UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

ESCUELA DE QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

INCORPORADA A LA UNAM

VALIDACION DE LOS METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN "FLAGENASE 400", CAPSULAS POR ESPECTROFOTOMETRIA.

T E S I S

Que para obtener el Título de

LICENCIADA EN QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

MARIA ISABEL GARCIA CHAVEZ

Director de Tesis:

Q.F.B. Santiago A. Salazar López

MEXICO, D. F. 2001

CON CARIÑO A MIS PADRES: ISIDORO GARCIA MARTINEZ ELISA CHAVEZ VIUDA DE GARCIA, GETRUDIS MARTINEZ LOPEZ POR SU APOYO Y CONFIANZA QUE HA HECHO POSIBLE HABER LLEGADO A LA CONCLUSIÓN DE ESTA META.

A MIS HERMANAS ROSALINA, AMADA, ANGELICA. QUE FUERON UN APOYO Y ESTIMULO A LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

CON AGREDECIMIENTO AL DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD, LABORATORIOS LIOMONT, S.A POR DARME LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR ESTE TRABAJO.

IBQ. LUCIANO LOPEZ HORCASITA
QFB. MARCELA MORALES ESCUDERO
IBQ. ELBA QUIROZ MORENO

AL DEPARTAMENTO DE DESARROLLO Y TECNOLOGIA

QFB. NICASIO HERNANDEZ ALVARADO

POR SU ASESORIA Y POR SU EJEMPLO DE PROFESIONALISMO QUE CONSTITUIRA SIEMPRE COMO MI MEJOR GUIA

CON RESPETO Y ADMIRACION A

QFB. SANTIAGO A. SALAZAR LOPEZ
QFB. ESPERANZA HERNANDEZ KOELIG

QUE CONTRIBUYERON A LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

A MIS COMPAÑEROS QUE ME APOYARON MORALMENTE, PARA CUMPLIR CON ESTA META TRAZADA.

INDICE

INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La Capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos. El proceso de validación de un método en particular está basado en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

Los problemas que se presentan en el campo del análisis farmacéutico son cada día mayores debido al gran incremento de nuevos productos, con moléculas activas nuevas y excipientes novedosos, que requieren de métodos de análisis apropiados sin embargo, contamos ahora con instrumentación analítica más satisfactoria, de gran precisión y sensibilidad, que se nos pude ayudar a resolver los problemas analíticos que se nos presenten, siempre y cuando se elija la técnica apropiada.

La complejidad de algunas formas farmacéuticas nos exigen, métodos analíticos efectivos, rápidos, exactos, reproducibles y específicos que permita realizar una validación confiable de los principios activos en presencia de excipientes y productos de degradación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que el método analítico para valorar Metronidazol y Diyodohidroxiquinoleína en "FLAGENASE 400", Cápsulas se comporta de manera lineal, reproducible, exacta, preciso y específico.

OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Se determinará la linearidad construyendo una curva de calibración, utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución de la sustancia de referencia y deberá estar incluída la concentración seleccionada como 100%.

2.- Se determinará la precisión por medio de una solución de la sustancia de referencia con una concentración al 100 %.

3.- Se determinará la linearidad del método a partir de placebos cargados de cuando menos 3 diferentes cantidades de la sustancia de interés.

4.- Se determinará la exactitud por medio de 6 placebos cargados de manera independiente con una concentración al 100 %, utilizando el método propuesto haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

5.- Demostrar que la especificidad del método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés, sin que exista interferencia de sustancias presentes.

6-. La estabilidad se determinará mediante la comparación de los resultados, de los análisis iniciales de 3 muestras y estas almacenarlas, analizarlas bajo distintas condiciones: ambiente, refrigeración, protegidas de la luz. Utilizando una solución de la sustancia de referencia recientemente preparada, para cada tiempo establecido: cero horas, 6 horas, 12 horas y 24 horas.

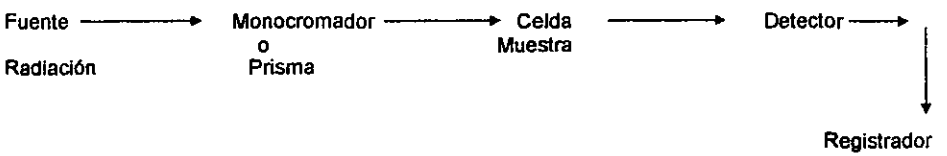
7-. Precisión (Reproductibilidad). Se determinará de una muestra homogénea del producto cercano al 100% de la concentración teórica, analizada por dos días y dos químicos diferentes.

GENERALIDADES

A) ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA Y VISIBLE

La espectrofotometría consiste en la medida de la absorbancia por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de ondas situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática.

La banda espectral se extiende desde las cortas longitudes de onda de la zona ultravioleta, hasta la zona visible del espectro y esta constituida por dos zonas la ultravioleta (190 nm - 380 nm) y la visible (380nm-780 nm). La espectrofotometría en la zona visible (antes solía llamarse colorimétrica).



Ley de Beer-Lambert. En la derivación de esta ley se supone que:

1) La radiación incidente es monocromática.

2) Las especies absorbentes actúan independientemente unas de las otras en el proceso de absorción.

3) La absorción ocurre dentro de un volumen de sección transversal uniforme.

$$A = Ebc$$

A = Absorbancia
E = Absortividad molar
b = Longitud de la celda
c = Concentración de la muestra

Espectro de absorción con relación entre la absorbancia y la longitud de onda cualesquiera de estas funciones representadas en forma gráfica, todos los espectros tienen una forma de detección de las diferentes frecuencias de radiación mediante una dispersión del haz con un prisma o rejilla, que producen un espectro de longitud de onda específico para cada muestra.

Disolventes más frecuentes para la región ultravioleta y visible son: agua, alcoholes metílico, etílico, isopropílico, cloroformo, dioxano, hexano, heptano, ciclohexano y soluciones diluidas de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido clorhídrico.

B) VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Validación, es la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado.

B.-1 LINEARIDAD

La linearidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

Criterio

Coeficiente de Variación

$CV \leq 1.5\%$

Coeficiente de Regresión Lineal (r)

Coeficiente de determinación (r^2)

$r \geq 0.99$, $r^2 \leq 0.98$

INTERVALO

El intervalo de un método analítico está definido por las concentraciones comprendidas, entre los niveles de concentración superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), en el cual ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

B.-2 EXACTITUD

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como él por ciento de recobro obtenido del análisis de muestras, a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Criterio

Coeficiente de Variación

CV $\leq$ 3%

B.-3 PRECISION

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar o del Coeficiente de Variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

Criterio

Coeficiente de Variación

CV $\leq$ 1.5 %

a)REPETIBILIDAD

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato y laboratorio).

b) REPRODUCIBILIDAD

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes, realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos).

Criterio

Coeficiente de Variación

CV $\leq$ 3 %

B.-4 ESPECIFICIDAD

Es la habilidad de un método analítico, para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Criterio

Verificar que los productos de degradación y sustancias relacionadas no interfieran con la cuantificación de la sustancia de interés utilizando el método desarrollado.

TOLERANCIA

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos, obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos y condiciones ambientales.

B.-5 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

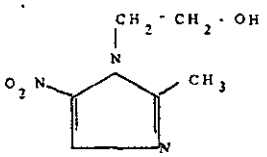
Es la propiedad, de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones especificas.

Criterio

Intervalo de confianza

IC ± 3 %

C) METRONIDAZOL



Peso molecular 171.16
$C_6H_9N_3O_3$
1-(2-Hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol

Contiene no menos del 99.0 por ciento y no más del 101 por ciento, de Metronidazol calculado con referencia a la sustancia seca.

Sustancia de Referencia. Metronidazol. Secar durante 2 horas, a 105°C.

Descripción. Polvo cristalino blanco o amarillo claro, estable al aire, se oscurece al exponerlo a la luz.

Solubilidad. Poco soluble en agua, etanol y cloroformo; ligeramente soluble en éter.

Ensayos de Identidad.

A. MGA 0351 (FEUM Sexta Edición). El espectro de absorción en la región infrarroja de la muestra en una dispersión con bromuro de potasio, exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que los de una preparación de la sustancia de referencia de manera similar. Figura 1. Espectro en la Región Infrarroja de la Sustancia de Referencia y Muestra de Metronidazol.

B. MGA 0361 (FEUM Sexta Edición).El espectro de absorción en la región al ultravioleta de la muestra en una solución (1:50000) preparada con una solución de ácido sulfúrico en metanol (1:350), exhibe máximos y mínimos, a las mismas longitudes de onda que los de una solución de referencia preparada de manera similar. Figura 2. Espectro en la Región Ultravioleta de la Sustancia de Referencia y Muestra de Referencia y Muestra de Metronidazol.

C. A 10 mg de la muestra agregar 1.0 ml de agua, 0.25ml de ácido clorhídrico y 10 mg de polvo de zinc y calentar en baño maria durante 5 minutos. Enfriar la mezcla en hielo. Agregar 0.5ml de solución de nitrito de sodio y eliminar el exceso de nitrito con ácido sulfámico. Agregar 0.5 ml de este producto a una mezcla de solución de 2-naftol y solución 0.5 M de hidróxido de sodio (0:5:2). Se produce una coloración roja - naranja.

Temperatura de Fusión. MGA 0471(FEUM Sexta Edición). Entre a 159°C Y 163°C.

Pérdida por Secado. MGA 0671(FEUM Sexta Edición). No más de 0.5%. Secar durante 2 horas a 105°C.

Residuo de la Ignición. MGA 0751(FEUM Sexta Edición). No más de 0.1%.

Metales Pesados. MGA 0561(FEUM Sexta Edición). Método II No más de 50 ppm. Disolver el residuo obtenido de la prueba de residuos de la ignición en 1.0 ml de ácido clorhídrico, evaporar a sequedad y disolver en 25 ml de agua.

Sustancias No Básicas. Disolver 1.0 g de la muestra en 10 ml de la solución de ácido clorhídrico (1:2). La solución debe ser clara.

Sustancias Relacionadas. MGA 0241 (FEUM Sexta Edición). Capa delgada.

Soporte. Placa de vidrio cubierta con una capa de gel de sílice G_{254} de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil. Mezcla de cloroformo - dietilamina - etanol -agua (80:10:10:1).

Preparación de la muestra. Preparar una solución de la muestra en acetona a concentración de 10 mg/ml (1) y otra con una concentración de 0.03 mg/ml (2).

Procedimiento. Aplicar por separado, en la placa, 20 µl de las soluciones (1) y (2). Introducir la placa en la cámara cromatográfica conteniendo la fase móvil. Dejar ascender el disolvente, sacar la cromatoplaca, dejar evaporar y observarla bajo lámpara de luz ultravioleta a 254 nm.

Valoración. MGA 0991 (FEUM Sexta Edición). Disolver 100 mg de la muestra en 20 ml de anhídrido acético y calentar ligeramente hasta su disolución. Enfriar, agregar 1 gota de SI de verde de malaquita y titular con solución 0.1N de ácido perclórico hasta la aparición de un color verde - amarillo. Realizar una prueba en blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de la solución 0.1N de ácido perclórico equivale a 17.12 mg de Metronidazol.

Conservación. En recipientes cerrados y protegidos de la luz.

Figura 1. Espectro en la Región Ultravioleta de la Sustancia de Referencia y Muestra de Metronidazol.

A = Metronidazol Estándar Primario. Lote: 18 B6

B = Metronidazol Muestra. Lote: 960470

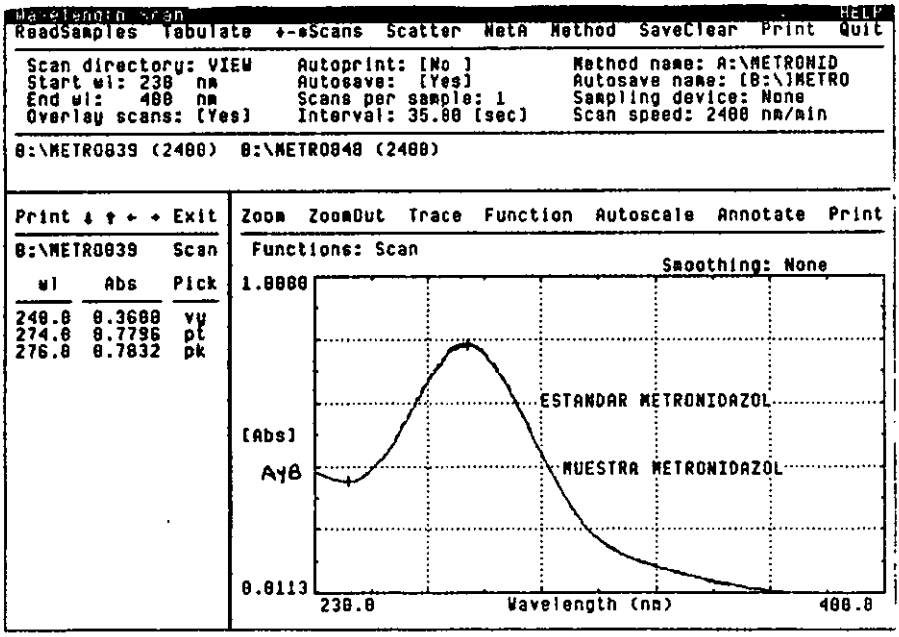
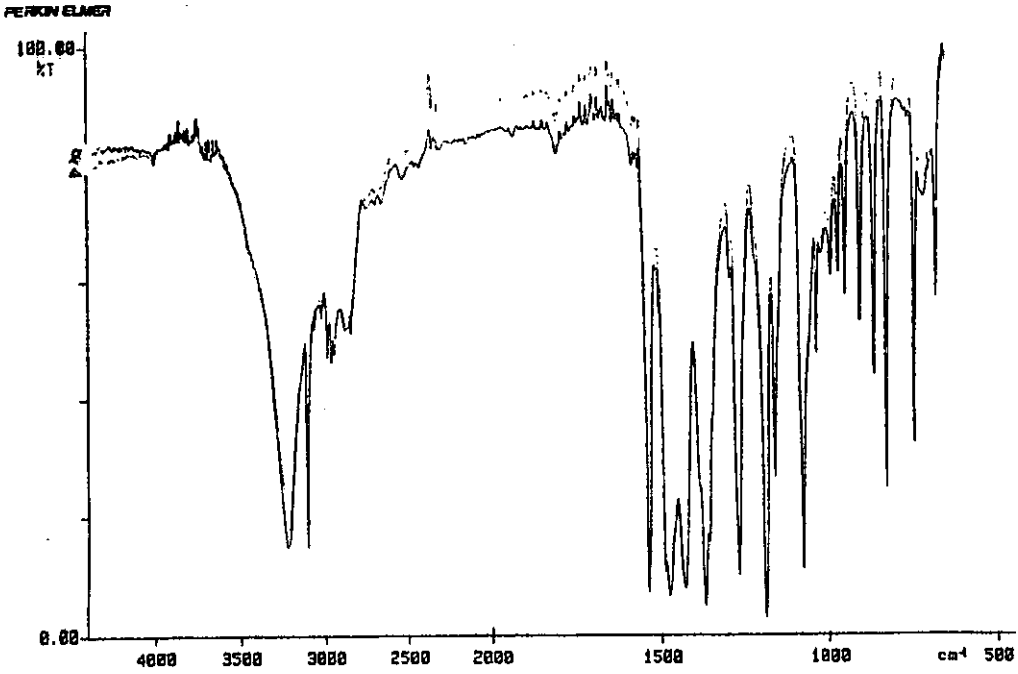


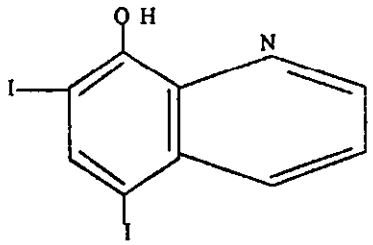
Figura 2. Espectro en la Región infrarroja de la Sustancia de Referencia y Muestra de Metronidazol.

A = Metronidazol Estándar Primario. Lote: 18 B6

B = Metronidazol Muestra. Lote: 960470



D) DIYODOHIDROXIQUINOLEÍNA



Peso molecular 396.97
$C_9H_5I_2NO$
8-Hidroxi-5,7-diyodoquinoleína

Contiene no menos de 96 por ciento de Diyodohidroxiquinoleína, calculada sobre la sustancia seca.

Sustancia de Referencia. Diyodo-8-hidroxíquinoleina.

Descripción. Polvo microcristalino amarillo oscuro que no se moja rápidamente por agua. Inodoro o con olor débil, estable al aire.

Solubilidad. Poco soluble en alcohol y éter casi insoluble en agua.

Ensayos de Identidad

A. MGA 0351 (FEUM Sexta Edición). Espectro de absorción al infrarrojo de una dispersión de la muestra en bromuro de potasio, exhibe máximos solamente a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de la sustancia de referencia. Figura 3. Espectro en la Región Infrarroja de la Sustancia de Referencia y Muestra de diyodohidroxiquinoleína

B. Calentar una pequeña cantidad de muestra con 1ml de ácido sulfúrico, se desprenden vapores de yodo.

Pérdida por Secado. MGA 0671(FEUM Sexta Edición). No más de 0.5%. Secar durante 4 horas sobre gel de silice.

Residuo de la Ignición. MGA 0751 (FEUM Sexta Edición). No más de 0.5%

Yodo Libre. Agitar un gramo de la muestra con 20 ml de agua, durante 30 segundos, dejar reposar 5 minutos, filtrar a 10ml de filtrado agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluído, 2 ml de cloroformo, y agitar. El cloroformo no adquiere coloración violeta.

Yoduros Libres. No más de 500 ppm. Al resto del filtrado del ensayo anterior agregar 5 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 ml de solución reactivo de dicromato de potasio, agitar por 15 segundos. La capa clorofórmica adquiere coloración que es cuando más, tan intensa como la producida en una prueba de control que se prepara de la siguiente forma. Diluir 2 ml de solución de yoduro de potasio 1 en 6000 con agua hasta 10 ml, agregar 6 ml de ácido sulfúrico diluido, 1 ml de solución reactivo de dicromato de potasio, 2 ml de cloroformo, agitar durante 15 segundos.

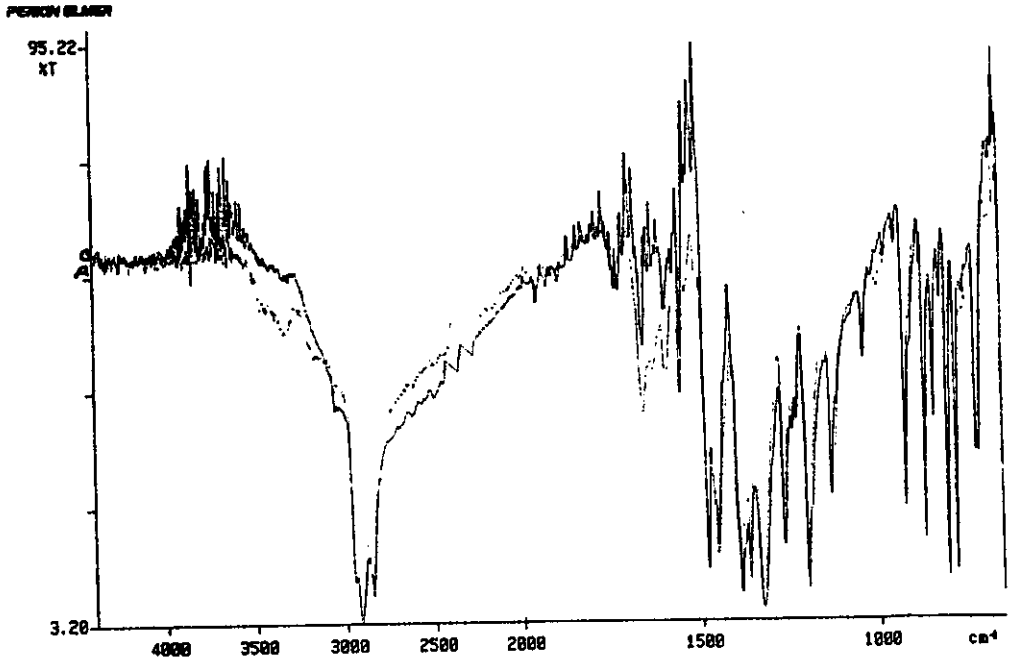
Valoración. MGA 0991 (FEUM Sexta Edición). Pasar 200 mg de muestra secada previamente sobre gel de sílice por 4 horas, a un matraz Erlenmeyer de 500 ml, humedecer con 1 ml alcohol, agregar 15 ml solución reactivo de hidróxido de sodio, agregar algunas perlas de vidrio. Colocar un pequeño embudo de tallo corto en el cuello del matraz y hervir lentamente para eliminar el alcohol. Agregar 25 ml de una solución 1 en 15, de permanganato de potasio y hervir lentamente por 10 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y lavar el embudo y las paredes de matraz con 75 ml de agua, agregar 10 ml de solución de ácido sulfúrico 1 en 2. Agregar una porción de 15 ml de solución de bisulfito de sodio 1 en 5, cuando la solución sea incolora, enfriar y agregar solución de permanganato de potasio, gota a gota, hasta que la solución adquiera un color amarillo, otra vez agregar solución de bisulfito de sodio, gota a gota, hasta que el color amarillo de la solución desaparezca. Después agregar, gota a gota, una solución diluida de permanganato de potasio preparada mezclado 1 ml de una solución 1 en 15 con 49 ml de agua hasta que un tenue color amarillo aparezca. Agregar 0.5 ml de solución indicadora de almidón y titular con solución 0.05N de tiosulfato de sodio hasta que el color azul desaparezca produciendo un precipitado amarillo claro. Cada mililitro de solución 0.05 N de tiosulfato de sodio equivalente a 9.924 mg de $C_8H_5I_2NO$.

Conservación. En recipientes bien cerrados.

Figura 3. Espectro en la Región Infrarroja de la Sustancia de Referencia y Muestra de Diyodohidroxiquinoleína.

A = Diyodohidroxiquinoleína Estándar Primario. Lote: 24 A8

B = Diyodohidroxiquinoleína Mustra. Lote: 960470



E) METRONIDAZOL

Metronidazol es antibacteriano y antiprotozoario. Es activo contra la mayoría de las bacterias anaerobios y protozoarios a través de provocar una reacción química reductora intracelular, por mecanismo único del metabolismo anaerobio. El Metronidazol reducido es citotóxico de vida corta. Interaccionando con el DNA lo que causa una inhibición de la síntesis de ácido nucleico y la muestra celular.

El Metronidazol se absorbe bien por vía oral y su biodisponibilidad es hasta del 80 por ciento. Se distribuye ampliamente en todos los tejidos y líquidos corporales. Cruza la barrera plancentaria y también la barrera hematoencefálica. Después de su administración oral en dosis de 250 mg, 500 mg, y 2 g su pico máximo de concentración es de 1 a 2 horas. Su unión a proteínas es baja < 20 por ciento biotransformación es hepática y se metaboliza principalmente por oxidación. Sus metabolitos también son activos.

Excreción

El Metronidazol así como sus metabolitos se excretan en la orina que puede tomar un tinte rojizo y la cantidad excretada en 5 días es alrededor del 90 por ciento de Metronidazol. El Metronidazol también se elimina en la leche materna.

Toxicidad

Las manifestaciones digestivas consisten en anorexia, sabor metálico desagradable en la boca, náuseas, vómitos y a veces cólicos y diarrea. Trastornos nerviosos, mareos, cefalea, somnolencia y manifestaciones cutáneas de origen alérgico consisten en erupción, urticaria y prurito. La reacción disulfirámica que se observa en pacientes que reciben Metronidazol e ingieren alcohol, consiste en enrojecimiento y calor en la cara, cefalea, y a veces descenso de la presión arterial; No son reacciones adversas graves y ceden al disminuir la dosis o interrumpir el tratamiento.

Contraindicaciones

No debe administrase Metronidazol en mujeres embarazadas, sobre todo en el primer trimestre y en las que lactan.

F) DIYOHIDROXIQUINOLEÍNA

- Se absorbe muy poco en el tracto gastrointestinal, consecuentemente el compuesto es especialmente efectivo en el intestino por su presencia en la luz.

La Diyodohidroxiquinoleína es una hidrohidroxiquinoleína halogenada, 8-hidroxiquinoleina activa sobre la forma móvil y los quistes Entamoeba histolytica su efectividad para eliminar los quistes se basa en su capacidad para destruir los trofozoitos, con lo cual se evita la reinfección: La diyodohidroxiquinoleína actúa solamente en la amebiasis intestinal ya sea en la luz como en la superficie mucosa.

Excreción

Las Iodoquinoleinas liberan parcialmente al yodo que es captado especialmente por la glándula tiroides. La biotransformación consiste en la conjugación con ácido glucorónico y la mayor parte de la diyodohidroxiquinoleína absorbidas se excretan en la orina como glucurónido.

Toxicidad

Las hidroxiquinoleínas halógenas son en general poco tóxicas sin embargo son capaces de provocar trastornos digestivos y neurológicos. Manifestaciones gastrointestinales son las más comunes observadas y consisten en náuseas, cólicos, prurito anal y diarrea. El Iodismo presenta trastornos leves y ceden rápidamente al suprimir el tratamiento y no requieren medidas especiales.

Contraindicaciones

No es recomendable cuando existen lesiones hepáticas salvo en el absceso amebiano del hígado, en que se utiliza junto con los fármacos antiamébianas tisulares.

G) METODOLOGÍA

REACTIVOS

Metronidazol USP Sustancia de Referencia
diyodohidroxiquinoleína USP Sustancia de Referencia
Dimetilformamida
Etanol 96%
Cloruro férrico 9 %

MATERIAL

Matraces volumétricos de vidrio de borosilicato con capacidad 100 ml, 10 ml
Pipetas volumétricas de vidrio de borosilicato con capacidad para 1 ml, 3 ml
Embudos de filtración rápida
Mortero con pistilo de porcelana
Papel Whatman 41

EQUIPO

Balanza analítica Sartorius Basic
Parrilla de agitación de 6 plazas Lab-Line-Mutilmagnestir N. 1278
Espectrofotómetro U.V. DU-68 Beckman

Método analítico

Preparación de la Sustancia de Referencia

Pesar alrededor de 80 mg de Metronidazol y 40 mg de Diyodohidroxiquinoleína, colocarlos en un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 35 ml de dimetilformamida agitar mecánicamente durante 20 minutos, completar el aforo con etanol 96% y homogenizar

Metronidazol

De la dilución anterior, tomar una alícuota de 1 ml y depositarla en un matraz volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con etanol 96% y homogeneizar. (Concentración teórica 8.0 mcg/ml).

De la primera dilución tomar una alícuota de 3 ml y depositarla en un matraz volumétrico de 10 ml, adicionar 0.5 ml de cloruro férrico 9 % completar el aforo con etanol 96 % y homogeneizar. (concentración teórica 120.0 mcg/ml).

Solución Problema

Tomar no menos de 20 cápsulas y determinar su peso promedio, con ayuda de un mortero con pistilo de porcelana, vaciar el contenido y homogeneizar. Pesar exactamente 130 mg de la mezcla de polvo, colocarlos en un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 35 ml de dimetilformamida, agitar mecánicamente durante 20 minutos, completar el aforo con etanol 96 %, homogenizar y filtrar a travéz de papel whatman del No.41 desechando los primeros mililitros.

Metronidazol

De la dilución anterior tomar una alícuota de 1 ml y colocarlos en matraz volumétrico de 100 ml, completar el aforocon etanol 96 % y homogeneizar. (concentración teórica 8.0 mcg/ml).

Determinar las absorbancias de la solución de referencia y de la solución problema a una longitud de onda de 310 nm, empleando etanol al 96 % como blanco de ajuste en celdas de 1.0 cm.

Diyodohidroxiquinoleína

Del filtrado de la primera dilución tomar una alícuota de 3 ml, colocarla en un matraz volumétrico de 10 ml, adicionar 0.5 ml de cloruro férrico al 9 %, completar el aforo con etanol 96 % y homogeneizar. (concentración teórica 120.0 mcg/ml).

Una longitud de onda de 638 nm, empleando etanol 96 % como blanco de ajuste en Determinar la absorbancias de la solución de referencia y de la solución problema, a celda de 1.0 cm.

Cálculos para Metronidazol

% Metronidazol. ABS PB/ABS REF X [ST] / [PB] X Pureza

Donde:

ABS PB = Absorbancia de la solución problema

ABS REF= Absorbancia de la solución de referencia

[PB] = Concentración de la solución problema

[ST] = Concentración de la solución de referencia

Pureza = % de Pureza de la solución de referencia

Cálculos para Diyodohidroxiquinoleína

%Diyodohidroxiquinoleina: ABS PBI/ AB REF X [ST] / [PB] X Pureza ST

Donde:

ABS PB = Absorbancia de la solución problema

ABS REF = Absorbancia de la solución de referencia

[PB] = Concentración de la solución problema

[ST] = Concentración de la solución de referencia

Pureza = % de Pureza de la sustancia de referencia

Especificidad Metronidazol

Desarrollo del método

Fase móvil: preparar una mezcla de agua y metanol (80:20), hacer ajuste, si fuera necesario.

Solucón de referencia. Disolver una cantidad exactamente pesada de Metronidazol en fase móvil, para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 0.5 mg por ml.

Preparación Muestra: Transferir 10 tabletas enteras o molidas, a un matraz volumétrico de tamaño apropiado con una concentración de aproximadamente 10 mg por ml. Agregar metanol y agitar mecánicamente durante 30 minutos o hasta que las tabletas se desintegren. Diluir a volumen con metanol y dejar reposar la solución hasta que el material insoluble haya sedimentado. Pipetear 5.0 ml del líquido sobrenadante transparente en un matraz volumétrico de 100 ml, diluir a volumen con fase móvil mezclar y filtrar la solución.

Sistema Cromatográfico: Equipar el cromatógrafo de líquidos con un detector de 254nm y una columna de 6mmx15cm con fase estacionaria L7. La velocidad de flujo es de aproximadamente 1 ml por minuto. Cromatografiar la solución de referencia y de la muestra y registrar la respuesta de los picos, según se indica en el procedimiento: el factor de asimetría no es mayor de 2 y la desviación estándar relativa para inyección repetidas no es mayor de 2 %. Procedimiento: Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 10 microlitros) de la preparación estándar y la preparación muestra en el cromatógrafo, registrar los cromatogramas.

Calculos

10 (L/D) C (r [U] / r [S])

L = Es la cantidad declarada, en mg, de Metronidazol en cada Tableta.

D = Es la concentración, en mg por ml, de Metronidazol en la preparación muestra en base a la cantidad declarada por tableta y el grado de dilución.

C = Es la concentración, en mg por ml, de Metronidazol de la solución de referencia.

r [U] y r [S] = Son las respuestas de los picos de Metronidazol obtenidas a partir de la preparación de la muestra y la solución de referencia, respectivamente.

Especificidad Diyodohidroxiquinoleína

Desarrollo del método

Fase móvil: Metanol: Acido ortofosfórico 0.05M (75:25).

Solución de referencia: pesar alrededor de 20mg de Diyodohidroxiquinoleína transferirlos a un matraz volumétrico de 50 ml, adicionar metanol someter a la acción del ultrasonido durante quince minutos y ajustar a 50 ml con metanol mezclar, y tomar una alicuota de 5ml y transferirlos a un matraz volumétrico de 10 ml y aforar con metanol.

Preparación de la Muestra: Pesar no menos de 10 cápsulas calcular el contenido neto promedio y mezclar los contenidos, pesar una cantidad equivalente a 20 mg de DHQ, a un matraz volumetrico de 50 ml, agregar 15 ml de metanol someter a la acción del ultrasonido durante 15 minutos y llevar al aforo con metanol mezclar y filtrar, Tomar una alicuota de 5 ml transferir a un matraz volumetrico de 10 ml y aforar con metanol.

Sistema Cromatográfico. Equipar el cromatografo de liquidos con un detector de 254 nm y una columna Bondapak C 18. L a velocidad de flujo es de aproximadamente 3 ml por minuto.

Procedimiento. Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 10 microlitros) de la solución de referencia y la preparación de la muestra en el cromatografo y medir las respuestas de los picos.

Calculos

10 (L/D) C (r [U] / r [S])

L = Es la cantidad declarada, en mg, de Diyodohidroxiquinoleína

D = Es la concentración en mg por ml, de Diyodohidroxiquinoleína en la preparación muestra en base a la cantidad declararada por cápsula y el grado de dilución.

C = Es la concentración , en mg por ml, de Ddiyodohidroxiquinoleína de la solución de referencia.

r[U] y r [S] = Son las respuestas de los picos de metronidazol obteinidas a partir de la preparación de la muestra y la solución de referencia, respectivamente.

RESULTADOS

ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS.

D E P A R T A M E N T O	:	ASEGURAMIENTO DE CALIDAD
NOMBRE DEL PRODUCTO	:	"FLAGENASE 400", CÁPSULAS
FORMA FARMACEUTICA	:	CAPSULAS
NOMBRE DEL ACTIVO	:	METRONIDAZOL
METODO D E ANALISIS	:	ESPECTOFOTOMETRIA U V.
APLICACION DEL METODO		PRODUCTO TERMINADO

B.1 LINEARIDAD DEL SISTEMA DE MEDICION.

	FACTOR DE CON.	FACTOR DE RES.		TOTAL			
(%)	METRONIDAZOL	METRONIDAZOL					
	B. MET.	ABC B. MET.		(Yi)	(X^2)	(Y^2)	(XY)
	(X)	(Y)					
50	4.0400	0.2685	Yi TOTAL=	0.7740	16.3216	0.0710	1.0767
50	4.0400	0.2685	Yi^2TOTAL=	0.5991	16.3216	0.0721	1.0847
50	4.0400	0.2390	MEDIA=	0.2580	16.3216	0.0571	0.9656
75	6.0600	0.3715	Yi TOTAL=	1.1150	36.7236	0.1380	2.2513
75	6.0600	0.3705	Yi^2TOTAL=	1.2432	36.7236	0.1373	2.2452
75	6.0600	0.3730	MEDIA=	0.3717	36.7236	0.1391	2.2604
100	8.0800	0.4905	Yi TOTAL=	1.4635	65.2864	0.2406	3.9632
100	8.0800	0.4865	Yi^2TOTAL=	2.1418	65.2864	0.2367	3.9309
100	8.0800	0.4865	MEDIA=	0.4878	65.2864	0.2367	3.9309
125	10.1000	0.6315	Yi TOTAL=	1.8050	102.0100	0.3988	6.3782
125	10.1000	0.5740	Yi^2TOTAL=	3.2580	102.0100	0.3295	5.7974
125	10.1000	0.5995	MEDIA=	0.6017	102.0100	0.3594	6.0550
150	12.1200	0.7090	Yi TOTAL=	2.1205	146.8944	0.5027	8.5931
150	12.1200	0.7025	Yi^2TOTAL=	4.4985	146.8944	0.4935	8.5143
150	12.1200	0.7090	MEDIA=	0.7068	146.8944	0.5027	8.5931

ATOS	15	SUMA DE X =	121.2	SYi^2TOTAL =	11.7367	r	3.0000
(SX)^2=	14689.4400	SUMA DE Y =	7.278	SX^2=	1101.7080	t	5.0000
(SY)^2 =	52.9993	SUMA DE XY =	65.6399	SY^2=	3.9151	r^t	15.0000
MEDIA	4.04	MEDIA AL 75 %=	6.06	MEDIA AL 100 %=	8.0800	MEDIA AL 125 %=	10.1000
PENDIE	5.583E-02	ORDENADA (b)=	3.413E-02	SCR =	0.3815	LA MEDIA DE X=	6.0800
SCE	2.363E-03	SCEP =	2.25E-03	SCFA =	0.0001	"t " DE TABLAS=	2.1604
r^2	0.9938	SX.Y=	1.35E-02	Sb=	0.0099	MEDIA AL 150 %=	12.1200
LIMITE INF.DEL I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			1.285E-02	L.S. I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			0.0554

TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS
REGRESION	1	0.3815	0.3815	2098.5212	4.6700
ERROR DE REG.	13	2.36E-03	0.0002		
FALTA DE AJUSTE	3	1.18E-04	0.0000	0.1748	3.7100
ERROR PURO	10	2.25E-03	0.0002		

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA LINEARIDAD DEL SISTEMA

1. LA RELACION ENTRE LA CONCENTRACION Y LA RESPUESTA DEBE SER ALTAMENTE SIGNIFICATIVA

Si Fcal Existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

Si Fcal No existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

Si Ffaca Existe falta de ajuste a la relación lineal simple;cantidad adicionada-propiedad medida.

Si Ffaca No existe falta de ajuste a la relación lineal simple;cantidad adicionada propiedad medida.

POR LO EXISTE UNA RELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA PROPIEDAD MEDIDA.

NO EXISTE FALTA DE AJUSTE A LA RELACION LINEAL SIMPLE CANTIDAD ADICIONADA - PROPIEDAD MEDIDA.

2 CRITERIO PARA LA ORDENADA.

Ho: La ordenada al origen es igual a cero.

H1: La ordenada al origen es diferente de cero.

(X-Med	40.6040	SX,Y=	1.35E-02	"t" CALCULADA=	2.8129

Región de aceptación: Si t(tabs;n-2;0.025) < t cal< t(tab;n-2;0.975)

-2.306 < 2.61E+00 < 2.3060

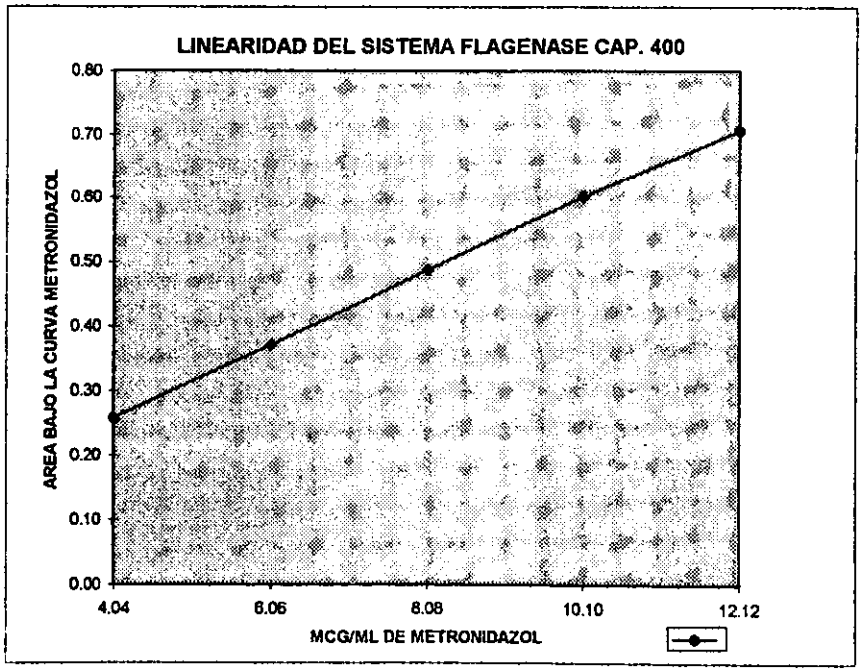
POR LO TANTO : LA ORDENADA AL ORIGEN ES IGUAL A CERO.

3. CRITERIO PARA LA CORRELA 2

Coeficiente de determinación (r) mayor o igual a 0.98

POR LO TANTO EXISTE CORRELACION

HOJA DE GRAFICA



CONCLUSIONES EL SISTEMA DE MEDICION ES LINEAL

B.1 LINEARIDAD DEL METODO DE MEDICION.

(%)	(X)	(Y)	TOTAL (Yt)	(X^2)	(Y^2)	(XY)
80	6.4300	6.4040	19.3340	41.3449	41.0112	41.1777
80	6.4040	6.4040	373.6036	41.0112	41.0112	41.0112
80	6.5260	6.5260	6.4447	42.5887	42.5887	42.5887
100	7.9900	7.8930	23.8430	63.8401	62.2994	63.0951
100	8.0500	7.9790	568.4886	64.8025	63.6844	64.2310
100	8.0000	7.9710	7.9477	64.0000	63.5368	63.7680
120	9.6840	9.6710	28.8890	93.3929	93.5282	93.4805
120	9.6100	9.6410	634.5743	92.3521	92.9489	92.6500
120	9.6300	9.5770	9.6297	92.7369	91.7189	92.2265

DATOS =	9	SUMA DE X=	SY^2TOTAL =	1776.666526	r=	3.00
(SX)^2=	5227.868416	SUMA DE Y	SX^2=	596.069288	t=	3.00
(SY)^2 =	5193.508356	SUMA DE XY	SY^2=	592.30789	r*t=	9.00
MEDIA AL 80 % =	6.453333333	MEDIA AL 100	MEDIA AL 120 %=	9.634666667		
PENDIENTE (m)=	1.001411457	ORDENADA (b)	SCR =	15.2379	LA MEDIA DE X=	8.0338
SCER =	1.35E-02	SCEP =	SCFA =	5.59E-03	"t" DE TABLAS=	2.3646
r^2 =	0.999117331	SX.Y=	Sb=	9.16E-02	DST Y =	1.3016
L.I.I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			L.S.I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			0.1787

TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA				
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F
REGRESION	1	15.23794405	7923.49	5.59
ERROR DE REG.	7	1.92E-03		
FALTA DE AJUSTE	1	5.59E-03	1.76	5.99
ERROR PURO	6	3.17E-03		

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA LINEALIDAD DEL METODO DE MEDICION

1. LA RELACION ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA CANTIDAD RECUPERADA DEBE SER ALTAMENTE SIGNIFICATIVA

Si Fcal>=Ftabs Existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

Si Fcal<Ftabs No existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

Si Ftacal>=Ftabs existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada- cantidad recuperada

Si Ftacal<Ftab no existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada- cantidad recuperada.

POR LO TANTO:

EXISTE UNA RELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA CANTIDAD RECUPERADA.

NO EXISTE FALTA DE AJUSTE A LA RELACION LINEAL SIMPLE CANTIDAD ADICIONADA - CANTIDAD RECUPERADA.

2. CRITERIO PARA LA PENDIENTE.

Ho: La pendiente es igual a uno.

H1 La pendiente es diferente de uno.

Sy/x = 4.39E-02 t CALCULADA= -0.118506247

REGION DE ACEPTACION: Si t(tab;n-2;0.025)<tcal< t(tab;n-2;0.975)

-2.3646 < -0.1185

POR LO TANTO: LA PENDIENTE ES IGUAL A UNO.

3. CRITERIO PARA LA ORDENADA.

Ho:LA ORDENADA AL ORIGEN ES IGUAL A CERO.

H1.LA ORDENADA AL ORIGEN ES DIFERENTE DE CERO.

(Xi-MEDX)^2= 5.0611 T CALCULADA =

REGION DE ACEPTACION: SI t(tab;n-2;0.025)<tcal< t(tab;n-2;0.975)

-2.3646 < 2.38E-01

POR LO TANTO: LA ORDENADA AL ORIGEN ES IGUAL A CERO.

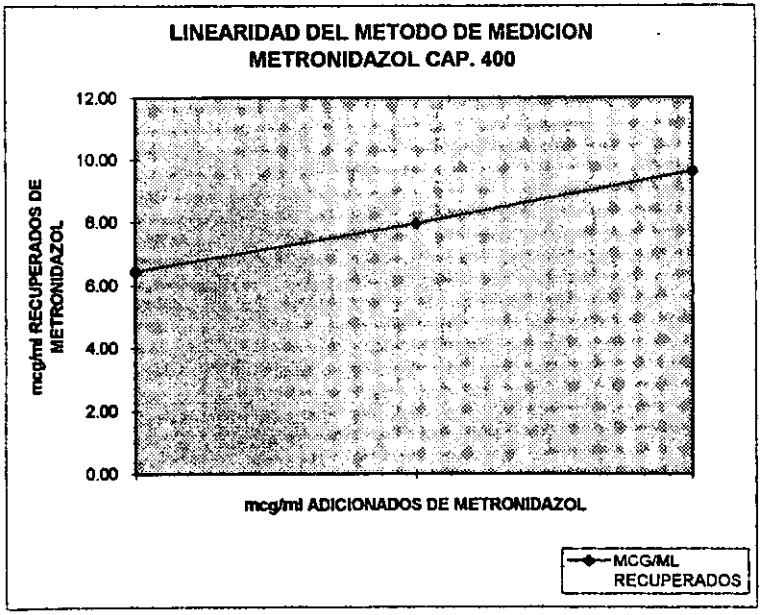
4 CRITERIO PARA LA CORRELACION.

Coeficiente de determinaci¢n (r^2) mayor o igual a 0.98

POR LO TANTO: EXISTE CORRELACION.

HOJA DE GRAFICA

CONCLUSIONES : EL METODO DE MEDICION ES LINEAL.



B.2 EXACTITUD DEL METODO AL 100%

mcg/ml ADICIONADOS METRONIDAZOL	FACTOR DE RESPUESTA	(%) RECUPERADO (Y)	mcg/ml RECUPERADOS METRONIDAZOL	(Y^2)
8.0200	0.4555	100.6900	8.0700	10138.4761
8.0300	0.4567	100.8400	8.0900	10168.7056
7.9000	0.4469	100.2900	7.9200	10058.0841
8.0100	0.4511	99.8500	7.9900	9970.0225
8.0200	0.4465	98.7100	7.9100	9743.8841
8.0200	0.4498	99.44	7.9700	9888.3136

SUMA DE Y^2=	59967.2850	LA MEDIA DE Y=	99.9700
DESV STD =	0.8075	NUMERO DE DATOS=	6.0000
LIMITE INFERIOR DEL I.C. PARA EL % RECUPERADO=			99.1225

SUMA DE Y=	599.8200	RAIZ DE 6	2.4495
t STUDENT(tab)=	2.5706	T CALCULADO	0.0910
LIMITE SUPERIOR DEL I.C. PARA EL % RECUPERADO=			100.8175

CONTRASTE DE HIPOTESIS.

Ho: LA MEDIA ES IGUAL AL 100 %.

H1:LA MEDIA ES DIFERENTE DEL 100 %.

REGION DE ACEPTACION

Si t(tab;n-1;0.025) < t(cal) < t(tab;n-1,0.975)

-2.5706 0.0910 2.5706

CONCLUSIONES:	EL METODO ES EXACTO.

B.3 PRECISION					
	FACTOR DE			NUM. DE DATOS =	6.0000
	RESPUESTA				
		SY^2			
			LA MEDIA DE Y=	0.4556	
	0.454	0.2057			
	0.459	0.2107	SUMA DE Y^2=	1.2454	
	0.456	0.2079			
	0.453	0.2052			
	0.458	0.2093	SUMA DE (Y)^2=	7.4720	
	0.455	0.2066			
	SUMA DE LAS Y=	2.7335	DESVIACION ESTANDAR DE Y =		0.0024
		EL COEFICIENTE DE VARIACION OBTENIDO		=	0.5167
CRITERIO:					
EL COEFICIENTE DE VARIACION DEBE SER MENOR O IGUAL A			1.50	%	
COEFICIENTE OBTENIDO=			0.5167	%	
CONCLUSIONES:	EL SISTEMA DE MEDICION ES PRECISO				

B 3 PRECISION DEL METODO DE MEDICION.

		SYi..=	597.68	Yij.=	297.97
	SUMA Q1,Q2,D1 =	SYi. =	600.47	Yij..=	299.71
		Y. .=	1198.15	Yij. =	300.87
		SYi^2/bc=	119630.9339	Yij....=	299.6
	598.64	SSSYijk^2=	119633.0665	SYj^2/ac=	119630.3036
		SCq=	0.6487	Y. .^2/abc=	119630.2852
	599.31	SCd=	0.0184	SSYij. ^2/c=	119631.7073
		SCe=	1.3592	SCq-d=	0.7550

	QUIMICO 1	2
D 1	99.23	99.84
I	99.55	100.54
	99.19	100.69
A 2	99.91	100.37
	99.75	99.94
	100.05	99.29
	597.68	600.47

		TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA			
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS
QUIMICO	1	0.6487	0.6487	0.8592	161.40
DIA	1	0.0184	0.0184	0.0244	161.40
INTERACCION Q-D	1	0.7550	0.7550	4.4438	5.32
ERROR	8	1.3592	0.1699		

MEDIA TOTAL= 99.8458 SD TOTAL= 0.5028 C.V. TOTAL 0.5036

1) Si Fqcal<Fqtab(glq,glqd;0.0 No existe efecto por qu¡mico

2) Si Fdcal<Fdtab(gld,glqd,0.0 No existe efecto por d¡a.

3) Si Fqdcal<Fqdtab(glqd;gle; No existe efecto por interaccaf n qu¡mico-d¡a

CONCLUSIONES.

NO EXISTE EFECTO POR QUIMICO

NO EXISTE EFECTO POR DIA.

NO EXISTE EFECTO POR LA *INTERACCION* QUIMICO - DIA

POR LO TANTO: EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR QUIMICOS DISTINTOS EN DIFERENTES DIAS.

CRITERIO PARA REPETIBILIDAD:

SI EL COEFICIENTE DE VARIACION TOTAL ES <= AL 3% EL METODO SE CONSIDERA REPETIBLE.

POR LO TANTO EL MÉTODO ANALÍTICO ES REPRODUCIBLE POR QUIMICOS EN DIFERENTES DIAS

CONCLUSIONES: EL METODO ANALITICO ES REPETIBLE.

B.-4 ESPECIFICIDAD

La muestra BLANCO, no presenta interferencia en la absorvancia a 310 nm

La muestra PLACEBO , no presenta interferencia en la absorvancia a 310 nm

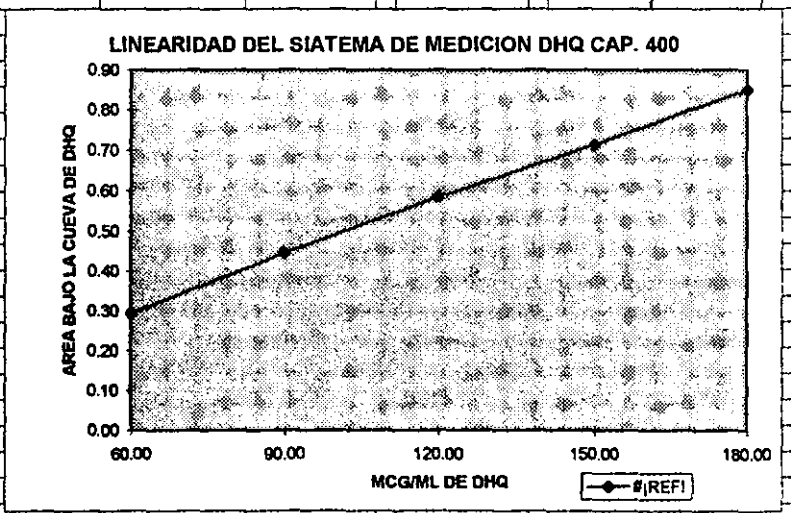
CONCLUSIONES: EL METODO ANALITICO ES ESPECIFICO.

B.5 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA						
MUESTRA		%	TEMPERATURA AMBIENTE		TEMPERATURA AMBIENTE	
			MATRAZ TRANSPARENTE		MATRAZ ACTINICO	
NUMERO		INICIAL				
			6 HORAS	24 HORAS	6 HORAS	24 HORAS
1		100.0900	99.39	99.29	101.34	99.51
2		99.8900	99.72	99.27	100.44	98.91
3		99.4100	100.28	99.80	99.39	100.60
DESVIACION ESTANDAR =			1.2076	1.2076	1.2462	1.2832
MEDIA =			99.7967	99.7350	100.0933	99.7350
COEF DE VARIACION CALCULADO =			1.2101	1.2108	1.2450	1.2866
COEF DE VARIACION TEORICO =			2.0000			
DECISIONES			ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
						99.3900
						99.7200
						100.2800
						100.0900
						99.8900
						99.4100
			DES STDS		=	1.2076
			MEDIA		=	99.7967
			C.V CAL		=	1.2101
			C.V EST		=	2.0000

B.5 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA						
MUESTRA		%	TEMPERATURA AMBIENTE		REFRIGERACION	
			MATRAZ TRANSPARENTE		MATRAZ ACTINICO	
NUMERO		INICIAL				
			6 HORAS	24 HORAS	6 HORAS	24 HORAS
1		100.0900	99.39	99.29	100.75	100.69
2		99.8900	99.72	99.27	101.23	99.84
3		99.4100	100.28	99.80	101.74	99.96
DESVIACION ESTANDAR =			1.2076	1.2076	1.2462	1.2832
MEDIA =			99.7967	100.0133	100.5183	100.0133
COEF DE VARIACION CALCULADO =			1.2101	1.2075	1.2398	1.2830
COEF DE VARIACION TEORICO =			2.0000			
DECISIONES			ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
						99.3900
						99.7200
						100.2800
						100.0900
						99.8900
						99.4100
			DES STDS		=	1.2076
			MEDIA		=	99.7967
			C.V. CAL		=	1.2101
			C.V. EST		=	2.0000

ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS.						
D E P A R T A M E N T O :		ASEGURAMIENTO DE CALIDAD				
NOMBRE DEL PRODUCTO :		"FLAGENASE 400", CAPSULAS				
FORMA FARMACEUTICA :		CAPSULAS				
NOMBRE DEL ACTIVO :		DIYODOHIDROXIQUINOLEINA				
METODO D E ANALISIS :		ESPECTROFOTOMETRIA UV				
APLICACION DEL METODO :						
B.1 LINEARIDAD DEL SISTEMA DE MEDICION.						
	FACTOR DE CON.	FACTOR DE RES.			TOTAL	
(%)	DHQ	ABC DHQ				
	B. MET.	ABC B. MET			(Yi)	(Y^2)	(XY)
	(X)	(Y)					
50	60.0000	0.2935	Yi TOTAL=		0.8825	0.0861	17.6100
50	60.0000	0.2950	Yi^2TOTAL=		0.7788	0.0870	17.7000
50	60.0000	0.2940	MEDIA=		0.2942	0.0864	17.6400
75	90.0000	0.4350	Yi TOTAL=		1.3365	0.1892	39.1500
75	90.0000	0.4475	Yi^2TOTAL=		1.7916	0.2003	40.2750
75	90.0000	0.4560	MEDIA=		0.4482	0.2079	41.0400
100	120.0000	0.5760	Yi TOTAL=		1.7525	0.3318	69.1200
100	120.0000	0.5730	Yi^2TOTAL=		3.0713	0.3283	68.7600
100	120.0000	0.6035	MEDIA=		0.5842	0.3642	72.4200
125	150.0000	0.7180	Yi TOTAL=		2.1410	0.5155	107.7000
125	150.0000	0.7125	Yi^2TOTAL=		4.5639	0.5077	106.6750
125	150.0000	0.7105	MEDIA=		0.7137	0.5046	106.5750
150	180.0000	0.8580	Yi TOTAL=		2.5490	0.7362	154.4400
150	180.0000	0.8470	Yi^2TOTAL=		6.4974	0.7174	152.4600
150	180.0000	0.8440	MEDIA=		0.8497	0.7123	151.9200
DATOS =	15	SUMA DE X =		1800	SYI^2TOTAL =	r	3.0000
(SX)^2=	3240000.0000	SUMA DE Y =		8.8635	SX^2=	t	5.0000
(SY)^2 =	78.0582	SUMA DE XY =		1163.6850	SY^2=	r*t	15.0000
MEDIA AL 50 %=	60	MEDIA AL 75 %=		90	MEDIA AL 100 %	MEDIA AL 125 %=	150.0000
PENDIENTE (m)=	4.595E-03	ORDENADA (b)=		2.617E-02	SCR =	LA MEDIA DE X=	120.0000
SCER =	1.410E-03	SCEP =		9.28E-04	SCFA =	"t" DE TABLAS=	2.1604
r^2 =	0.9975	SX.Y=		1.04E-02	Sb=	MEDIA AL 150 %=	180.0000
LIMITE INF.DEL I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=				9.737E-03	L.S. I.C. PARA LA ORDENADA AL O		0.0426
				TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA			
	FUENTE DE	GRADOS DE		SUMA DE	MEDIA DE	F	
	VARIACION	LIBERTAD		CUADRADOS	CUADRADOS	TABLAS	
	REGRESION	1		0.5701	0.5701	4.6700	
	ERROR DE REG.	13		1.41E-03	0.0001		
	FALTA DE AJUSTE	3		4.81E-04	0.0002	3.7100	
	ERROR PURO	10		9.28E-04	0.0001		
CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA LINEARIDAD DEL SISTEMA							
1. LA RELACION ENTRE LA CONCENTRACION Y LA RESPUESTA DEBE SER ALTAMENTE SIGNIFICATIVA							
Si Fcal>=Ftab	Existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida						
Si Fcal< Ftab	No existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida						

Si Fcalc>=Ftab	Existe falta de ajuste a la relación lineal simple;cantidad adicionada-propiedad medida						
Si Fcalc< Ftab	No existe falta de ajuste a la relación lineal simple;cantidad adicionada propiedad medida						
POR LO TANTO:	EXISTE UNA RELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA PROPIEDAD MEDIDA						
	NO EXISTE FALTA DE AJUSTE A LA RELACION LINEAL SIMPLE CANTIDAD ADICIONADA - PROPIEDAD MEDIDA						
2. CRITERIO PARA LA ORDENADA.							
Ho: La ordenada al origen es igual a cero.							
H1: La ordenada al origen es diferente de cero.							
(Xi-Med x)^2=	9000.0000	SX.Y=		1.04E-02		"t" CALCULADA=	2.7919
Región de aceptación: Si	t(tab;n-2;0.025)	< t cal<	t(tab;n-2;0.975)				
		-2.306	<	2.79E+00	<	2.3060	
POR LO TANTO:	LA ORDENADA AL ORIGEN ES IGUAL A CERO.						
3. CRITERIO PARA LA CORRELACION.		2					
Coeficiente de determinación (r) mayor o igual a 0.96							
POR LO TANTO:	EXISTE CORRELACION						
HOJA DE GRAFICA							



CONCLUSIONES:	EL SISTEMA DE MEDICION ES LINEAL

B.1 LINEARIDAD DEL METODO DE MEDICION

(%)	(X)	(Y)		TOTAL (Yi)	(X^2)	(Y^2)	(XY)
60	95.3400	97.2100	Yi TOTAL=	289.8700	9089.7156	9449.7841	9268.0014
60	95.7000	96.1800	Yi^2TOTAL=	84024.6169	9158.4900	9250.5924	9204.4260
60	94.8000	96.4900	MEDIA=	96.6233	8987.0400	9308.3904	9146.3040
100	119.7000	120.5300	Yi TOTAL=	359.1200	14328.0900	14479.3089	14403.5010
100	118.5000	119.7000	Yi^2TOTAL=	128967.1744	14042.2500	14328.0900	14184.4500
100	118.8000	119.0900	MEDIA=	119.7067	14113.4400	14182.4281	14147.8920
120	143.4000	142.5200	Yi TOTAL=	428.5100	20563.5600	20311.9504	20437.3680
120	142.5000	141.7000	Yi^2TOTAL=	183620.8201	20306.2500	20078.8900	20192.2500
120	144.9000	144.2900	MEDIA=	142.8367	20996.0100	20819.6041	20907.6210

DATOS =	9	SUMA DE X=	1073.64	SYi^2TOTAL =	398612.6114	r=	3.00
(SX)^2=	1152702.65	SUMA DE Y =	1077.5	SX^2=	131584.8456	t=	3.00
(SY)^2 =	1161006.25	SUMA DE XY=	131891.8134	SY^2=	132209.0384	r*t=	9.00
EDIA AL 60 %	95.28	MEDIA AL 100 %=	119	MEDIA AL 120 %=	143.6		
PENDIENTE (	0.958226017	ORDENADA (b)=	5.650833209	SCR =	3206.4618	LA MEDIA DE X=	119.2933
SCER =	1.88E+00	SCEP =	4.83E+00	SCFA =	2.95E+00	"t" DE TABLAS=	2.3646
r^2 =	0.999413346	SX.Y=	5.19E-01	Sb=	1.06E+00	DST Y =	18.6807
L.I.I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			3.147208341	L.S.I.C. PARA LA ORDENADA AL ORIGEN=			8.1545

TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F
REGRESION	1	3206.461769	3206.461769	11925.06	5.59
ERROR DE REG.	7	1.88E+00	2.69E-01		
FALTA DE AJUST	1	2.95E+00	2.95E+00	3.66	5.99
ERROR PURO	6	4.83E+00	8.06E-01		

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA LINEALIDAD DEL METODO DE MEDICION

1. LA RELACION ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA CANTIDAD RECUPERADA DEBE SER ALTAMENTE SIGNIFICATIVA

SI Fcal>=Ftabs Existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

SI Fcal<Ftabs No existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

SI Ftacal>=Ftabs existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada- cantidad recuperada

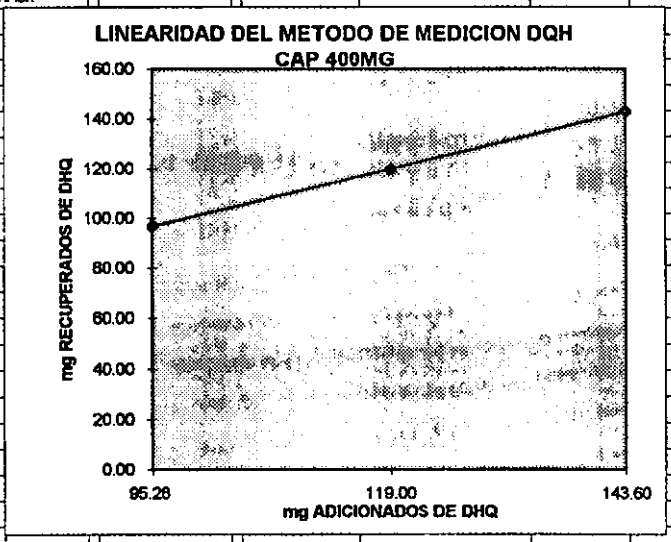
SI Ftacal<Ftab no existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada- cantidad recuperada.

OR LO TANT EXISTE UNA RELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LA CANTIDAD ADICIONADA Y LA CANTIDAD RECUPERADA.

NO EXISTE FALTA DE AJUSTE A LA RELACION LINEAL SIMPLE CANTIDAD ADICIONADA - CANTIDAD RECUPERADA.

2. CRITERIO PARA LA PENDIENTE.

Ho: La pendiente es igual a uno.						
H1. La pendiente es diferente de uno.						
Syx =	5.19E-01			t CALCULADA=	4.508145212	
REGION DE ACEPTACION:		Si t(tab;n-2;0.025)<tcal< t(tab;n-2;0.975)				
	-2.3646	4.5081	2.3646			
OR LO TANT	LA PENDIENTE ES DIFERENTE DE UNO.					
3. CRITERIO PARA LA ORDENADA.						
Ho:LA ORDENADA AL ORIGEN ES IGUAL A CERO.						
H1:LA ORDENADA AL ORIGEN ES DIFERENTE DE CERO.						
(Xi-MEDX)^2=	1187.5403	T CALCULADA =	3.0795E+00			
REGION DE ACEPTACION:		Si t(tab;n-2;0.025)<tcal< t(tab;n-2;0.975)				
	-2.3646	3.08E+00	2.3646			
OR LO TANT	LA ORDENADA AL ORIGEN ES DIFERENTE DE CERO.					
4. CRITERIO PARA LA CORRELACION.						
	Coeficiente de determinación (r^2) mayor o igual a 0.98					
OR LO TANT	EXISTE CORRELACION.					
HOJA DE GRAFICA						



CONCLUSIO	EL METODO DE MEDICION ES LINEAL.					

B.2 EXACTITUD DEL METODO AL 100 %.

mcg/ml ADICIONADOS DHQ	FACTOR DE RESPUESTA	(%) RECUPERADO (Y)	mcg/ml RECUPERADOS DHQ	(Y^2)
119.4000	0.5759	100.6300	120.5700	10166.6889
121.5000	0.5815	100.2100	121.7400	10042.0441
120.0000	0.5778	100.7800	120.9360	10156.6084
119.4000	0.5665	99.6800	119.0100	9936.1024
119.1000	0.5664	99.9300	118.9800	9986.0049
120.0000	0.5727	99.93	119.9100	9986.0049

SUMA DE Y^2=	60273.4536	LA MEDIA DE Y=	100.2267
DESV. STD =	0.4786	NUMERO DE DATO	6.0000
LIMITE INFERIOR DEL I.C. PARA EL % RECUPERADO=			99.7244

SUMA DE Y=	601.3600	RAIZ DE 6	2.4495
t STUDENT(tab)=	2.5706	T CALCULADO	-1.1601
LIMITE SUPERIOR DEL I.C. PARA EL % RECUPERADO=			100.7289

CONTRASTE DE HIPOTESIS.

Ho: LA MEDIA ES IGUAL AL 100 %.

H1:LA MEDIA ES DIFERENTE DEL 100 %.

REGION DE ACEPTACION

Si t(tab;n-1;0.025) < t(cal) < t(tab;n-1,0.975)

-2.5706 -1.1601 2.5706

CONCLUSIONES:	EL METODO ES EXACTO.

z<	B.3 PRECISION				
	FACTOR DE			NUM. DE DATOS =	6.0000
	RESPUESTA				
		SY^2			
			LA MEDIA DE Y=	0.5735	
	0.568	0.3221			
	0.574	0.3283	SUMA DE Y^2=	1.9735	
	0.579	0.3347			
	0.575	0.3306			
	0.574	0.3295	SUMA DE (Y)^2=	11.8405	
	0.573	0.3278			
	SUMA DE LAS Y=	3.4410	DESVIACION ESTANDAR DE Y =		0.0036
		EL COEFICIENTE DE VARIACION OBTENIDO =			0.6263
CRITERIO:					
EL COEFICIENTE DE VARIACION DEBE SER MENOR O IGUAL A:			1.50	%	
COEFICIENTE OBTENIDO=			0.6263	%	
CONCLUSIONES:	EL SISTEMA DE MEDICION ES PRECISO				

B.3 PRECISION DEL METODO DE MEDICION.

		SYi.=	599	Yij.=	298.92
	SUMA Q1,Q2,D1 =	SYi..=	604.27	Yij..=	300.08
		Y...=	1203.27	Yij...=	301.94
		SYi^2/bc=	120657.2055	Yij....=	302.33
	600.86	SSSYijk^2=	120659.9393	SYj^2/ac=	120655.0913
		SCq=	2.3144	Y...^2/abc=	120654.8911
	602.41	SCd=	0.2002	SSYij..^2/c=	120657.4551
		SCe=	2.4842	SCq-d=	0.0494

	QUIMICO 1	2
D 1	99.45	99.62
I	100.2	100.98
	99.27	101.34
A 2	100.12	100.38
	99.77	100.89
	100.19	101.06
	599	604.27

		TABLA DE ANALISIS DE LA VARIANZA			
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS
QUIMICO	1	2.3144	2.3144	46.8425	161.40
DIA	1	0.2002	0.2002	4.0521	161.40
INTERACCION Q-D	1	0.0494	0.0494	0.1591	
ERROR	8	2.4842	0.3105		5.32

MEDIA TOTAL= 100.2725 SD TOTAL= 0.6774 C.V. TOTAL 0.6756

1) Si Fqcal<Fqtab(glq;glqd;0.05) No existe efecto por quimico.

2) Si Fdcal<Fdtab(gld;glqd;0.05) No existe efecto por dia.

3) Si Fqdcal<Fqdtab(glqd;gle;0.05) No existe efecto por interaccion quimico-dia.

CONCLUSIONES:

1. NO EXISTE EFECTO POR QUIMICO.
2. NO EXISTE EFECTO POR DIA.
3. NO EXISTE EFECTO POR LA INTERACCION QUIMICO - DIA.

POR LO TANTO: EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR QUIMICOS DISTINTOS EN DIFERENTES DIAS.

CRITERIO PARA REPETIBILIDAD:

SI EL COEFICIENTE DE VARIACION TOTAL ES <= AL 3% EL METODO SE CONSIDERA REPETIBLE.

CONCLUSIONES: EL METODO ANALITICO ES REPETIBLE.

B.-4 ESPECIFICIDAD

La muestra BLANCO, no presenta interferencia en la absorvancia de 638nm

Las muestra *PLACEBO*, no presenta interferencia en la absorvancia de 638nm

CONCLUSIONES: EL METODO ANALITICO ES ESPECIFICO.

B.5 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA						
MUESTRA	%	TEMPERATURA AMBIENTE		TEMPERATURA AMBIENTE		
		MATRAZ TRANSPARENTE		MATRAZ ACTINICO		,,
NUMERO	INICIAL					
		8 HORAS	24 HORAS	8 HORAS	24 HORAS	
1	100.3600	101.64	111.61	102.80	110.51	
2	99.6100	101.28	110.70	99.97	102.33	
3	99.5300	101.04	108.25	102.96	116.49	
DESVIACION ESTANDAR =		0.3020	1.7378	1.6820	7.1085	
MEDIA =		100.5767	105.0100	100.8717	104.8052	
COEF. DE VARIACION CALCULADO =		0.3003	1.6549	1.6675	6.7826	
COEF DE VARIACION TEORICO =		2.0000				
DECISIONES		ESTABLE	INESTABLE	ESTABLE	INESTABLE	
		T.A./M.T/8HRS	T.A./M.T/24HRS	T.A./M.A/8HRS	T.A./M.A/24HRS	REF./M.A/8HRS
		101.6400	111.6100	102.8000	110.5110	0.0000
		101.2800	110.7000	99.9700	102.3300	0.0000
		101.0400	108.2500	102.9600	116.4900	0.0000
		100.3600	100.3600	100.3600	100.3600	100.3600
		99.6100	99.6100	99.6100	99.6100	99.6100
		99.5300	99.5300	99.5300	99.5300	99.5300
DES STDS		0.3020	1.7378	1.6820	7.1085	0.0000
MEDIA		100.5767	105.0100	100.8717	104.8052	49.9167
C.V. CAL.		0.3003	1.6549	1.6675	6.7826	0.0000
C.V. EST		2.0000				

8.5 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA						
MUESTRA	%	TEMPERATURA AMBIENTE		TEMPERATURA REFRIGERACION		
		MATRAZ TRANSPARENTE		MATRAZ ACTINICO		
NUMERO	INICIAL					
		6 HORAS	24 HORAS	6 HORAS	24 HORAS	
1	100.3600	101.64	111.61	102.80	112.33	
2	99.6100	101.28	110.70	99.97	114.70	
3	99.5300	101.04	108.25	102.90	116.80	
DESVIACION ESTANDAR =		0.3020	1.7378	1.6635	2.2364	
MEDIA =		100.5767	105.0100	100.8817	107.2217	
COEF. DE VARIACION CALCULADO =		0.3003	1.6549	1.6493	2.0857	
COEF. DE VARIACION TEORICO =		2.0000				
DECISIONES		ESTABLE	INESTABLE	ESTABLE	INESTABLE	
		T.A./M.T/6HRS	T.A./M.T/24HRS	T.A./M.A/6HRS	T.A./M.A/24HRS	REF./M.A/6HRS
		101.6400	111.6100	102.8000	112.3300	0.0000
		101.2800	110.7000	99.9700	114.7000	0.0000
		101.0400	108.2500	102.9000	116.8000	0.0000
		100.3600	100.3600	100.3600	100.3600	100.3600
		99.6100	99.6100	99.6100	99.6100	99.6100
		99.5300	99.5300	99.5300	99.5300	99.5300
DES STDS		0.3020	1.7378	1.6635	2.2364	0.0000
MEDIA		100.5767	105.0100	100.8817	107.2217	49.9167
C.V. CAL.		0.3003	1.6549	1.6493	2.0857	0.0000
C.V. EST.		2.0000				

DISCUSIONES

DISCUSIONES

Análisis Estadistico:

Al someter los resultados obtenidos en ambos métodos al análisis estadístico, se observa que cumplen con cada una de las etapas de la Validación.

Para la prueba de Especificidad no se encontró ninguna interferencia.

Estabilidad de la muestra Metronidazol

Se observa una estabilidad de la muestra hasta las 24 horas a temperatura ambiente en un matraz transparente, en matraz actinico y en refrigeración con matraz actínico.

Estabilidad de la muestra Diyodohidroxiquinoleína

Se observa una estabilidad de la muestra hasta las 6 horas a temperatura ambiente: en matraz transparente, en matraz actínico y en refrigeración en matraz actínico. Se recomienda leer de inmediato al espectrofotometro.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Los métodos para valorar Metronidazol y Diyodohidroxiquinoleína en " Flagenase 400", Cápsulas producto terminado cumple con:

-Linearidad del Sistema de Medición
-Linearidad del Método de Medición
-Exactitud del Método
-Precisión del Sistema de Medición
-Precisión del Método de Medición
-Especificidad
-Estabilidad de la Muestra

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
   Secretaria de Salud, Sexta Edición, México D.F. 1994. 513. 514, 656, 657 p.

2. The United States Pharmacopoeia 23 st, Formulary 18 th
   Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1995. 1020,1021p.

3. Dr. Pérez Rafael
   Espectroscopia Ultravioleta y Visible
   Caracas, Venezuela, Ed. Alambra, 1era. Edic. 1990,

4. Gomaa Zeinab S.
   Journal of Liquid Chomatography
   Determination of Diiodohydroxyquin in dosage forms by
   High performance Liquid Chromatography,
   Riyadh, Saudi Arabia. 1987, 1175 a la 1185 p.

5. Gilman Goodman Alfred
   Las Bases Farmacolólogicas de la Terapéutica
   Octava Edición. Ed. Panamericana. México D.F.1993. 975 a la 978 p.

6. National Committeee for Clinical Laboratory
   standards. Methods for antimicrobial susceptibility
   testing of Anaerobic- Bacteria.
   Edition, Approved standard NCCLS Document MII-A3,Vol. 13, No.26, NCCLS, Vil
   Villanova, PA, December 1997, 1 a la 10p,

7. Meyer, Richard F.
   Journal of Validation Tecnology
   Defining a Master Plan for the Validation of Analytical Methods
   Business Park Way, 1990, 361 a la 366 p.

8. Colegio Nacional de Quimicos Farmacéuticos Biólogos
   Guia Oficial de Validacion de Métodos Analiticos, SSA, Canifarma, CNQFB.
   México D.F. 1991.

9. Johson Jam D. And Van Buskirk Gale E. Analytical Method
   Validation. Journall of Validation Tecnology Vol 2 no. 2, 1996, 88 a la 105 p.

10. Hokanson C. Gerard. A Life Cycle Aprroach to the Validation of Analytical Methods during Pharmaceutical Product Development Part 1: The Initial Validation Process Pharmaceutical Technology, September, 1994,118 a la 130p.

11. Hokanson C. Gerard. A Life Cycle Approach to the Validation of Analytical Methods during Pharmaceutical Product Development Part II: The Initial Validation Process. Pharmaceutial Technology, September, 1994, 92 a la 100p.

12. Defining a Master Plan for the Validation of Analytical Methods Validation of an analytical method includes both regulatory and technical ojectives Journal of Validation Technology. September,1994, 361 a la 365.