 0.83$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA PARA C.L.A.R.

| Exposición (X) | Reacción (Y) |
|----------------|--------------|
| 4.00 | 5.79 |
| 4.00 | 5.79 |
| 4.50 | 6.47 |
| 4.50 | 6.48 |
| 5.00 | 7.20 |
| 5.00 | 7.21 |
| 5.50 | 7.93 |
| 5.50 | 7.92 |
| 6.00 | 8.65 |
| 6.00 | 8.65 |

TABLA No. 4
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| | |
|--|--------------------------------|
| n = 10 | |
| Ordenada al origen = 0.039 | |
| Pendiente = 1.434 | |
| Coefficiente de correlación = 0.999 | |
| t (ordenada al origen) = 1.200 | t (0.975) , 8 = 2.306 |
| t (pendiente) = 0.020 | t (0.025) 8 = - 2.306 |

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA ORDENADA AL ORIGEN**

$$- 19.750 < 0.39 < 19.828$$

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA PENDIENTE**

$$- 0.930 < 0.020 < 1.022$$

AREA DE ACEPTACION

$$t \text{ cálculo} \leq t(0.975)$$

$$0.20 < 2.306$$

$$t \text{ cálculo} \geq t(0.025)$$

$$1.200 > -2.306$$

RESULTADOS DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMETRICO

EXACTITUD DEL MÉTODO

| Valor Verdadero | Valor Medido | % Error |
|-----------------|--------------|---------|
| 5.0 | 4.97 | 99.4 |
| 5.0 | 5.06 | 101.2 |
| 5.0 | 5.08 | 101.6 |
| 5.0 | 5.09 | 101.8 |
| 5.0 | 4.99 | 99.8 |
| 5.0 | 5.00 | 100.0 |

TABLA No. 5
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| | |
|-------------------|--------------------|
| $n = 6$ | |
| $\bar{X} = 10.63$ | |
| $s = 0.93$ | |
| $S = 1.02$ | |
| $T = 1.51$ | $t(0.975) = +2.57$ |
| $CV = 1.0$ | $t(0.025) = -2.57$ |

PRECISIÓN DEL MÉTODO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

| Valor real | Medida obtenida | % de error |
|------------|-----------------|------------|
| 5.0 | 4.95 | 99.00 |
| 5.0 | 5.06 | 101.20 |
| 5.0 | 5.09 | 101.80 |
| 5.0 | 5.08 | 101.60 |
| 5.0 | 5.00 | 100.00 |
| 5.0 | 4.99 | 99.80 |

TABLA No. 6
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Parámetro | Valor |
|--------------------|------------------------------|
| n = 6 | |
| $\bar{X} = 100.56$ | |
| $\sigma = 1.02$ | |
| s = 1.12 | |
| $\chi^2_1 = 6.02$ | $\chi^2_1(0.025), 5 = 0.83$ |
| CV = 1.11 % | $\chi^2_1(0.975), 5 = 12.83$ |

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

| | Día 1 | Día 2 |
|--|------------|------------|
| | 10/01/2010 | 11/01/2010 |
| | 98.9 | 98.5 |
| | 100.5 | 101.7 |
| | 100.3 | 96.9 |
| | 101.8 | 97.9 |
| | 100.7 | 100.0 |
| | 101.5 | 99.2 |

TABLA No. 7
TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA
(ANADEVVA)

| FUENTE | GRADOS | SUMA | MEDIA | F | F _{CRITICO} |
|--------------------|--------|--------------|--------------|----------------|----------------------|
| ANALISTA | GRADOS | DE CUADRADOS | DE CUADRADOS | CONVENCIONALES | DE CUADRADOS |
| Analista | 1 | 1.54 | 1.54 | 1.00 | 161.4 |
| día | 1 | 7.52 | 7.52 | 4.88 | 161.4 |
| Analista-día | 1 | 1.54 | 1.54 | 0.75 | 5.32 |
| error experimental | 8 | 16.36 | 2.04 | -- | -- |

LINEALIDAD DEL MÉTODO

| no. dependiente | no. independiente |
|-----------------|-------------------|
| X | Y |
| 4.0 | 4.07 |
| 4.0 | 4.06 |
| 4.0 | 4.06 |
| 4.5 | 4.50 |
| 4.5 | 4.51 |
| 4.5 | 4.52 |
| 5.0 | 5.08 |
| 5.0 | 5.07 |
| 5.0 | 5.07 |
| 5.5 | 5.54 |
| 5.5 | 5.52 |
| 5.5 | 5.52 |
| 6.0 | 6.01 |
| 6.0 | 6.03 |
| 6.0 | 6.02 |

TABLA No. 8
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Estadística | Valor |
|-------------------------------------|-------------------------|
| $n = 15$ | |
| Ordenada al origen = 0.1086 | |
| Pendiente = 0.9860 | |
| Coefficiente de correlación = 0.999 | |
| t (ordenada al origen) = 1.682 | $t (0.975) = 2.16 04$ |
| t (pendiente) = -1.092 | $t (0.025) = -2.1604$ |

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA ORDENADA AL ORIGEN**

$$-0.0308 < 0.1086 < 0.2474$$

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA PENDIENTE**

$$0.959 < 0.9860 < 1.013$$

AREA DE ACEPTACION

$$t \text{ cálculo} \leq t(0.975)$$

$$-1.092 < 2.160$$

$$t \text{ cálculo} \geq t(0.025)$$

$$1.682 > -2.160$$

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO

| Concentración µg/ml | Absorbancia |
|------------------------|-------------|
| 5.0 | 0.528 |
| 5.0 | 0.526 |
| 4.5 | 0.474 |
| 4.5 | 0.471 |
| 4.0 | 0.423 |
| 4.0 | 0.349 |
| 3.5 | 0.369 |
| 3.5 | 0.316 |
| 3.0 | 0.316 |
| 3.0 | 0.320 |
| 2.5 | 0.305 |
| 2.5 | 0.304 |
| 2.0 | 0.252 |
| 2.0 | 0.251 |
| 1.5 | 0.212 |
| 1.5 | 0.210 |
| 1.0 | 0.144 |
| 1.0 | 0.141 |
| 0.5 | 0.070 |
| 0.5 | 0.067 |
| 0.25 | 0.016 |
| 0.25 | 0.019 |

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO

| Productos | Absorbancia |
|-----------------------------|-------------|
| Productos de degradación I | 0.053 |
| | 0.047 |
| | 0.041 |
| Productos de degradación II | 0.010 |
| | 0.011 |
| | 0.011 |
| Excipiente I | 0.028 |
| | 0.026 |
| | 0.028 |
| Excipiente II | 0.015 |
| | 0.015 |
| | 0.015 |
| Excipiente III | 0.017 |
| | 0.016 |
| | 0.012 |
| Excipiente IV | 0.035 |
| | 0.034 |
| | 0.041 |
| Placebo | 0.076 |
| | 0.077 |
| | 0.078 |
| Estandar | 0.510 |
| | 0.509 |
| | 0.511 |
| Blanco (Metanol) | 0.007 |
| | 0.006 |
| | 0.006 |

RESULTADOS PARA EL MÉTODO CROMATOGRÁFICO

EXACTITUD DEL MÉTODO

| Concentración de referencia | Concentración obtenida | % de recuperación |
|-----------------------------|------------------------|-------------------|
| 5.0 | 5.01 | 100.20 |
| 5.0 | 5.06 | 101.20 |
| 5.0 | 5.16 | 102.00 |
| 5.0 | 5.07 | 101.40 |
| 5.0 | 5.10 | 102.00 |
| 5.0 | 5.00 | 100.00 |

TABLA No. 9
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Parámetro estadístico | Valor |
|-----------------------|----------------------|
| n = 6 | |
| $\bar{X} = 101.13$ | |
| $\sigma = 0.78$ | |
| $S = 0.96$ | |
| t = 0.53 | t (0.975), 5 = 2.57 |
| CV = 1.0 | t (0.025), 5 = -2.57 |

PRECISIÓN DEL MÉTODO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

| Valor real | Valor medido | % de error |
|------------|--------------|------------|
| 5.00 | 5.01 | 99.80 |
| 5.00 | 5.04 | 99.20 |
| 5.00 | 5.07 | 98.61 |
| 5.00 | 5.08 | 98.42 |
| 5.00 | 5.00 | 100.00 |
| 5.00 | 5.06 | 98.81 |

TABLA No. 10
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Parámetro | Valor |
|-------------------|-----------------------------|
| $n = 6$ | |
| $\bar{X} = 99.14$ | |
| $\sigma = 0.58$ | |
| $S = 0.64$ | |
| $\chi^2 = 6.09$ | $\chi^2 (0.975), 5 = 12.83$ |
| $CV = 2\%$ | $\chi^2 (0.025), 5 = 0.83$ |

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

| | | |
|--|--------|--------|
| | 98.93 | 101.96 |
| | 100.08 | 97.43 |
| | 99.98 | 98.56 |
| | 101.60 | 100.31 |
| | 100.45 | 99.57 |
| | 101.62 | 99.69 |

TABLA No. 11
TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA
(ANADEV A)

| FUENTE | GRADOS | SUMA | ME | COEFICIENTE | VARIANZA |
|--------------------|--------|--------------|-----------|--------------|--------------|
| | LIBRE | DE CUADRADOS | CUADRADOS | DE CUADRADOS | DE CUADRADOS |
| Analista | 1 | 2.34 | 2.34 | -0.98 | 161.4 |
| Día | 1 | -3.71 | -3.71 | 1.55 | 161.4 |
| Analista-día | 1 | -2.39 | -2.39 | -1.33 | 5.32 |
| Error Experimental | 8 | 14.39 | 1.79 | -- | -- |

LINEALIDAD DEL MÉTODO

| no. de horas | no. de horas |
|--------------|--------------|
| X | Y |
| 4.00 | 4.06 |
| 4.00 | 4.05 |
| 4.00 | 4.07 |
| 4.50 | 4.51 |
| 4.50 | 4.52 |
| 4.50 | 4.51 |
| 5.00 | 5.06 |
| 5.00 | 5.07 |
| 5.00 | 5.08 |
| 5.50 | 5.54 |
| 5.50 | 5.53 |
| 5.50 | 5.53 |
| 6.00 | 6.02 |
| 6.00 | 6.01 |
| 6.00 | 6.03 |

TABLA No. 12
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Estadístico | Valor |
|-------------------------------------|----------------------------|
| n = 15 | |
| Ordenada al origen = 0.990 | |
| Pendiente = 0.988 | |
| Coefficiente de correlación = 0.999 | |
| t (ordenada al origen) = 0.86 | t (0.975) , 13 = 2.1604 |
| t (pendiente) = - 0.53 | t (0.025) , 13 = -2.1604 |

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA ORDENADA AL ORIGEN**

$$- 0.1479 < 0.099 < 0.3459$$

**INTERVALO DE CONFIANZA
PARA LA PENDIENTE**

$$0.939 < 0.988 < 1.037$$

AREA DE ACEPTACION

$$t \text{ cálculo} \leq t (0.975)$$

$$-0.53 < 2.160$$

$$t \text{ cálculo} \geq t (0.025)$$

$$0.86 > -2.160$$

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO

| Concentración $\mu\text{g/ ml.}$ | Respuesta Area bajo la curva |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| 5.0 | 152.85 |
| 5.0 | 151.29 |
| 4.5 | 136.18 |
| 4.5 | 133.29 |
| 4.0 | 121.60 |
| 4.0 | 123.45 |
| 3.5 | 107.62 |
| 3.5 | 104.37 |
| 3.0 | 87.46 |
| 3.0 | 89.28 |
| 2.5 | 74.16 |
| 2.5 | 77.74 |
| 2.0 | 62.29 |
| 2.0 | 59.40 |
| 1.5 | 43.11 |
| 1.5 | 40.33 |
| 1.0 | 27.88 |
| 1.0 | 25.51 |
| 0.5 | 11.03 |
| 0.5 | 9.57 |
| 0.25 | 4.42 |
| 0.25 | 3.14 |

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO

No se encontró respuesta ni en los productos de degradación ni en los excipientes así como tampoco en los placebos.

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

PRECISIÓN

REPETIBILIDAD

| Medida | Medida | Medida |
|--------|--------|--------|
| 5.00 | 99.00 | 99.80 |
| 5.00 | 101.20 | 99.20 |
| 5.00 | 101.80 | 98.61 |
| 5.00 | 101.60 | 98.42 |
| 5.00 | 100.00 | 100.00 |
| 5.00 | 99.80 | 98.81 |

TABLA No. 13
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Medida | Medida | Medida |
|--------------------|-------------------|---------------------------|
| n = 6 | N = 6 | |
| $\bar{X} = 100.56$ | $\bar{X} = 99.14$ | |
| $\sigma = 1.02$ | $\sigma = 0.58$ | |
| $\sigma^2 = 1.04$ | $\sigma^2 = 0.33$ | |
| S = 1.12 | S = 0.64 | |
| $S^2 = 1.25$ | $S^2 = 0.40$ | |
| E = 0.4572 | E = 0.2612 | F (0.975) , 1 = 14.94 |
| F = 3.06 | F = 3.06 | 1 / F(0.975) , 1 = 0.067 |

EXACTITUD (PARA MÉTODOS EQUIPARABLES EN PRECISIÓN)

| Concentración | Método Recibo | Método Retorno |
|---------------|---------------|----------------|
| 5.00 | 99.40 | 100.20 |
| 5.00 | 101.20 | 101.20 |
| 5.00 | 101.60 | 102.00 |
| 5.00 | 101.80 | 101.40 |
| 5.00 | 99.80 | 102.00 |
| 5.00 | 100.00 | 100.00 |

TABLA No. 14
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Experimento | Experimento | Experimento |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| n = 6 | n = 6 | |
| $\bar{X} = 100.63$ | $\bar{X} = 101.13$ | |
| s = 1.02 | s = 0.86 | |
| s ² = 1.04 | s ² = 0.73 | t(-0.975), 1 = 12.706 |
| t = -0.92 | t = -0.92 | t(0.025), 1 = -12.706 |

LINEALIDAD

| valor teórico | valor real | valor teórico |
|---------------|------------|---------------|
| 4.00 | 4.07 | 4.06 |
| 4.00 | 4.06 | 4.05 |
| 4.00 | 4.06 | 4.07 |
| 4.50 | 4.50 | 4.51 |
| 4.50 | 4.51 | 4.52 |
| 4.50 | 4.52 | 4.51 |
| 5.00 | 5.08 | 5.06 |
| 5.00 | 5.07 | 5.07 |
| 5.00 | 5.07 | 5.08 |
| 5.50 | 5.54 | 5.54 |
| 5.50 | 5.52 | 5.53 |
| 5.50 | 5.52 | 5.53 |
| 6.00 | 6.01 | 6.02 |
| 6.00 | 6.03 | 6.01 |
| 6.00 | 6.02 | 6.03 |

TABLA 15
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

| Experimento I | Experimento II | Teoría |
|--|--|-----------------------------|
| n = 15 | n = 15 | |
| $\Sigma X = 75.00$ | $\Sigma X = 75.00$ | |
| $\Sigma X^2 = 382.50$ | $\Sigma X^2 = 382.50$ | |
| $\bar{X} = 5.00$ | $\bar{X} = 5.00$ | |
| S = 0.73 | S = 0.73 | |
| a = 0.108 | a = 0.099 | |
| b = 0.986 | b = 0.988 | |
| $S_{yx} = 20.23$ | $S_{yx} = 0.062$ | |
| Coefficiente de Correlación = 0.999 | Coefficiente de correlación = 0.999 | $t(0.025), 26 =$ -2.0555 |
| t = -0.00019 | t = -0.00019 | $t(0.975), 26 =$ 2.0555 |

INTERVALO DE CONFIANZA

- 2.0555 <- 0.00019 < 2.0555

GRÁFICA 1

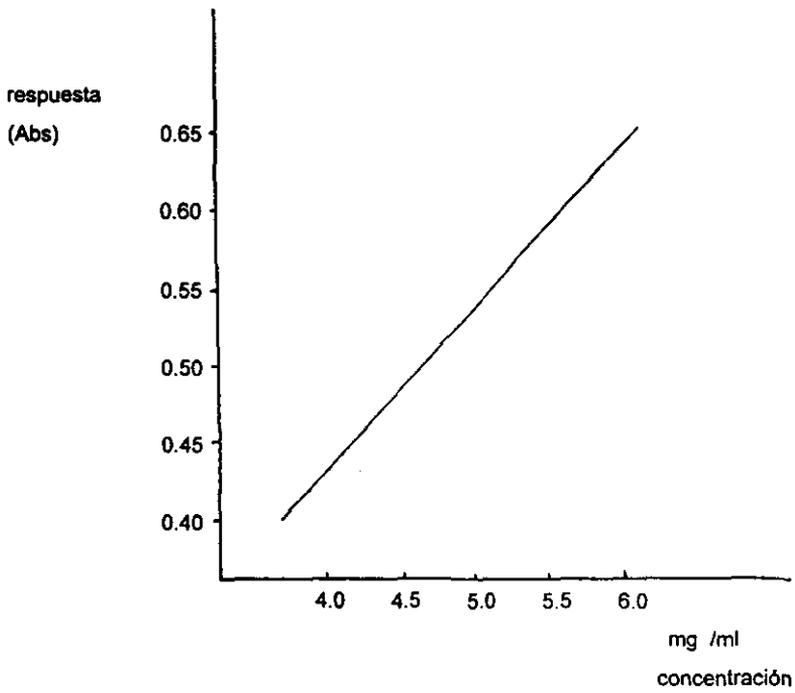
LINEALIDAD DEL SISTEMA U. V.

$$Y = 0.107 (X) - 0.19$$

$$b = 0.107$$

$$a = - 0.19$$

Coefficiente de correlación = 0.993



GRÁFICA No. 2

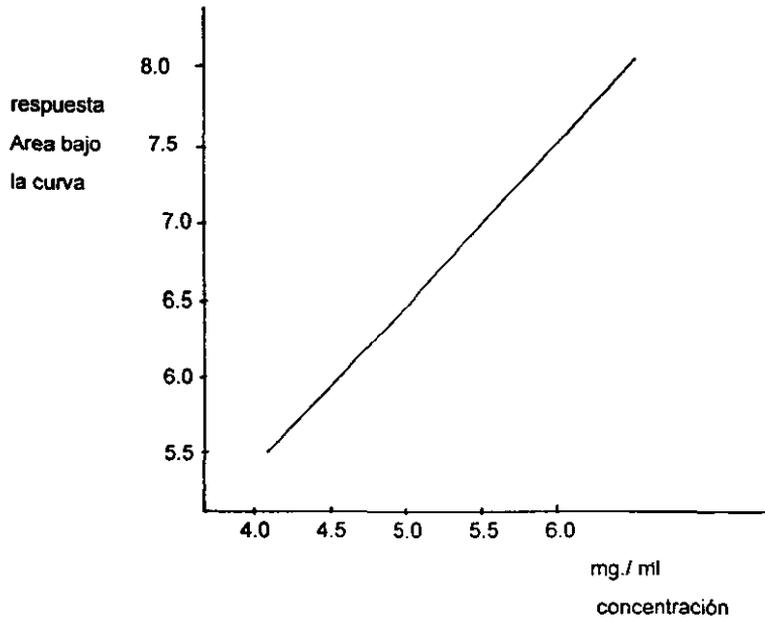
LINEALIDAD DEL SISTEMA C.L.A.R.

$$Y = 0.976 (X) + 0.122$$

$$b = 0.976$$

$$a = 0.122$$

Coefficiente de correlación = 0.998



GRÁFICA No. 3

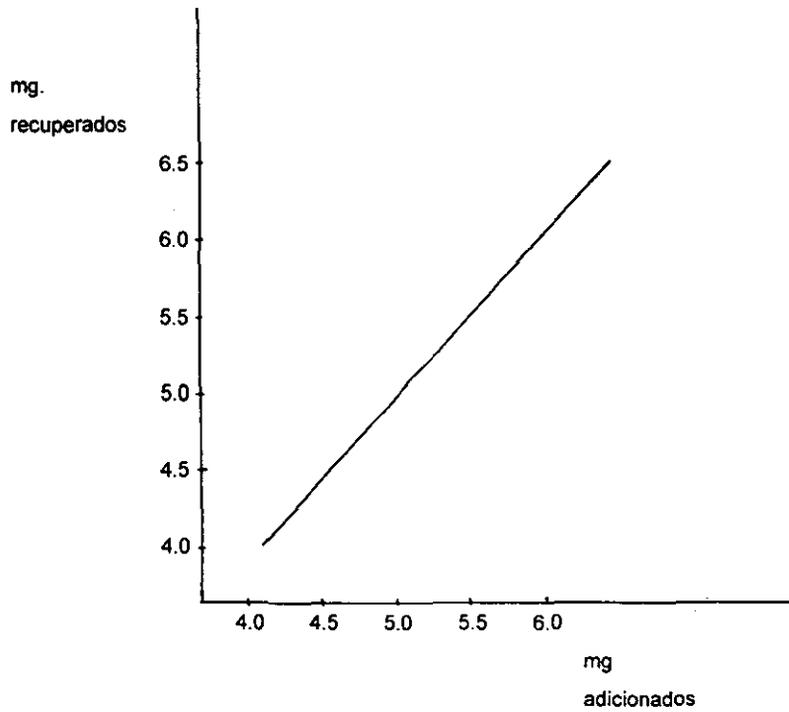
LINEALIDAD DEL MÉTODO U.V.

$$Y = 0.986 (x) + 0.108$$

$$b = 0.986$$

$$a = 0.108$$

Coefficiente de correlación ≈ 0.999



GRÁFICA No. 4

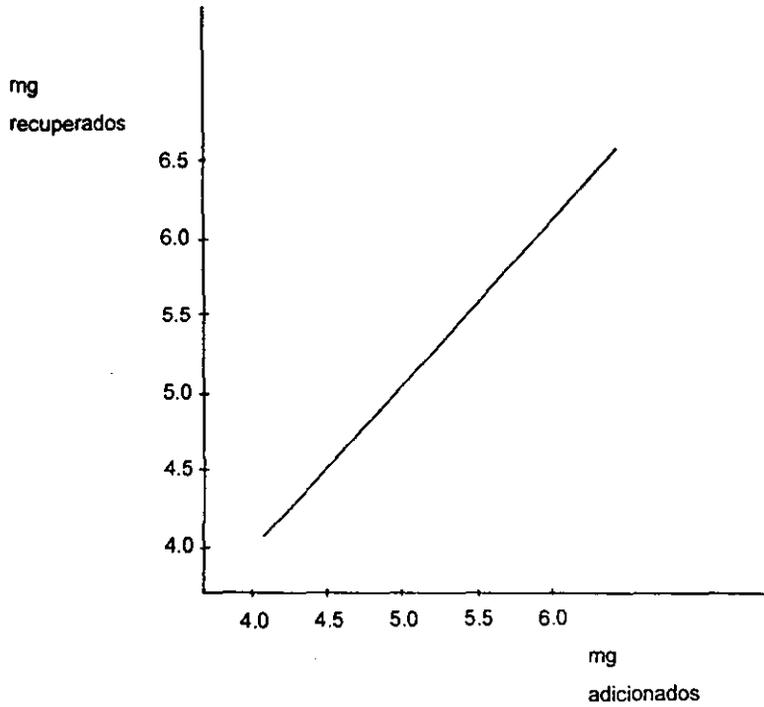
LINEALIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

$$Y = 0.998 (X) + 0.099$$

$$b = 0.998$$

$$a = 0.099$$

Coefficiente de correlación = 0.999



CROMATOGRAMAS DE ESPECIFICIDAD

1. METANOL

Columna : Acero, con un diámetro de 4.6 mm.

Fase móvil : Metanol / carbonato de amonio 9 : 1

Fase estacionaria : Silica gel octadecil silanizada

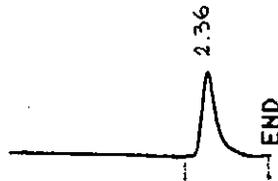
Sistema de inyección : 20 ml.

Flujo : 2 ml / min.

Temperatura : Temperatura ambiente

Detección : 265 nm

Inyección de la muestra : 20 µl.



METANOL

1. Metanol
2. Pindolol

Columna: Acero, con un diámetro de 4.6 mm.

Fase móvil : Metanol / carbonato de amonio 9 : 1

Fase estacionaria : Silica gel octadecil silanizada

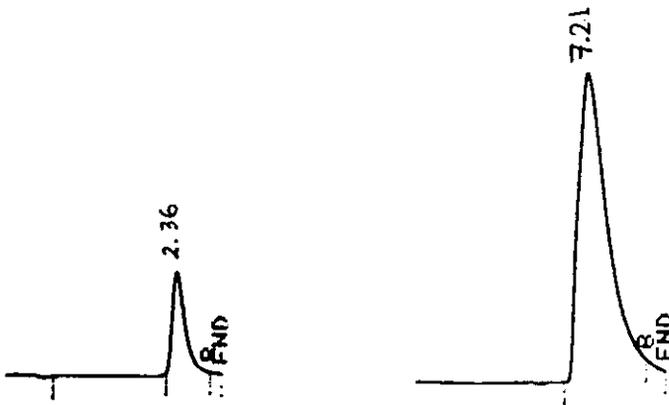
Sistema de inyección: 20 ml.

Flujo : 2 ml. / min.

Temperatura de la columna: temperatura ambiente

Detección 265 nm

Inyección de la muestra : 20 µl.



METANOL

PINDOLOL

1. Metanol
2. Pindolol
3. producto de degradación I

Columna : Acero, con un diámetro de 4.6 mm.

Fase móvil : Metanol / carbonato de amonio 9 : 1

Fase estacionaria : Silica gel octadecil silanizada

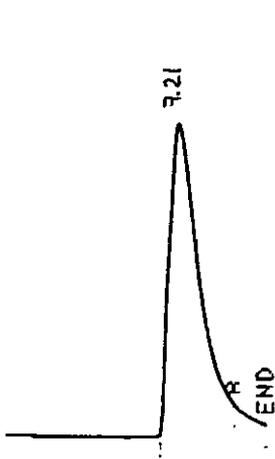
Sistema de inyección : 20 ml.

Flujo: 2 ml / min.

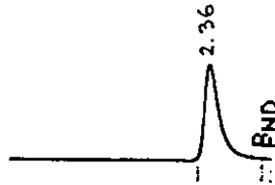
Temperatura de la columna : temperatura ambiente

Detección 265 nm.

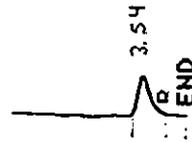
Inyección de la muestra : 20 µl.



PINDOLOL



METANOL



PRODUCTO DE DEGRADACION

1. Metanol
2. Pindolol
3. productos de degradación 1
4. producto de degradación 2

Columna : Acero, con un diámetro de 4.6 mm.

Fase móvil : metanol / carbonato de amonio 9 : 1

Fase estacionaria : Silica gel octadecil silanizada

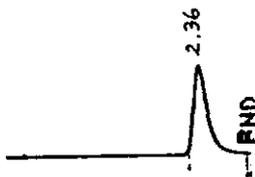
Sistema de inyección : 20 ml.

Flujo : 2 ml / min.

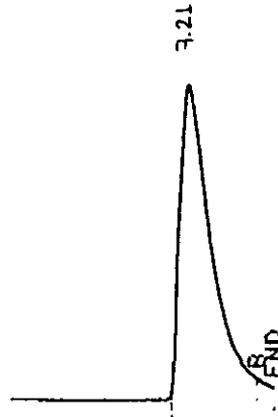
Temperatura de la columna: Temperatura ambiente

Detección : 265 nm.

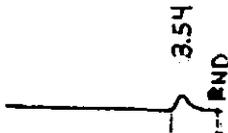
Inyección de la muestra : 20 µl.



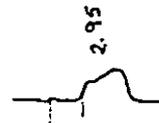
METANOL



PINDOLOL



PRODUCTO DE
DEGRADACION 1



PRODUCTO DE
DEGRADACION 2

XI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

PRECISIÓN DEL SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO Y CROMATOGRAFICO

Para evaluar la precisión de los sistemas espectrofotométrico y cromatográfico, se utilizaron los datos de por ciento de recobro, utilizándose un estadígrafo de contraste " χ^2 ", tabla No. 1 y tabla No. 3, respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se aprecia que se encuentran dentro del criterio de aceptación, por lo cual se considera que **ambos sistemas son precisos**.

LINEALIDAD DEL SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO Y CROMATOGRAFICO.

Los resultados obtenidos se presentan en las gráficas No. 1 y 2 y en las tablas 2 y 4, respectivamente, observándose que la pendiente para el método espectrofotométrico es igual a 0.107, la ordenada al origen de -0.019 y un coeficiente de correlación igual a 0.993 ; y para el método cromatográfico se tiene una pendiente igual a 1.434, una ordenada al origen de 0.039 y un coeficiente de correlación igual a 0.999 . Al analizar estadísticamente los resultados mediante un estadígrafo de contraste de prueba " t " de Student , se observa que no existe significancia estadística en ambos sistemas, por lo que se demuestra que **los dos sistemas son lineales**.

EXACTITUD DEL MÉTODO U.V.

Para la evaluación estadística de la exactitud del método se utilizaron los datos de por ciento de recobro y se analizó mediante el parámetro " t " de Student, tabla No. 5. De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que se encuentran dentro del criterio de aceptación, demostrándose así que el método U.V. **es exacto**.

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO U.V.

Para evaluar la repetibilidad del método se utilizaron los resultados de la tabla No. 6 y se hizo una evaluación estadística mediante el estadígrafo de contraste " χ^2 ", encontrándose que el método U.V. es repetible.

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO U.V.

Para conocer la variabilidad de los datos se hizo un análisis por triplicado de la muestra al 100 %, por dos analistas diferentes en diferentes días y se llevó a cabo un análisis de varianza. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla No. 7, encontrándose que el valor de " F " calculada para todos los parámetros (analista, día, analista - día) , fue menor que el valor de " F " teórica, por lo cual comprobamos que el método U.V. es reproducible.

LINEALIDAD DEL MÉTODO U.V.

Los resultados se presentan en la tabla No. 8 y en la gráfica No. 3 observándose que la pendiente es igual a 0.9860, la ordenada al origen de 0.1086 y el coeficiente de correlación igual a 0.999 , utilizándose la prueba " t " de Student se observa que el método U.V. es lineal.

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO U.V.

Los resultados obtenidos muestran que el método es sensible ya que se obtiene respuesta hasta en una concentración de 0.25 $\mu\text{g/ml}$.

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO U.V.

Los resultados obtenidos en los productos de degradación, excipientes y placebos presentan una respuesta muy pequeña comparado con el estándar por lo cual se considera al método específico

EXACTITUD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Los resultados se presentan en la tabla No. 9 y se hace uso de un estadígrafo de contraste de prueba " t " de Student, observándose que los resultados obtenidos se encuentran dentro del criterio de aceptación, demostrándose que el método C.L.A.R. **es exacto**.

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Para evaluar la repetibilidad del método se utilizó el parámetro " χ_r^2 " y los resultados obtenidos en la tabla No. 10 indican que el método C.L.A.R. **es repetible**

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Se realizó un análisis de varianza utilizándose dos analistas diferentes en diferentes días, los resultados obtenidos se presentan en la tabla No. 11, encontrándose que el valor del parámetro " F " calculada para todos los parámetros (analista, día, analista - día) fueron menos que el valor de " F " teórica, por lo cual se comprueba que el método C.L.A.R. **es reproducible**.

LINEALIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Los resultados obtenidos en la gráfica No. 4 y el análisis de los datos en la tabla No. 12, observando que la pendiente es igual a 0.988, la ordenada al origen de 0.990 y el coeficiente de correlación igual a 0.999 , realizándose un análisis a través de la prueba " t " de Student , se observa que el método C.L.A.R. **es lineal**.

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Los resultados obtenidos muestran que se tienen respuestas en concentraciones pequeñas en este caso se utilizó una concentración mínima de 0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por lo cual el **método se considera sensible**.

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO C.L.A.R.

Los resultados obtenidos muestran que únicamente se tiene respuesta en el estándar mientras que en los productos de degradación no hay ninguna respuesta al igual que en los excipientes y en placebos por lo cual **se considera al método específico.**

COMPARACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

La comparación de métodos analíticos se realizó para precisión, exactitud y linealidad.

COMPARACIÓN EN CUANTO A PRECISIÓN.

Se realizó mediante la repetibilidad de los métodos.

Los resultados se observan en la tabla No. 13 y realizando el análisis mediante el estadígrafo de contraste de prueba " F " , se encontró que no existen diferencias significativas en ambos métodos, por lo cual consideramos que los métodos **son equiparable en cuanto a precisión.**

COMPARACIÓN EN CUANTO A EXACTITUD.

Se realizó la comparación de exactitud de los métodos sabiendo que éstos fueron equiparables en cuanto a precisión.

Los resultados se presentan en la tabla No. 14 y se hizo uso de un estadígrafo de contraste de prueba " t " de Student, encontrándose que la " t " calculada para ambos métodos fue menor que la " t " teórica, por lo cual consideramos que **los métodos poseen exactitud equiparable.**

COMPARACIÓN EN CUANTO A LINEALIDAD.

Los resultados se presentan en la tabla No. 15 y se realizó el análisis mediante el uso de un estadígrafo de contraste " t " de Student, encontrándose que no existen diferencias significativas en ambos métodos, por lo cual consideramos que **los métodos poseen pendientes equiparables**

XII. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos se demuestra que tanto el método espectrofotométrico como el cromatográfico resultaron ser métodos exactos, precisos, reproducibles y lineales.

Dadas éstas características y al hacer la comparación analítica de ambos métodos, para precisión, exactitud y linealidad; se encontró que dichos métodos no presentan diferencias significativas, por lo cual, se considera que **ambos métodos son equiparables en cuanto a precisión, exactitud y linealidad.**

XIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Alcatán A., VALIDACIÓN , ED. Asociación Farmacéutica Mexicana., México :Asociación Farmacéutica Mexicana, 1980 : 5 - 40 P..
2. Alcántara A., Validación de Procesos Farmacéuticos, México: Asociación Farmacéutica Mexicana,A.C.,1986: 10 -60
3. Alvarado J.J.,Couriel B,y col. Validación de procesos farmacéuticos. México: Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.y Benito David Couriel, 1986.
4. Carter L. O. Teoría e instrumentación, Ohio: The College of pharmacy Ohio State. University Colombus Ohio 1 -43
5. Chemical Abstracts,1983; 98:142.
6. Chemical Abstracts,1985;102:343
7. Secretaría general de los estados americanos. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. Cromatografía líquida de alta presión. Washington,D.C.1980;monografía 10 : 1-60
8. Daldrup T.Michalke P.Chromatogr. Chemical abstracts. Rep.Ger.Newsl: 1983; 98: 142
9. " Diccionario de especialidades farmacéuticas.publicaciones PLM , 40 edi.1994; 518,519; 1756
10. Galen W.E. Instrumental methods of chemical analysis 4a. Ed.USA. Mc. Graw - Hill book company,1975:: 338 - 411
11. Gessner G. Hawley, G.G. Diccionario de Química y de productos químicos. Barcelona: Ed.Omega,1995: 1170
12. Gobitz G., Mihellyes S. Journal of Cromatography. Elsevier Ciencias publishers B.V.:Amsterdam Printed in the Netherlands: 1984; 462 - 466.
13. Goodman G.A.,Rall T.W.,Nies A.S.,Taylor P., Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8a.ed. de. Panamericana, 1991: 236 - 246 Argntina 1986.
14. Ghuebitz G., Mihellyes S. Journal chomatogr Pharmaceutical Anal:Inst. pharm. chemm Karl - Franzens - Univ:1985; 102: 343
15. Guerra J. Noticias Técnicas. Validación de métodos analíticos por la FDA. Fondo de información y documentación para la industria fideicomiso en la nacional financiera,S.A.parte1. Pharm.Tech. 1986; 10: No.3: 74 - 76
16. Jaffe H.H., " Theory and aplicaciones of ultraviolet spectroscopic. Jhon Willey and Sons, USA :1962
17. Kennet A. C. Análisis farmace'utico.2a. de. Madrid: ed. Reverté, S.A., Dic.1985;7: No.12: 54,- 57, 29 - 31

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

18. Guerra J. Noticias Técnicas. El uso de instrumentos de control de calidad. Fondo de información y de documentación para la industria fideicomiso en la nacional financiera, S.A.1986.,10:No.3: 74 - 76
- 19.Filkenson M.J. Noticias Técnicas, Métodos analíticos de laboratorio. fondo de información y documentación para la industria fideicomiso en nacional financiera,S.A.parte 2. Pharm Tech de Marzo 1986; 10: No.3: 75 - 78
20. Pecsok R.L. " Métodos modernos de análisis químico,. México : ed. Limusa, 1977 : 61 - 66, 99 - 153
21. Shimadzu UV - Spectrophotometer, manual Basilea Suiza.
22. Snyder L.R., Kirkland, J.J., introduction to modern liquid chromatography.2a. Ed.Rahway,N.J.USA: 1983: 274, 812 - 853, 1258.
23. The Merck Index, Merck and Co. INC.10a.ed.Rahway, N.J. USA: 274, 812,853, 1258
24. The United States Pharmacopeia XXIII The National Formulary XVIII Pharmacopeia Convention, Inc. USA:1995 :1230 - 1231
25. Vogel A.I. Química analítica cuantitativa. 2a.ed.BuenosAires:Kapelusz,1969: 841 - 854.
26. Willard H.H. Lynne R. Merrit, Dean J.A.,métodos instrumentales de análisis, México: Compañía editorial Continental, S.A.,1881: 103 - 126