



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR PIROXICAM EN UNA FORMA FARMACEUTICA DE USO TOPICO (BARRA)

297728

TESIS PROFESIONAL QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO PRESENTA: ALEJANDRO CRUZ MARTINEZ



MEXICO, D.F.



2001

EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Jurado asignado:

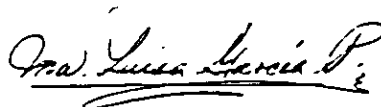
Presidente: Prof. García Padilla María Luisa
Vocal: Prof. Carrera García Isaura Luisa
Secretario: Prof. Ayala Mondragon Consuelo
1er. Suplente: Prof. Valadez Eslava Pedro Salvador
2do. Suplente: Prof. Mora-Tovar y Chávez Rosa Lorenia

Lugar donde se desarrollo el tema

Laboratorio de Control Analítico
Facultad de Química
UNAM

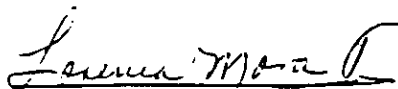
Asesor del tema

Prof. María Luisa García Padilla



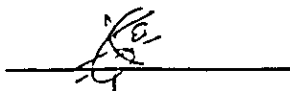
Supervisor Técnico

Prof. Rosa Lorenia Mora-Tovar y Chávez



Sustentante

Alejandro Cruz Martínez



Este trabajo fue realizado en el Departamento de Control
Analítico de la Facultad de Química, UNAM.

Agradezco todo su apoyo a las profesoras Ma. Luisa,
Lorenia, Isaura, Georgina, Teresa y Consuelo.

Dedico el presente trabajo a mi madre Ma. de la Luz Martínez, a quien agradezco su apoyo incondicional para guiarme por el camino correcto de la vida y no dejarme de apoyar en los malos momentos, gracias por ser la gran mujer que eres.

A la memoria de mi padre, en la que me he apoyado en todos los momentos difíciles.

Comparto el siguiente trabajo con mi hermano Luis Antonio Cruz, quien ha sido como un padre y amigo a la vez, así mismo lo comparto con su esposa e hijo, Celia e Isai.

A mi abuelo Mateo Cruz quien me ha inspirado el seguir adelante.

A mis tíos Roberto, Velia, Alfonso, Juana, Raquel, Rosalio, Guadalupe, Juan, Margarita, José Luis y Socorro quienes me han apoyado para lograr mis metas.

A mis primos Victor, Raquel, Johana, Jonathan, Norma, Nelly, Nancy, Noemi, Miriam, Pamela, Lupita e Ivan con quien he compartido buenos y malos momentos.

En agradecimiento al Ing. Victor Manuel Santos por su apoyo incondicional.

A Leonel, Alfredo, Cesar, Alejandro, Antonio, Frausto, y Verónica, con quienes conocí lo valioso que es contar con un amigo.

Comparto con Juana Arzola Vega el siguiente trabajo, así como quiero compartir el resto de mi vida.

INDICE

	pág
I. Introducción.....	1
II. Objetivo.....	6
III. Generalidades.....	7
III.1 Antiinflamatorios no esteroides.....	7
III.2 Métodos de análisis.....	12
III.3 Monografía de piroxicam.....	12
III.4 Validación de métodos analíticos.....	21
IV. Parte experimental.....	39
IV.1 Procedimiento del método analítico.....	39
IV.2 Validación del método analítico.....	42
V. Resultados.....	46
VI. Conclusiones.....	68
Anexo I.....	72
VII. Referencias bibliográficas.....	94

I. INTRODUCCION:

La calidad de los medicamentos es un tema de gran importancia tanto para los laboratorios farmacéuticos, como para las personas a las que están destinados, a pesar de que éstas no tengan contacto directo con los resultados de calidad de cada medicamento que utilizan, sin embargo confían en que cumplan con los parámetros de calidad requeridos.

Los parámetros de calidad mencionados, se encuentran establecidos en varios documentos oficiales, que se deben cumplir para poder liberar a la venta los medicamentos; entre estos documentos oficiales, es de uso obligatorio en nuestro país la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y sus suplementos, así como las Normas Oficiales Mexicanas que surjan con respecto a la calidad de medicamentos; además de la FEUM, se utilizan como respaldo otras farmacopeas como la de los Estados Unidos de Norteamérica, la Británica, la Europea, etc.

Entre los parámetros de calidad, la cuantificación o valoración del principio activo presente en cada forma farmacéutica es fundamental y ésta se realiza siguiendo un método analítico previamente desarrollado. Estos Métodos Analíticos nos permiten determinar si los productos farmacéuticos cumplen con las especificaciones marcadas, con respecto al contenido de el o los principios activos presentes en ellos, según su marbete.

El surgimiento de nuevos principios activos, así como de nuevas formas farmacéuticas, hace imperante el desarrollo de métodos analíticos para el control de calidad de los mismos, tomando en cuenta para este desarrollo, las propiedades físicas y químicas de las moléculas activas, así como la interacción de los excipientes al realizar el análisis, cuando se evalúa la calidad de la forma farmacéutica.

Para poder evaluar en el laboratorio de Control de Calidad, la calidad de los productos farmacéuticos y de las materias primas utilizadas para su fabricación, los métodos analíticos así como los procedimientos involucrados deben ser validados.

La validación de Métodos Analíticos, es un procedimiento mediante el cual se verifica en forma documentada, que la metodología propuesta está basada en principios científicos, y que cumple con los propósitos prácticos de medición para los cuales se ha optimizado. De esta manera podemos asegurar la aceptación y la confiabilidad de los resultados obtenidos, teniendo en consideración que sólo nos acercan al valor verdadero. Por lo que una validación adecuada de la metodología nos permitirá conocer sobre qué margen de error se está trabajando y cómo poder controlar dicho error.

En el presente trabajo, se describe el desarrollo y la validación de un método analítico para cuantificar Piroxicam, el cual es un fármaco de naturaleza no esteroideal, con propiedades antiinflamatorias; formulado en la forma farmacéutica de barra para uso tópico, con una dosificación de 0.5g / 100 g. El medicamento fue desarrollado en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química, UNAM.

El fundamento de la metodología propuesta, está basado en que el Piroxicam, presenta un máximo de absorbancia a 333 nm, utilizando como disolvente solución de ácido clorhídrico al 7 por ciento v/v. Tomando en cuenta que los excipientes causan interferencia en la determinación, se requiere como primer paso, separar el principio activo, extrayéndolo con metanol, pues se aprovecha su mayor polaridad con respecto a los excipientes que son de origen lipofílico. Finalmente, considerando los valores de longitud de onda reportados en la bibliografía, se realizan las diluciones adecuadas con solución de ácido clorhídrico al 7 por ciento v/v y se efectúa la determinación espectrofotométrica a 333 nm, comparando con una solución de Piroxicam, sustancia de referencia, a la misma concentración.

Los parámetros que se evaluaron para la validación fueron: Linealidad y precisión del sistema, evaluada como repetibilidad; especificidad, linealidad, exactitud y precisión (repetibilidad y reproducibilidad) del método y estabilidad de la muestra analítica.

En la FEUM.⁽²⁾ no aparecen descritas las monografías para Piroxicam como materia prima, ni para la forma farmacéutica en estudio, pero sí se encuentra en la USP ⁽⁹⁾, en donde se describen las monografías para materia prima y para la forma farmacéutica de cápsulas. La valoración se realiza por CLAR, en las condiciones especificadas en la referencia. Por no contarse con la monografía de este principio activo en la FEUM, y por ser una forma farmacéutica novedosa, se desarrolló el método analítico que se describe, como un método alternativo para valorar en forma rápida, sencilla y económica, el Piroxicam presente en la forma farmacéutica de barra para uso tópico.

II. OBJETIVOS:

- Desarrollar un Método Analítico para el control de calidad, que permita determinar Piroxicam en una forma farmacéutica de barra para uso tópico.
- Validar el método analítico desarrollado, evaluando cada uno de los siguientes parámetros:

Sistema

Linealidad

Precisión (evaluada como repetibilidad)

Método

Especificidad

Linealidad

Exactitud

Precisión (evaluada como Repetibilidad y Reproducibilidad)

Estabilidad de la muestra analítica.

- Verificar que los resultados obtenidos demuestren que el método analítico es confiable y aplicable para el control de calidad de este medicamento.

II. GENERALIDADES:

El principio activo que se analiza (Piroxicam), se encuentra clasificado como un antiinflamatorio no esterooidal; por lo que a continuación se describen algunas generalidades acerca de este tipo de fármacos.

III.1 ANTIINFLAMATORIOS

NO ESTEROIDALES (AINE) ^(1, 3, 4)

Los fármacos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos de esta categoría, incluyen muy diversos compuestos. El compuesto prototípico sería el ácido acetilsalicílico, debido a que fue una de las primeras sustancias antiinflamatorias no esterooidales y de mayor uso en la actualidad.

Los fármacos antiinflamatorios no esterooidales se pueden clasificar de la siguiente manera.

Clasificación: De acuerdo con su composición química

Derivados del ácido salicílico

Aspirina, salicilato de sodio, trisalicilato de magnesio y colina, salsalato, diflunisal, ácido salicilsalicílico, sulfasalazina, olsalazina

Derivados del para-aminofenol

Acetaminofeno

Indol y ácidos indolilacéticos

Indometacina, sulindaco, etodolaco

Acidos heteroarilacéticos

Tolmetín, diclofenaco, ketorolaco

Acidos arilpropiónicos

Ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno, oxaprozina

Acidos antranílicos (fenamatos)

Acido mefenámico, ácido meclofenámico

Acidos enólicos

PIROXICAM, tenoxicam, pirazolidindionas (fenilbutazona, oxifenbutazona).

Alcanonas

Nabumetona

Mecanismo de acción

El aspecto más importante del mecanismo de acción de estos compuestos es la inhibición de la ciclooxigenasa, enzima encargada de la biosíntesis de prostaglandinas y otros autacoides similares, así se inhibe el proceso inflamatorio, ya que las prostaglandinas se liberan siempre que hay daño celular y además de que se encuentran siempre en exudados inflamatorios.

Efectos terapéuticos

Se considera que todos los antiinflamatorios no esteroideos son además antipiréticos y analgésicos, pero presentan cierta diferencia en la actividad de cada una de estas características terapéuticas, por ejemplo el acetaminofén es antipirético y analgésico, pero su acción como antiinflamatorio es menor.

Cuando se utilizan como analgésicos son eficaces sólo contra el dolor de intensidad pequeña o moderada, aún así tienen como ventaja que no causan las manifestaciones

indeseables de los opioides en el sistema nervioso central, como son depresión respiratoria y aparición de dependencia física. Por medio de este tipo de fármacos se puede controlar el dolor posoperatorio crónico o el que proviene de la inflamación.

Tienen acción antipirética pues los AINE aminoran la temperatura corporal en estados febriles.

La aplicación terapéutica principal de los AINE es como antiinflamatorios, especialmente en el tratamiento de trastornos musculoesqueléticos como son la artritis reumatoide, la osteoartritis y la espondilitis anquilosante. En general los AINE sólo brindan alivio sintomático del dolor y de la inflamación en enfermedades y no detienen la evolución de la lesión patológica de tejidos durante episodios graves.

Una actividad adicional que presentan los AINE es su habilidad de bloquear la biosíntesis de prostaglandinas. Dicha actividad se aplica en el tratamiento en neonatos para cerrar el conducto arterioso, ya que el exceso de

prostaglandinas produce que este conducto persista; además, también han sido utilizados con buenos resultados, para el alivio de cólicos intensos y otros síntomas de dismenorrea primaria que se presentan en la menstruación, debido a la eliminación de prostaglandinas.

Efectos colaterales de los AINE

Este tipo de compuestos presentan en común algunos efectos adversos indeseables. El más frecuente de ellos, es la posibilidad de inducir úlceras gástricas o intestinales, que en algunas ocasiones se acompañan de anemia debido a la pérdida hemática resultante. Debido a esto, los pacientes que requieren de estos fármacos durante un período largo de tiempo, tienen un riesgo mucho mayor de sufrir efectos gastrointestinales graves.

Otros de los efectos adversos que se pueden presentar son:

- Bloqueo de la agregación plaquetaria (inhibición de síntesis de tromboxano)
- Inhibición de la motilidad uterina (prolongación de la gestación).

- Inhibición de la función renal mediada por prostaglandina
- Reacciones de hipersensibilidad.

III.2 METODOS DE ANALISIS ^(2,17)

Debido a que los compuestos antiinflamatorios no esteroideos son muy diversos en su composición química, los métodos de análisis variarán en función de dicha composición. En la mayoría de los casos, se reportan métodos de análisis espectrofotométricos en U. V. y cromatográficos por CLAR, aplicados en diversos productos farmacéuticos.

III.3 MONOGRAFIA DEL PIROXICAM ^(2, 7, 9, 16)

NOMBRES

Químico:

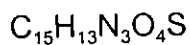
- * 2H-1,2-Benzotiazina-3-carboxamida, 4-hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-, 1,1-dióxido.
- * 4-Hidroxi-2-metil-N-2-piridil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamina, 1,1-dióxido.

Genérico:

Piroxicam

Comerciales

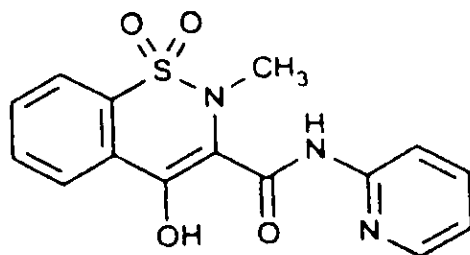
Artroxicom, Baxo, Buxicom, Caliment, Erazon, Feldene, Flogobene, Geldene, Omprontal, Lavapam, Pirkam, Piroflex, Reudene, Riacen, Roxicom, Roxiden, Salsulen, Solocalm, Zunden.

ESTRUCTURA QUIMICA**Fórmula condensada:**

M. M. 331.36

CAS [36322-90-4] ⁽¹⁶⁾

Fórmula desarrollada:



PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

Descripción

Polvo cristalino, inodoro, incoloro, de sabor amargo.

Temperatura de fusión

196 °C a 198 °C

Solubilidad

Soluble en disolventes orgánicos polares, ligeramente soluble en alcoholes alifáticos como metanol, etanol e isopropanol, prácticamente insoluble en agua.

ENSAYOS DE IDENTIDAD

A. Espectroscopía infrarroja

El espectro de absorción en la región infrarroja, de una dispersión en bromuro de potasio de la muestra previamente seca, exhibe máximos únicamente a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de la sustancia de referencia de Piroxicam, presentándose los máximos principales en 1524, 118, 1298, 1147, 1573 y 770 cm^{-1} .

B. Espectroscopía ultravioleta

El espectro de absorción en la región ultravioleta de una solución (1:100 000) de la muestra preparada en un medio de HCl en Metanol (1 en 1 200), exhibe máximos y mínimos únicamente a las mismas longitudes de onda que una solución similar de la sustancia de referencia de Piroxicam. Exhibiéndose el máximo principal a una longitud de onda de alrededor de 333 nm.

C. Cromatografía en capa fina

Preparar solución de prueba y solución estándar en una mezcla de Cloroformo:Metanol (1:1), para obtener una concentración de 1 mg/mL. Aplicar 20 µl de cada una de las soluciones, sobre una placa de gel de sílice de 0.25 mm de espesor. Desarrollar el cromatograma utilizando como fase de elución tolueno:ácido acético glacial (95:5), hasta $\frac{3}{4}$ partes de la placa. Secar y observar con una lámpara de luz ultravioleta de onda corta. Las manchas observadas para cada solución deben ser de la misma intensidad y deben presentar el mismo Rf.

VALORACION

La valoración farmacopeica del Piroxicam, como materia prima y en cápsulas, es realizada por el método de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).

Las condiciones para la valoración por CLAR son las siguientes:

Fase móvil: Mezcla de Solución amortiguadora - Metanol (55:45), desgasificada.

Solución amortiguadora: Disolver 7.72 g de ácido cítrico anhidro en 400 mL de agua; por separado disolver 5.35 g de fosfato de sodio dibásico en 100 mL de agua. Agregar la solución de fosfato a la solución de ácido cítrico, diluir con agua hasta 1000 mL y mezclar.

Preparación de la solución estándar y de la solución de la muestra: Pesar con exactitud la cantidad necesaria de sustancia de referencia y de muestra y disolverlas en una solución de ácido clorhídrico en metanol al 7 por ciento, para obtener una concentración de 0.05 mg/mL en cada una de las soluciones.

Sistema cromatográfico:

Detector: 254 nm

Fase estacionaria: Columna de 3.5 mm X 30 cm con empaque L1 (C-18)

Velocidad de flujo: 1.2 mL/min

Volumen de inyección: 25 μ L

INDICACIONES TERAPEUTICAS (1, 4, 5, 6, 8, 14, 15)

Es indicado como auxiliar para el alivio de dolores reumáticos y musculares, por tener efectos antiinflamatorios y analgésicos en:

Enfermedades reumáticas articulares: artritis reumatoide, gotosa, espondilitis anquilosante y osteoartritis.

Enfermedades reumáticas extraarticulares: fibrosis, periartritis, bursitis y tendosinovitis.

Afecciones musculoesqueléticas traumáticas y deportivas: contusiones, esguinces, luxaciones, fracturas, desgarres musculares.

CONTRAINDICACIONES

El uso del Piroxicam está contraindicado en pacientes con antecedentes de asma, rinitis, o urticaria por la administración de aspirina y otros fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

No se ha establecido la toxicidad del Piroxicam cuando se utiliza durante el embarazo y la lactancia.

EFECTOS SECUNDARIOS

El Piroxicam disminuye la excreción renal de litio en grado clínicamente importante. La incidencia notificada de los efectos secundarios en sujetos que reciben Piroxicam, es de 20 por ciento, en promedio y cerca del 5 por ciento de los pacientes abandonan el tratamiento por causa de estos efectos.

FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMIA

La información encontrada para el Piroxicam, uso tópico (forma farmacéutica crema), es la siguiente:

Al ser aplicado en forma tópica, el Piroxicam se libera gradualmente y se absorbe desde la piel hacia el tejido muscular y líquido sinovial adyacentes. Además, parece alcanzar rápidamente un equilibrio entre la piel y el músculo o el líquido sinovial, en el curso de unas pocas horas después de su aplicación.

En dosis múltiples de 20 mg diarios durante 14 días , se encuentra que los niveles plasmáticos aumentan

lentamente a lo largo del período del tratamiento y alcanzan un valor de 200 $\mu\text{g/mL}$, y los valores promedio permanecen por debajo de los 400 $\mu\text{g/mL}$.

La vida media del Piroxicam aplicado por vía cutánea es de 79 horas.

PRESENTACION FARMACEUTICA

Cápsulas

Tabletas

Grageas

Suspensión

Crema

Gel

Supositorio

DOSIS Y VIA DE ADMINISTRACION

Vía de administración de la forma farmacéutica en estudio (barra): Tópica

Dosis: De 2 a 4 aplicaciones cada 24 horas dependiendo del cuadro a tratar.

III.4 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS (2, 7, 10, 11, 12)

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe validarse para determinar su confiabilidad.

La validación de un Método Analítico se define como el proceso por el cual queda establecido en forma documentada, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

La validación de un método analítico constituye sólo una parte del amplio programa de validación que involucra proveedores, proceso, personal, áreas, sistemas y todos aquellos factores que de una manera u otra participan en la elaboración de productos que cumplan con el objetivo principal, ser productos de calidad.

Asimismo, la validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo de una nueva formulación y de la

técnica de análisis para el control de calidad de una forma farmacéutica, ya que es durante esta secuencia de pruebas y análisis, en donde el químico se da cuenta sistemáticamente, si cumple los propósitos para los cuales fue diseñado un método analítico.

La Ley General de Salud y la USP, han servido como base regulatoria, donde la primera menciona que el control aplicado a cualquier preparado farmacéutico, deberá comprobar y validar cualquier técnica empleada para este fin. Con esta regulación, las autoridades sanitarias del Sector Salud, exigen la validación de métodos analíticos.

La información que se requiere para la validación de un método analítico depende de la aplicación deseada y con base en ésta, los procedimientos de ensayo se han clasificado en las siguientes categorías:

Categoría I. Métodos analíticos para la cuantificación de los principales componentes de un medicamento o de los principios activos (incluyendo conservadores), en productos farmacéuticos terminados.

Categoría II. Métodos analíticos para la determinación de impurezas en medicamentos o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados, incluyendo ensayos cuantitativos y pruebas límite.

Categoría III. Métodos analíticos para la determinación de las características de comportamiento del producto (pruebas de disolución, liberación de fármacos, etc.)

Para cada una de estas categorías, los requisitos de validación son diferentes. En la tabla I se presentan los parámetros necesarios para la validación de métodos analíticos, basándose en las categorías mencionadas.

Tabla I
Parámetros necesarios para la validación de métodos
analíticos

PARAMETRO	CATEGORIA			
	I	II		III
		CUANTITATIVA	PRUEBA LIMITE	
Precisión	sí	Sí	no	sí
Exactitud	sí	Sí	*	*
Límite de detección	no	No	sí	*
Límite de cuantificación	no	Sí	no	*
Especificidad	sí	Sí	sí	*
Linealidad	sí	Sí	no	*
Tolerancia	sí	Sí	sí	sí

* Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis particular

La validación incluye efectuar pruebas para:

1) **Sistema** (Las determinaciones se realizan con soluciones de la sustancia que se analiza). Se evalúa:

Linealidad

Precisión (Repetibilidad)

2) **Método** (Las determinaciones se realizan con muestras que contienen los componentes de la formulación). Se evalúa:

Especificidad

Linealidad

Exactitud

Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)

Estabilidad de la muestra analítica

Hokanson⁽¹¹⁾, propone una clasificación de los parámetros de validación, considerando las características que evalúan el comportamiento del método particularmente para cromatográficos:

1. Parámetros que evalúan la adecuabilidad del sistema

 Especificidad

 Linealidad

2. Parámetros que evalúan la efectividad del proceso de preparación de la muestra:

 Exactitud

3. Parámetros que incluyen aspectos relacionados con el sistema, con el proceso de preparación de la muestra y con el analista:

 Precisión

DEFINICIONES:

Las definiciones de los parámetros de validación, así como la forma de evaluarlos y los criterios de aceptación mencionados a continuación, están enfocados a la validación de métodos analíticos químicos y espectrofotométricos.

ESPECIFICIDAD.

Definición:

Es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y

no a otros componentes de la muestra, que estén presentes en la formulación.

Determinación:

Con el método propuesto, analizar las siguientes muestras:

a) Placebos del producto que contengan todos los componentes de la formulación, excepto el principio activo que se analiza.

b) Placebo cargado al 100 por ciento de la dosificación del principio activo.

c) Solución de la sustancia de referencia

Criterio de aceptación:

Determinar que el método desarrollado es capaz de separar la sustancia de interés de cualquier interferencia que puedan provocar los demás componentes de la formulación.

LINEALIDAD

Definición:

Es la capacidad de un método que permite asegurar que los resultados analíticos obtenidos directamente, o bien, mediante una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo.

Determinación:

Cuando se trabaja con el sistema se analizan soluciones que contienen solamente la sustancia de referencia, en tanto que, cuando se trabaja con el método se analizan muestras que contienen todos los componentes de la formulación.

Se determina construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida), utilizando para el sistema los análisis de cuando menos cinco concentraciones diferentes, preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo el análisis por duplicado para cada concentración. Para el método se analizan cuando menos tres concentraciones diferentes y haciendo el análisis por triplicado (tres diferentes muestras de cada concentración),

construyendo una curva de cantidad adicionada vs cantidad encontrada.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método; si es para control de calidad o de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica; deberá estar incluida la concentración de 100 por ciento.

En el método la Linealidad se expresa generalmente en términos de la varianza alrededor de la pendiente de la recta ajustada (línea de regresión), calculada a partir de una relación matemática con los resultados del análisis de muestras con concentraciones variables y conocidas de la sustancia. La relación matemática que describe la ecuación de la recta es la siguiente:

$$y = m x + b$$

En donde:

y = respuesta medida

m = pendiente de la recta

x = concentración

b = ordenada al origen

Cálculos:

- Pendiente de la recta (m)
- Ordenada al origen (b)

Para conocer si los valores de la pendiente (m) y de la ordenada al origen (b) que se obtienen experimentalmente, son estadísticamente diferentes a los valores considerados como teóricos, se aplica la prueba de t y se establecen los límites de confianza para m y para b.

- Coeficiente de correlación (r)
- Coeficiente de determinación (r^2)

El coeficiente de determinación de la relación lineal simple debe ser mayor o igual a 0.98, y el coeficiente de correlación debe ser mayor o igual a 0.99 y/o la falta de ajuste a la relación lineal simple, no debe ser estadísticamente significativa. Esto es, los datos de la curva de calibración se sujetan a un análisis de varianza, en donde los parámetros de evaluación son las F resultantes de la distribución y tratamiento de datos.

Para el sistema, sólo es necesario conocer los coeficientes de correlación y de determinación (r y r^2), para determinar si el comportamiento es lineal.

Criterios de aceptación:

1. La pendiente (m) de la línea de regresión, debe ser estadísticamente igual a 1.

1.1 Si $|t_{cal}| < t_{tab}(n-2, 0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la pendiente que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

2. La ordenada al origen (b) de la línea de regresión debe ser estadísticamente igual a cero.

2.1 Si $|t_{cal}| < t_{tab}(n-2, 0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la ordenada al origen que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

3. El coeficiente de correlación (r) debe ser ≥ 0.99

4. El coeficiente de determinación (r^2) debe ser ≥ 0.98

4.1 Si $F_r \geq F(g.1.r., g.1.er.; \alpha 0.05)$, entonces existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

4.2 Si $F_{fa} > F(g.1.fa., g.1.ep.; \alpha 0.05)$, entonces existe falta de ajuste a la relación lineal simple, cantidad adicionada, propiedad medida.

Donde H_0 : Hipótesis nula.

PRECISION

Definición:

La precisión es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el método se aplica repetidamente a diferentes muestras analíticas homogéneas de un producto, de una materia prima o de un espécimen en general. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

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

La precisión se evalúa como:

REPETIBILIDAD

Definición:

Evalúa la precisión y se expresa como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes de una misma preparación, realizadas bajo las mismas condiciones experimentales (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.).

Determinación:

El análisis se realiza por sextuplicado, de una misma preparación (soluciones del analito en "sistema" y placebos con todos los componentes de la formulación, en "método"), correspondientes al 100 por ciento, que generalmente debe ser el punto medio de las curvas de Linealidad del sistema y del método.

Calculos:

El coeficiente de variación total (CV)

Criterio de aceptación:

El coeficiente de variación debe ser ≤ 1.5 por ciento para el sistema y ≤ 3.0 por ciento para el método.

REPRODUCIBILIDAD**Definición:**

Evalúa la precisión del método y manifiesta la concordancia entre determinaciones independientes de una muestra homogénea del material que se esté analizando, bajo diferentes condiciones experimentales, por lo cual, las pruebas se realizan en distintos días y con diferentes analistas y/o equipos.

Determinación:

Se determina en forma independiente y por triplicado para cada analista y en cada día, empleando una muestra homogénea del material que se analiza.

Los análisis se realizan en dos días y por dos analistas; el placebo se carga al 100 por ciento, que debe ser el punto medio de las curvas de calibración de Linealidad.

Calculos:

El coeficiente de variación total (CV).

Los resultados de reproducibilidad se sujetan a un diseño factorial de dos factores o dos niveles y a un tratamiento estadístico de análisis de varianza, para obtener el coeficiente de variación total, donde se generan las F correspondientes a las dos fuentes de variación analítica: días y analistas.

Criterios de aceptación:

En la reproducibilidad, el dato que se calcula es el coeficiente de variación total, que debe cumplir con los fines

para los cuales el método será utilizado. En este caso, el método es espectrofotométrico, con un coeficiente de variación total ≤ 3.0 por ciento.

Si $F_{analista1} < F_{analista2}$ (g.l.a.,g.l.d.;0.05), el método es reproducible por los analistas.

Si $F_{dia1} < F_{dia2}$ (g.l.d.,g.l.a-d.;0.05), el método analítico es reproducible en distintos días, por un mismo analista.

En donde:

g.l.a. = grados de libertad analista

g.l.d. = grados de libertad día

g.l.a-d. = grados de libertad analista-día

EXACTITUD 100 por ciento

Definición:

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

Determinación:

El análisis se realiza por sextuplicado, de muestras de placebo, adicionadas de una concentración conocida de la sustancia que se cuantifica, simulando las condiciones de la muestra. La concentración resultante de estas preparaciones debe ser del 100 por ciento, y deben prepararse de manera independiente. Se cuantifican contra una preparación de la sustancia de referencia.

Calculos:

La exactitud se evalúa por medio del modelo probabilístico "t de Student", el cálculo del intervalo de confianza para la media y el cálculo del coeficiente de variación de los datos obtenidos del porcentaje de recobro.

Criterios de aceptación

El método de medición es exacto, si cumple con los siguientes criterios:

1. Si $|t_{cal}| < t_{tab}(n-2, 0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 100 por ciento, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la media que se obtiene en forma

experimental, no es significativamente diferente del 100 por ciento.

2. El valor del coeficiente de variación del porcentaje de recobro, debe ser 3.0 por ciento para técnicas espectrofotométricas.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

Definición:

Mediante este análisis, se pretende conocer las condiciones en las cuales la muestra, en proceso de análisis, mantiene constante su propiedad medible en un lapso determinado. Así se obtiene confiabilidad en los resultados, pues se comprueba que no presenta degradación, antes de medir su respuesta para ser cuantificada. De tal forma que si el análisis es interrumpido por cualquier causa imprevista, no se corre riesgo al continuar posteriormente con el análisis.

Determinación:

El estudio de estabilidad de las soluciones analíticas, se realiza en la forma siguiente: las soluciones finales analizadas previamente, se almacenan en diferentes condiciones, por ejemplo, en refrigeración, en la oscuridad, a

temperatura ambiente y en presencia de luz blanca. Posteriormente se vuelven a analizar en determinados tiempos establecidos.

Calculos:

Los resultados obtenidos se tabulan con base en el formato del anexo I.

Criterio de aceptación:

La media del factor (I) para cada condición/tiempo, se debe encontrar entre los valores del 97.0 por ciento y 103.0 por ciento.

Nota. Los cálculos requeridos para la evaluación de los parámetros, se presentan en el Anexo I.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

Desarrollo del método analítico, para cuantificar Piroxicam en una forma farmacéutica de uso tópico (barra), que presenta la siguiente formulación:

Piroxicam	0.5 g
Excipiente c.b.p.	100.0 g

Límites farmacopeicos:

Por tratarse de una forma farmacéutica innovadora para la administración de este fármaco, no se cuenta con límites farmacopeicos establecidos. Sin embargo se proponen como límites internos del 97.0 por ciento al 103.0 por ciento.

IV.1 PROCEDIMIENTO ANALITICO

a. Reactivos

- * Solución de Acido clorhídrico (7 por ciento v/v en Agua)
- * Metanol R.A.

b. Preparación de la Solución de Referencia.

Pesar con exactitud aproximadamente 25 mg de Piroxicam, sustancia de referencia, transferirlos a un matraz volumétrico

de 100 mL, adicionar 10 mL de Metanol R. A., agitar hasta completa disolución, llevar al aforo con Acido clorhídrico 7 por ciento y mezclar el contenido del matraz. Transferir una alícuota de 1.0 mL a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con Acido clorhídrico 7 por ciento y mezclar.

c. Preparación de la solución de la muestra problema.

Pesar cinco barras, cortarlas en pedazos pequeños, homogeneizar y pesar con exactitud una cantidad de muestra que contenga aproximadamente 5 mg de Piroxicam según el marbete (1.0g de la forma farmacéutica), moler y transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de metanol R. A., agitar y calentar en baño maría durante 5 minutos o hasta que no se observen grumos de excipiente, agitar vigorosamente durante 10 minutos, llevar al aforo con Acido clorhídrico 7 por ciento, mezclar y filtrar, desechando los primeros mililitros del filtrado. Transferir una alícuota de 5.0 mL del filtrado a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con Acido clorhídrico 7 por ciento y mezclar.

d. Procedimiento.

Determinar las absorbancias de cada solución en un espectrofotómetro adecuado, a una longitud de onda de 333 nm, utilizando Acido clorhídrico al 7 por ciento metanólico, como blanco de referencia.

e. Cálculos.

Calcular el contenido de Piroxicam por cada barra, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{g de Piroxicam/barra} = \frac{(A_{pb}/A_{ref}) \times C \times F \times p.p}{M}$$

En donde:

A_{pb} = Absorbancia de la solución de la muestra problema.

A_{ref} = Absorbancia de la solución de la sustancia de referencia.

C = Concentración en la solución final de la sustancia de referencia, expresada en mg/mL.

F = Factor de dilución de la muestra.

M = Muestra utilizada en el análisis, expresada en g.

$p.p.$ = Peso promedio, expresado en g.

IV.2 VALIDACION DEL METODO ANALITICO

La evaluación de los parámetros para validar el método analítico, se realizó de la siguiente manera:

a. Especificidad

Se efectuó un barrido espectrofotométrico en un intervalo de longitudes de onda entre 280 y 380 nm, de las siguientes muestras:

- * Solución de la Sustancia de Referencia
- * Solución de la Muestra Problema
- * Solución del Placebo

Se registraron las absorbancias a 333 nm, que es la longitud de onda en que el Piroxicam presenta máximo de absorbancia.

b. Linealidad del Sistema

Se prepararon a partir de una solución patrón, soluciones de Piroxicam, sustancia de referencia, en cinco diferentes concentraciones (80, 90, 100, 110 y 120 por ciento) de la

concentración de Piroxicam establecida para la metodología (5 µg/mL). Cada una de las concentraciones se analizó por duplicado.

c. Precisión del sistema, evaluada como Repetibilidad

Se evaluó analizando en las mismas condiciones, por sextuplicado una solución preparada con Piroxicam, sustancia de referencia, correspondiente al 100 por ciento.

d. Linearidad del Método

Se analizaron muestras de placebos adicionados con Piroxicam, sustancia de referencia, en concentraciones correspondientes al 80,100 y 120 por ciento de la cantidad contenida en la forma farmacéutica que se analiza. Cada placebo cargado se analizó por triplicado.

e. Exactitud del Método

Se realizó analizando seis muestras diferentes de placebos adicionados de Piroxicam, en una concentración del 100 por ciento establecida para el método.

f. Repetibilidad del Método

Se analizaron en las mismas condiciones seis muestras diferentes de un placebo al que se le adicionó Piroxicam, sustancia de referencia, en una concentración del 100 por ciento de la cantidad contenida en la forma farmacéutica que se analiza.

g. Reproducibilidad del Método

Dos analistas realizaron por triplicado, en días diferentes, la valoración, de muestras de un placebo al que se le adicionó Piroxicam, sustancia de referencia, en una concentración del 100 por ciento de la cantidad contenida en la forma farmacéutica que se analiza.

h. Estabilidad de la muestra analítica

Se analizaron muestras analíticas de un placebo al que se le adicionó Piroxicam, sustancia de referencia, en una concentración del 100 por ciento de la cantidad contenida en la forma farmacéutica que se analiza. Dichas soluciones se prepararon como se indica en "preparación de la solución problema", y se mantuvieron en diferentes condiciones (tres muestras para cada condición):

- * Luz blanca
- * Oscuridad
- * Temperatura ambiente
- * Refrigeración

Las muestras se analizaron a las 0, 3, 6 y 24 horas, utilizando en cada caso, solución de sustancia de referencia, recién preparada.

V. RESULTADOS

Especificidad

En la tabla No. 1 se presentan los resultados de las muestras analizadas para evaluar este parámetro.

Tabla No. 1

	Absorbancia a 333 nm
Piroxicam (Sustancia de referencia)	0.457
Muestra problema (Placebo cargado con Piroxicam)	0.453
Placebo	Despreciable

A continuación se muestran los espectrogramas correspondientes a: Piroxicam (sustancia de referencia), fig. No. 1; Muestra problema, fig. No.2; Placebo, fig. No. 3.

A partir de los datos presentados en la tabla No. 1 y de los espectrogramas obtenidos (figuras 1, 2, y 3), es posible plantear lo siguiente:

a) El espectrograma obtenido con el placebo sin Piroxicam, no presenta absorbancia en las longitudes de onda en que se hizo el corrimiento, por lo que el espectrograma se presenta como línea base totalmente recta, con un valor de absorbancia cercano a cero, lo que indica que los excipientes presentes en la formulación, no interfieren en el método analítico desarrollado para llevar a cabo la identificación y cuantificación del Piroxicam.

b) Entre los espectrogramas de la muestra problema y de la sustancia de referencia se observa una gran semejanza, ya que ambos presentan máximo de absorbancia a la misma longitud de onda y las absorbancias obtenidas en dicha longitud de onda, tienen valores semejantes. Esto indica que en la muestra problema, la absorbancia está dada sólo por la concentración de Piroxicam que se encuentra en la forma farmacéutica analizada.

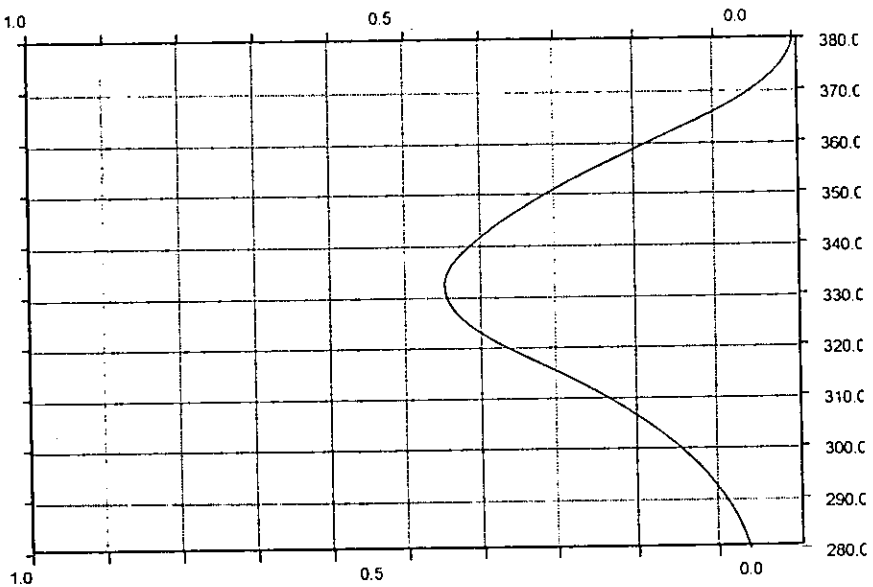
El análisis de estos resultados, indica que el método analítico desarrollado para la determinación de Piroxicam presente en esta forma farmacéutica, es específico.

Figura No. 1

Piroxicam

Sustancia de referencia

ABSORBANCE (nm)

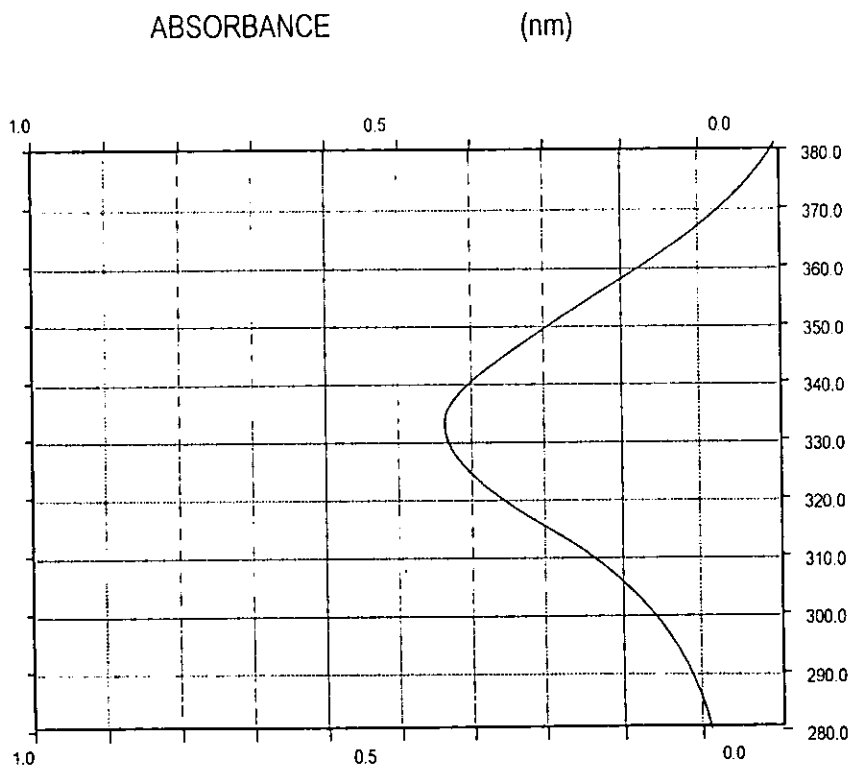


THRESHOLD: 0.100

BATCH: 001

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	17:47	333.0 nm (MAX)	0.457 ABS

Figura No. 2
Muestra Problema



THRESHOLD: 0.100

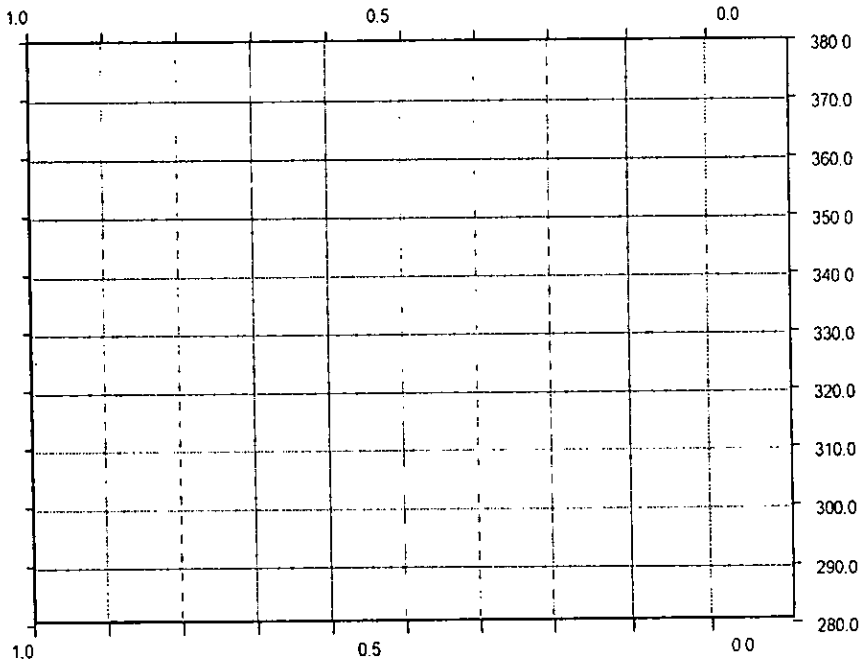
BATCH: 008

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	17:15	333.1 nm (MAX)	0.453 ABS

Figura No. 3

Placebo

ABSORBANCE (nm)



THRESHOLD: 0.100

BATCH: 009

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	17:19	No Peaks detected!	

Linealidad del Sistema

Se presentan a continuación los resultados obtenidos para la linealidad del sistema y la gráfica en donde se puede apreciar la tendencia lineal de los resultados. (Tabla No. 2 y Gráfica No. 1).

Tabla No. 2

Concentración por ciento	Cantidad adicionada $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia a 333 nm
80	4.02	0.353
	4.02	0.352
90	4.50	0.395
	4.50	0.394
100	5.04	0.445
	5.04	0.442
110	5.52	0.479
	5.52	0.478
120	6.00	0.533
	6.00	0.532

Tabla No. 2 (continuación)

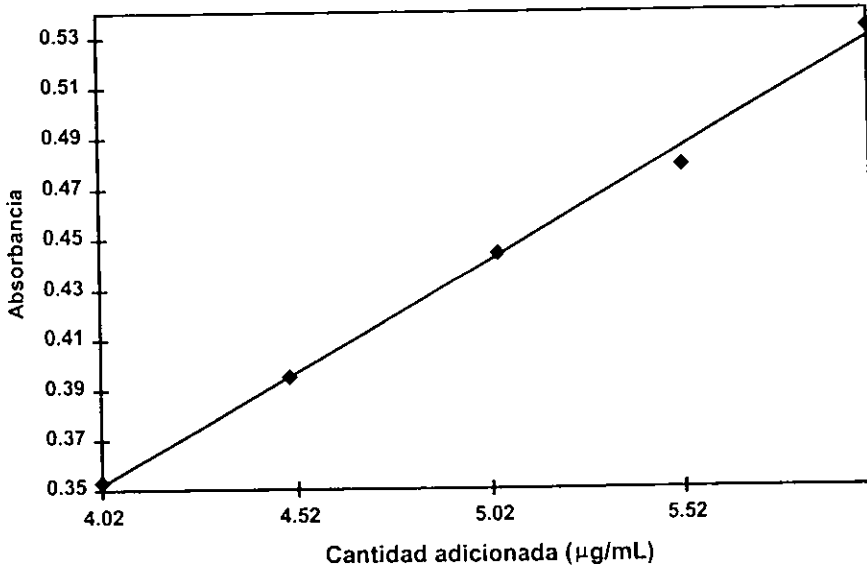
Concentración por ciento	Promedio Cantidad adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Promedio de Absorbancias	Regresión Lineal
80	4.02	0.353	$r = 0.9982$ $r^2 = 0.9964$
90	4.50	0.395	
100	5.04	0.444	
110	5.52	0.479	
120	6.00	0.533	

Nota: La "cantidad adicionada", se refiere a la concentración en $\mu\text{g/mL}$ de la solución final.

Gráfica No. 1

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Piroxicam (Sustancia de referencia)



Los resultados indican que el sistema de medición del método es lineal, ya que el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2) y el coeficiente de variación (C.V.), cumplen con los criterios de aceptación como se muestra a continuación:

a) Coeficiente de correlación (r).

Cumple con el criterio de aceptación, ya que el coeficiente de correlación debe ser $r \geq 0.99$ y el resultado obtenido experimentalmente fue de 0.9982 el cual es mayor.

b) Coeficiente de Determinación (r^2)

Cumple con el criterio de aceptación, el cual indica que el coeficiente de correlación deberá ser $r^2 \geq 0.98$ y el resultado obtenido fue de 0.9979. Por lo tanto, ya no es necesario llevar a cabo la prueba de F, ya que ésta sólo se aplica cuando el coeficiente de determinación obtenido sea muy cercano al valor límite de 0.98. ⁽¹²⁾

Precisión del sistema, evaluada como repetibilidad

En la tabla No. 3 se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de este parámetro

Tabla No. 3

Cantidad adicionada $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia
5.00	0.445
5.00	0.442
5.00	0.443
5.00	0.443
5.00	0.444
5.00	0.444

Nota: La cantidad adicionada se refiere a la concentración en $\mu\text{g/mL}$ en la solución final.

$$n = 6$$

$$\bar{X} = 0.444$$

$$S = 0.001$$

$$\text{C.V.} = 0.24 \text{ por ciento}$$

El sistema de medición se puede considerar como repetible, ya que el coeficiente de variación resultante (0.24 por ciento) es menor del 1.5 por ciento.

Linealidad del Método

En la tabla No. 4 se muestran los diferentes niveles de concentración de Piroxicam en los placebos cargados, la cantidad adicionada, la cantidad encontrada y el porcentaje encontrado. En la gráfica No. 2 se muestra la tendencia lineal de estos resultados.

Tabla No. 4

Concentración por ciento	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad Recuperada (mg)	Porcentaje Encontrado
80	4.08	4.12	100.98
	4.06	4.06	100.00
	4.07	4.06	99.75
100	5.07	5.12	100.99
	5.08	5.10	100.39
	5.08	5.14	101.18
120	6.00	5.97	99.50
	6.04	6.06	100.33
	6.03	6.02	99.83
		C. V.	0.61%

Tabla 4 (continuación)

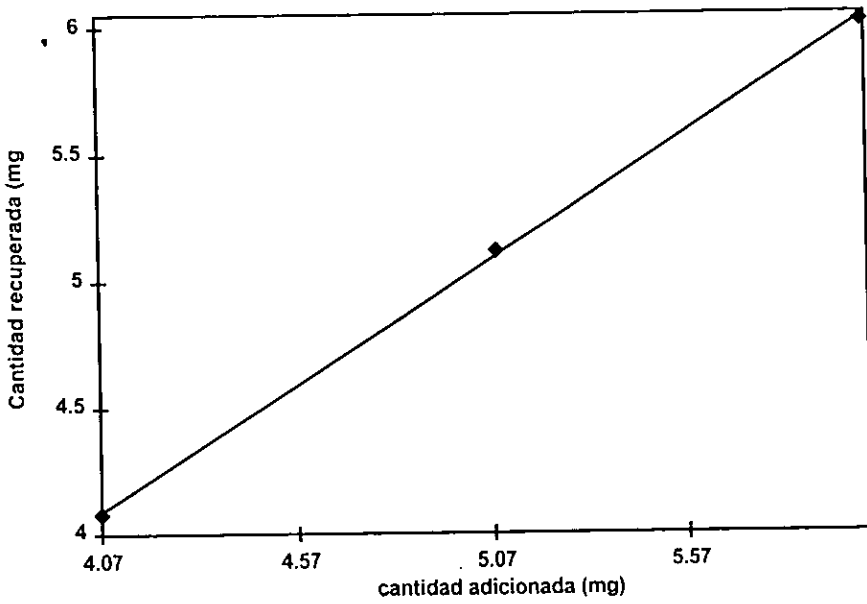
Concentración por ciento	Promedio de Cantidad Adicionada (mg)	Promedio de Cantidad Recuperada (mg)	Regresión Lineal
80	4.07	4.08	m = 0.9953
100	5.08	5.12	b = 0.0404
120	6.02	6.02	r = 0.9998 r ² = 0.9996

Nota: Las cantidades adicionadas y recuperadas, se refieren a la cantidad de Piroxicam (en mg), contenida en las muestras utilizadas.

Gráfica No. 2

LINEALIDAD DEL METODO

Placebos cargados con Piroxicam



Los siguientes resultados corresponden a la prueba de "t de Student", aplicada tanto a la pendiente como a la ordenada al origen obtenidas.

Pendiente	Ordenada al origen
$t_{cal} = -0.2480$	$t_{cal} = 0.3806$
$t_{tab}(3,0.975) = 3.1825$	$t_{tab}(3,0.975) = 3.1825$
I. C. = 0.9953 ± 0.0852	I. C. = 0.0404 ± 0.3379
L. S. = 1.0805	L. S. = 0.3783
L. I. = 0.9101	L. I. = -0.2975

En donde:

t_{cal} = t de Student calculada

t_{tab} = t de Student tablas

I. C. = Intervalo de confianza

L. S. = Límite superior

L. I. = Límite inferior

Estos resultados indican que el método propuesto es lineal, ya que la ordenada al origen (b), la pendiente (m), el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de

determinación (r^2), el por ciento de recobro y el coeficiente de variación (C. V.), cumplen con los criterios de aceptación, como se muestra a continuación:

a) Pendiente (m)

Como $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (3,0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la pendiente, obtenido experimentalmente, no es significativamente diferente de 1.

b) Ordenada al origen (b)

Como $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (3,0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la ordenada al origen, obtenido experimentalmente, no es significativamente diferente de 0.

c) Coeficiente de correlación (r)

Cumple con el criterio de aceptación, ya que el coeficiente de correlación debe ser $r \geq 0.99$ y el resultado obtenido experimentalmente fue de 0.9998, el cual es mayor.

d) Coeficiente de Determinación (r^2)

Cumple con el criterio de aceptación, el cual indica que el coeficiente de determinación deberá ser $r^2 \geq 0.98$ y el resultado obtenido fue de 0.9996. Por lo tanto, ya no es necesario llevar a cabo la prueba de F, ya que ésta sólo se aplica cuando el coeficiente de determinación obtenido es muy cercano al valor límite de 0.98.

e) Porcentaje de recobro.

El criterio de aceptación indica que para métodos espectrofotométricos, el por ciento de recobro a cada nivel y global debe ser entre 97.0 por ciento y 103.0 por ciento, por lo tanto, los resultados obtenidos a cada nivel y en forma global cumplen con el criterio de aceptación.

f) Coeficiente de variación (C.V.).

El criterio indica que el coeficiente de variación para métodos espectrofotométricos a cada nivel y global debe ser ≤ 3.0 por ciento, por lo tanto los resultados obtenidos en cada nivel y en forma global cumplen con el criterio de aceptación.

Repetibilidad y exactitud al 100 por ciento del método

En la tabla No. 5 se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de estos parámetros.

Tabla No. 5

Cantidad Adicionada (mg)	Cantidad Recuperada (mg)	Porcentaje de Recobro
5.07	5.12	100.99
5.08	5.10	100.39
5.08	5.14	101.18
5.07	5.05	99.61
5.06	5.07	100.20
5.00	4.97	99.40

Nota: Las cantidades adicionadas y recuperadas, se refieren a las cantidades de Piroxicam (en mg), contenidas en las muestras utilizadas.

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 100.29 \text{ por ciento}$$

$$S = 0.715$$

$$\text{C. V.} = 0.71 \text{ por ciento}$$

$$t_{\text{cal}} = 0.9930$$

$$t_{\text{tab}} (5, 0.975) = 2.5706$$

Respecto a la Repetibilidad:

Debido a que el Coeficiente de variación obtenido (0.71 por ciento) es menor que el valor límite para métodos espectrofotométricos (3.0 por ciento), se puede considerar que el método propuesto es repetible.

Respecto a la Exactitud:

Intervalo de confianza para el por ciento recuperado:

$$I. C. = 100.29 \pm 2.553$$

$$L.S. = 102.843$$

$$L. I. = 97.737$$

Como $| t_{cal} | < t_{tab} (5, 0.975)$ y los límites de confianza incluyen al 100, entonces se acepta H_0 y se concluye que el valor de la media obtenida experimentalmente, no es significativamente diferente del 100 por ciento, por lo tanto, el método propuesto puede ser considerado como exacto.

Reproducibilidad del Método

En la tabla No. 6 se muestran los resultados obtenidos al ser aplicado el método propuesto, por dos analistas y en días diferentes.

Tabla No. 6

		Analista	
		Porcentaje de Recobro	
Día		1	2
1		100.34	100.15
		99.87	99.89
		100.28	100.15
2		100.25	100.04
		100.18	99.70
		101.08	99.90

$n = 12$

$\bar{x} = 100.15$ por ciento

$S_x = 0.351$

C. V. = 0.35 por ciento

El coeficiente de variación obtenido es menor de 3.0 por ciento, por lo tanto, el método analítico propuesto es reproducible.

Se reafirma lo anterior con los datos presentados en la tabla No. 7 de Análisis de varianza:

Tabla No. 7

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	Ftab
Analista (i)	1	0.3924	0.3924	3.5065	38.51
Día (j)	2	0.2238	0.1119	1.2171	6.06
Error	8	0.7356	0.0920	-----	-----

Ya que para los analistas: $3.5065 < 38.51$. El método analítico propuesto es reproducible por los analistas.

Ya que para los días: $1.2171 < 6.06$. El método analítico propuesto es reproducible en distintos días por un mismo analista.

Estabilidad de la muestra analítica

En la tabla No. 8 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de Piroxicam, después de mantener las soluciones analíticas en las condiciones indicadas.

Tabla No. 8

Tiempo (h)	Condición		
	Por ciento de recobro		
	Luz Blanca	Oscuridad	Refrigeración
0	100.6	100.6	100.6
3	99.8	100.8	100.8
6	99.4	100.6	101.0
24	95.2	100.0	99.8

Calculando el factor I se obtiene:

Tabla No. 8.1

Tiempo (h)	Condición		
	Por ciento de recobro		
	Luz Blanca	Oscuridad	Refrigeración
3	99.2	100.2	100.2
6	98.8	100.0	100.4
24	94.6	99.4	99.2

Como se puede observar en la tabla No. 8.1, bajo las condiciones de Oscuridad y Refrigeración, la muestra es estable durante 24 horas; bajo la condición de Luz Blanca, se observa que la muestra es estable durante 6 horas, pero a las 24 horas, ya no es estable, pues se obtiene un valor del factor I que ya no se encuentra en el intervalo de aceptación que es de 97.0 por ciento al 103.0 por ciento.

VI. CONCLUSIONES.

Basándose en los resultados obtenidos al aplicar el método analítico propuesto para la valoración de Piroxicam, en la forma farmacéutica de barra, para uso tópico, se plantean las siguientes conclusiones:

1.- El método propuesto para la valoración de Piroxicam en la forma farmacéutica de barra, es específico, ya que la absorbancia presentada por el placebo que contiene todos los componentes de la formulación, excepto Piroxicam, fue despreciable, lo que indica que los excipientes presentes en la barra, no producen absorbancia detectable, que pueda afectar a la respuesta producida por el Piroxicam en las condiciones de la determinación.

Por otra parte, los espectrogramas de las soluciones obtenidas a partir de la Sustancia de referencia y de la muestra del placebo con todos los componentes de la formulación (al 100 por ciento), son semejantes, lo cual corrobora que la absorbancia obtenida de la muestra problema corresponde únicamente al Piroxicam.

2.- Con respecto a la validación del sistema se concluye que:

- El sistema es lineal, lo cual se observa en la gráfica No. 1, obtenida al realizar la valoración de Piroxicam, sustancia de referencia, en un intervalo de concentraciones de 80, 90, 100, 110 y 120 por ciento. Mediante tratamiento estadístico de los datos obtenidos, se encontró un coeficiente de correlación (r) mayor de 0.99 y un coeficiente de determinación (r^2) mayor de 0.98

- El sistema es repetible, ya que en las pruebas realizadas con una misma solución de la sustancia de referencia de Piroxicam (100 por ciento), el coeficiente de variación obtenido (C.V.) fue menor de 1.5 por ciento.

3.- Con respecto a la validación del método propuesto se concluye que.

- El método propuesto es lineal, lo cual se observa en la gráfica No. 2 que muestra la tendencia lineal al valorar Piroxicam en placebos cargados, en un intervalo de concentraciones de Piroxicam de 80, 100 y 120 por ciento. También se comprobó la linealidad al realizar el análisis de las pruebas de t , donde los valores obtenidos de la

ordenada al origen y de la pendiente no son significativamente diferentes de 0 y de 1 respectivamente; además de que el coeficiente de correlación (r) obtenido es mayor de 0.99, el coeficiente de determinación (r^2) es mayor de 0.98, los porcentajes de recobro se encuentran dentro de los límites (97.0 por ciento al 103.0 por ciento) y el coeficiente de variación es menor del 3.0 por ciento, por lo que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

- El método propuesto es exacto, ya que el resultado de la prueba de t , demuestra que el valor de la media experimental no es significativamente diferente del 100 por ciento de la cantidad de Piroxicam, expresada en el marbete de la forma farmacéutica estudiada.

- El método propuesto es repetible, ya que en las determinaciones realizadas en una muestra de placebo cargado al 100 por ciento, el coeficiente de variación fue menor de 3.0 por ciento.

- El método propuesto es reproducible, ya que al realizar las pruebas de valoración de Piroxicam, en una muestra de placebo cargado al 100 por ciento, bajo diferentes factores de variación, los resultados cumplen satisfactoriamente con

los criterios de aceptación especificados para el coeficiente de variación (C.V.), siendo éste menor de 3.0 por ciento. Respecto al análisis de varianza efectuado, no se presenta efecto alguno debido al factor analista ni al factor día.

4.- Las solución final de la muestra analítica obtenida al aplicar el método propuesto es estable, durante 24 horas, bajo las condiciones de obscuridad y refrigeración. Expuesta a la luz blanca, es estable solamente durante 6 horas.

Conclusión final

Los resultados obtenidos muestran que los parámetros evaluados en el método propuesto, cumplen satisfactoriamente con los criterios de aceptación establecidos en la validación de métodos analíticos. Así, se demuestra que el método propuesto es confiable como indicador de control de calidad, para la cuantificación de Piroxicam en una forma farmacéutica para uso tópico (barra).

ANEXO I

1. LINEALIDAD DEL SISTEMA

1.1 Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Concentración de la Dilución de la solución Patrón (x)	Propiedad medida (y)
x_1	$y_{11}, y_{12} \dots y_{1n}$
x_2	$y_{21}, y_{22} \dots y_{2n}$
.	.
.	.
.	.
x_t	$y_{t1}, y_{t2} \dots y_{tn}$

t = Número de diluciones

n = Número de replicaciones (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón.

Ecuaciones matemáticas para determinar la linealidad del sistema:

1.2 Cálculos preliminares para el coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$\Sigma x = n (x_1 + x_2 + \dots + x_t)$$

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} + \dots + y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\Sigma x^2 = n (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_t^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 + y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\Sigma xy = x_1(y_{11} + y_{12} + y_{1n}) + x_2(y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n}) + \dots + x_t(y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn})$$

n = Número de replicaciones (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón.

x = Concentración de las diluciones realizadas a la solución patrón.

y = Propiedad medida.

1.2 Cálculos finales para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$r = \left[\frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$r^2 = \frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

1.4 Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

1.4.1 Calcular para cada punto de la linealidad del sistema del sistema el siguiente factor (F)

$$F = \frac{\text{Propiedad medida (y)}}{\text{Conc. de la dilución de la solución patrón (x)}}$$

1.4.2 Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados y la media del factor.

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \dots + F_{t1} + F_{t2} + F_{tn}$$

$$\Sigma F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{t1}^2 + F_{t2}^2 + F_{tn}^2$$

$$\bar{F} = \frac{\Sigma F}{N}$$

Donde: N = número de puntos de la linealidad del sistema

1.5 Cálculos finales para el coeficiente de variación.

$$DE = \left[\frac{N (\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N (N - 1)} \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{C.V.} = \frac{\text{DE}}{\bar{F}} \times 100$$

Donde

DE = Desviación estándar

C.V. = Coeficiente de variación

2. PRECISION DEL SISTEMA

2.1 Tabular los resultados

$y_1, y_2, y_3, \dots, y_N$

2.2 Cálculos preliminares

$$\Sigma y = y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_n$$

$$\Sigma y^2 = y_1^2 + y_2^2 + y_3^2 + \dots + y_n^2$$

$$\bar{y} = \frac{\Sigma y}{N}$$

$$DE = \left[\frac{N (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

Donde:

y = Propiedad medida

N = Número de repeticiones

2) Cálculos finales:

$$C.V. = \frac{DE}{\bar{y}} \times 100$$

3. LINEALIDAD DEL METODO.

3.1 Tabular los resultados

Cantidad Adicionada (x)	Cantidad Recuperada (y)
$X_{11}, X_{12}, \dots, X_{1n}$	$Y_{11}, Y_{12}, \dots, Y_{1n}$
$X_{21}, X_{22}, \dots, X_{2n}$	$Y_{21}, Y_{22}, \dots, Y_{2n}$
$\cdot \quad \cdot \quad \cdot \quad \cdot$	$\cdot \quad \cdot \quad \cdot \quad \cdot$
$X_{n1}, X_{n2}, \dots, X_{nn}$	$Y_{n1}, Y_{n2}, \dots, Y_{nn}$

3.2 Cálculos preliminares

$$\Sigma X = x_{11} + x_{12} + \dots + x_{1n} + x_{21} + x_{22} + \dots + x_{2n} + \dots + x_{n1} + x_{n2} + \dots + x_{nn}$$

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{n1} + y_{n2} + \dots + y_{nn}$$

$$\Sigma X^2 = x_{11}^2 + x_{12}^2 + \dots + x_{1n}^2 + x_{21}^2 + x_{22}^2 + \dots + x_{2n}^2 + \dots + x_{n1}^2 + x_{n2}^2 + \dots + x_{nn}^2$$

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{n1}^2 + y_{n2}^2 + \dots + y_{nn}^2$$

$$\Sigma XY = x_{11}y_{11} + x_{12}y_{12} + \dots + x_{1n}y_{1n} + x_{21}y_{21} + x_{22}y_{22} + \dots + x_{2n}y_{2n} + \dots + x_{n1}y_{n1} + x_{n2}y_{n2} + \dots + x_{nn}y_{nn}$$

3.3 Cálculo de la pendiente (m) de la línea de regresión.

$$m = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

3.4 Cálculo de el intercepto (b) de la línea de regresión.

$$b = \frac{\sum y - m(\sum x)}{n}$$

Para la linealidad del método, además efectuar los siguientes cálculos:

a) Prueba de "t de Student" para la pendiente:

$$H_0: m = \alpha$$

$$H_1: m \neq \alpha \quad \alpha = 1$$

$$t_{cal} = \frac{[(m - \alpha)] (S_x) ((n - 1)^{1/2})}{S_{y/x}}$$

b) Prueba de "t de Student" para la ordenada al origen:

$$H_0: b = \beta$$

$$H_1: b \neq \beta \quad \beta = 0$$

$$t_{cal} = \frac{b - \beta}{S_{y/x} \left[\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2} \right]^{1/2}}$$

Desviación Estándar en la dirección y ($S_{y/x}$)

$$S_{y/x} = \left[\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right]^{1/2}$$

c) Intervalos de confianza:

- Desviación estándar para la ordenada al origen (Sb).

$$S_b = S_{y/x} \left[\frac{\sum x_i^2}{n [\sum (x_i - \bar{x})^2]} \right]^{1/2}$$

c.1. Límites de confianza para la ordenada al origen.

$$LC_b = b \pm [t_{\text{tab } (n-2, 0.975)}] [S_b]$$

- Desviación estándar para la pendiente (Sm)

$$S_m = \frac{S_{y/x}}{[\sum (x_i - \bar{x})^2]^{1/2}}$$

c.2. Límites de confianza para la pendiente.

$$LC_m = m \pm [t_{\text{tab } (n-2, 0.975)}] [S_m]$$

donde:

m = valor experimental de la pendiente

α = valor teórico de la pendiente = 1

b = valor experimental de la ordenada al origen

β = valor teórico de la ordenada al origen = 0

x_i = cantidad adicionada del fármaco

y_i = cantidad encontrada del fármaco

\bar{x} = media de las cantidades adicionadas

S_x = desviación estándar de las cantidades adicionadas

N = número de replicaciones de cada dilución.

t = número de diluciones

n = número de determinaciones

\hat{y}_i = Los valores de \hat{y}_i son los puntos sobre la línea de regresión calculada y corresponden a los valores individuales de x_i . Los valores de \hat{y}_i para un valor dado de x_i , son fácilmente calculados de la ecuación de regresión.

3.5 Cálculo del coeficiente de determinación (r^2).

$$r^2 = \frac{[N t (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y)]^2}{[N t (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2] [N t (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

3.6 Cálculo de coeficiente de correlación (r).

$$r = (r^2)^{1/2}$$

Los datos de la curva de calibración se sujetan a un análisis de varianza en donde los parámetros de evaluación son las F resultantes de la distribución y tratamiento de datos. Por lo tanto, se tienen F de regresión y F de falta de ajuste a la relación lineal simple. Este análisis de varianza puede no realizarse, ésto dependiendo que tan cerca se encuentren los valores experimentales de los valores teóricos.

3.7 Construcción de la tabla de análisis de varianza.

a) Scr = Suma de cuadrados de regresión.

$$Scr = (m) (\Sigma xy) + (b) (\Sigma y) - (\Sigma y)^2 / n$$

b) SCer = Suma de cuadrados del error de regresión.

$$SCer = \sum y^2 - (m) (\sum xy) - (b) (\sum y)$$

c) SCep = Suma de cuadrados del error puro.

$$SCep = \sum y^2 - (\sum y^2) / r$$

d) SCfa = Suma de cuadrados de la falta de ajuste.

$$SCfa = SCer - SCep$$

Tabla 1

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fexp
Regresión	1	SCr	SCr	$F_r = \frac{M_{Cr}}{M_{Cer}}$
Error de Regresión	n-2	SCer	$\frac{SCer}{g.l.e.r.}$	
Falta de Ajuste	(n-2) - t(r-1)	SCfa	$\frac{SCfa}{g.l.f.a.}$	$F_{fa} = \frac{M_{cfa}}{M_{cep}}$
Error Puro	t(r-1)	SCep	$\frac{SCep}{g.l.e.p.}$	

t = Número de concentraciones

r = Número de replicaciones por concentración

n = rt = Número de pares ordenados.

4. REPETIBILIDAD

Ecuaciones matemáticas para la evaluación de la repetibilidad

4.1 Determinar la media (\bar{y}) de los resultados

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{N}$$

4.2 Determinar la desviación estándar de los resultados

$$S = \left[\frac{N (\sum y^2) - (\sum y)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

4.3 Determinar el coeficiente de variación

$$\text{C.V.} = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

5. EXACTITUD AL 100 por ciento

Ecuaciones matemáticas para la evaluación de la exactitud del método.

5.1 Calcular el porcentaje de recobro R en cada una de las muestras.

5.2 Calcular la media aritmética del porcentaje de recobro.

$$\bar{R} = \frac{\sum R_i}{N}$$

5.3 Calcular la desviación estándar del porcentaje de recobro.

$$S = \left[\frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

5.4 Determinar el Coeficiente de variación

$$\text{C.V.} = \frac{S}{\bar{R}} \times 100$$

5.5 Prueba de "t de Student" para la media.

$H_0 : R = \mu$ donde: $\mu = 100$ por ciento

$H_0 : R = \mu$

$$t_{\text{cal}} = \frac{R - \mu}{\sigma_y} \quad \text{donde: } \sigma_y = S / (N)^{1/2}$$

- Intervalo de confianza del porcentaje encontrado (I. C.)

$$I. C. = R \pm t_{(n-1, 0.975)} [\sigma y]$$

6. REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

6.1 Tabular los resultados de acuerdo al siguiente formato:

		Analista (i)	
		por ciento de recobro	
Día (j)	1	2	
1	y_{111}	y_{211}	
	y_{112}	y_{212}	
	y_{113}	y_{213}	
2	y_{121}	y_{221}	
	y_{122}	y_{222}	
	y_{123}	y_{223}	

Donde "y" es el resultado de cada analista (primer subíndice) en cada día (segundo subíndice) para cada repetición (tercer subíndice).

6.2 Calcular las siguientes sumatorias

$$\Sigma y_{ijk} = (y_{111} + y_{112} + y_{113} + y_{121} + \dots + y_{223})$$

$$\Sigma y_i^2 = (y_{111} + y_{112} + y_{113} + y_{121} + y_{122} + y_{123})^2 + (y_{211} + y_{212} + y_{213} + y_{221} + y_{222} + y_{223})^2$$

$$\Sigma y_j^2 = (y_{111} + y_{112} + y_{113} + y_{211} + y_{212} + y_{213})^2 + (y_{121} + y_{122} + y_{123} + y_{221} + y_{222} + y_{223})^2$$

$$\Sigma y_{ii}^2 = (y_{111} + y_{112} + y_{113})^2 + (y_{121} + y_{122} + y_{123})^2 + (y_{211} + y_{212} + y_{213})^2 + (y_{221} + y_{222} + y_{223})^2$$

$$\Sigma y_{ijk}^2 = [(y_{111})^2 + (y_{112})^2 + (y_{113})^2 + \dots + (y_{223})^2]$$

6.3 Calcular la suma de cuadrados del analista (SCa), con la siguiente fórmula.

$$SCa = \frac{\Sigma y_i^2}{jk} - \frac{(\Sigma y_{ijk})^2}{ijk}$$

6.4 Calcular la suma de cuadrados del día (SCd), con la siguiente fórmula.

$$SCd = \frac{\Sigma y_{ij}^2}{k} - \frac{\Sigma y_i^2}{jk}$$

6.5 Calcular la suma de cuadrados del error (SCe) con la siguiente fórmula

$$\sum y_{ijk}^2 - \sum y_{ij}^2$$

$$SCe = \frac{\text{-----}}{k}$$

6.6 Con los datos anteriores construir la tabla de Analisis de Varianza.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	Ftab
Analista (i)	gla = a-1	SCa	$Mca = \frac{SCa}{gla}$	$Fca = \frac{Mca}{MCad}$	Fgla/gld
Día (j)	gld=(j-1)	SCd	$Mcd = \frac{SCd}{gld}$	$Fcd = \frac{Mcd}{MCad}$	Fgld/gle
Error	gle=ij (k-1)	SCe	$Mce = \frac{SCe}{gle}$	-----	-----

6.7 Analizar la interpretación de los resultados

Si $F_a < F_{gla, gld; 0.05}$ El método analítico es reproducible por los analistas.

Si $F_a \geq F_{gla, gld; 0.05}$ El método analítico no es reproducible por los analistas

Si $F_d < F_{gld, gle; 0.05}$ El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

Si $F_d \geq F_{gld, gle; 0.05}$ El método analítico no es reproducible en distintos días por un mismo analista.

7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

Los resultados obtenidos se tabulan con base en el siguiente formato, para calcular el coeficiente de variación.

Tiempo	Condición por ciento de recobro		
	Luz blanca	Oscuridad	Refrigeración
0	y ₁	y ₂	y ₃
3	y ₄	y ₅	y ₆
6	y ₇	y ₈	y ₉
24	y ₁₀	y ₁₁	y ₁₂

Cálculo del coeficiente de variación:

Para cada condición/tiempo/muestra, calcular el factor (I) con la siguiente fórmula:

$$I = \frac{\text{(análisis muestra/condición/tiempo)}}{\text{(análisis inicial)}} \times 100$$

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Goodman & Gilman A. y cols.
Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.
Novena Edición.
Editorial Mac Graw Hill Interamericana
Vol. I México, D. F. (1996)
Págs. 687 - 689
2. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Septima Edición
Tomo I
Secretaría de Salud
México, D. F. (2000)
Págs. 266 - 269
3. Wesley G., D. Clark, D. C. Brater, A. R. Johnson
Farmacología Médica
13a. edición
Editorial Mosby División de Times Mirror de España, S.A.
Barcelona España, (1992)
Págs. 370 – 371

4. Smith C. M., A. M. Rayner,
Farmacología
Segunda edición
Editorial Médica Panamericana
México, D. F., (1993)
Págs. 412, 413 y 418

5. Diccionario de especialidades farmacéuticas
Edición 44
México, D. F., (1998)
Ediciones PLM, S. A. de C. V.
Págs. 379 y 771

6. Dictionary of Drugs
Chemical Data, Structures
Elks J., Genellin C. R.
Editores Chapman Hall
Primera Edición
Great Britain (1990)
Pág. 999

7. USP 24, NF 19

The United States Pharmacopeial Convention, Inc.

National Publishing

Philadelphia, PA. (1999)

Págs. 1342 y 1343

8. Remington's Pharmaceutical Science

19ª. Edición

Editorial Médica Panamericana, S. A. de C. V.

Buenos Aires, Argentina, (1995)

Pág. 1847

9. Clarke E. G. C. y cols.

Isolation and Identification of Drugs

2ª. Edición

Editorial The Pharmaceutical Press

London, (1986)

Pág. 610

10. Comité de Guías de validación

Requisitos mínimos para la validación de un método analítico

Colegio Nacional de Q.F.B.

Secretaría de Salud, México (1991)

11. Hokanson, C.

A life cycle approach to the validation of analytical methods during pharmaceutical product development.

Part I. The initial method validation process.

Farmaceutical Technology . 18 (9). (1994)

Págs. 118-130.

12. Walpole, R. E.

Probabilidad y Estadística para Ingenieros

Editorial Mc. Graw-Hill

Segunda Edición

México, D. F., (1989)

13. Willard, H. H.

Métodos Instrumentales de Análisis

1ª. Edición

Editorial Compañía Continental

México (1992)

Págs. 451, 207, 715-743

14. Lombardino J. G. and E. H. Wiseman

Sudoxicam and Related N-Heterocyclic Carboxamides of
4-Hydroxy-2H-1,2-benzothiazine 1,1-Dioxide. Potent
Nonsteroidal Antiinflammatory Agents.

February 3, (1972)

15. Lombardino J. G., E. H. Wiseman and J. Chiaini

Potent Antiinflammatory N-Heterocyclic 3-Carboxamine of 4-
Hidroxy-2-metil-2H-1,2-benzothiazine 1,1-Dioxide

August 11, (1972)

16.The Merck Index

An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals

12^a. Edición

Publicado por Research Laboratories, Division of
MERCK & CO., Inc.

Whitehouse Station, NJ. USA (1996)

No. de compuesto 7661

Pág. 1292.