



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Química

Desarrollo y Validación de un Método
Espectrofotométrico, para determinar Naproxen en
tabletas.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

P R E S E N T A

Juana Sixtos Serrano



México, D.F.

2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente	Pedro Villanueva González
Vocal	María del Socorro Alpizar Ramos
Secretario	Honorio Fuentes Sixtos
1er. Suplente	Araceli Patricia Peña Álvarez
2do. Suplente	Iván Alejandro Franco Morales

Sitio en donde se desarrolló el tema:

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio 3-D, del Edificio A, Facultad de Química, Circuito interior, CD. Universitaria, a cargo del Prof.: Pedro Villanueva González.

Asesor del Tema: **Pedro Villanueva González:**

Sustentante: **Juana Sixtos Serrano:**

CONFIANZA

Confianza significa vivir positivamente, creer en lo mejor; esperar que los planes funcionen tal y como los has trazado, tener la certeza que encontrarás todas las respuestas que necesitas, conservar la paciencia cuando las dudas invaden.

Confianza es sentir que se pueden alcanzar aquellas metas "imposibles", tomar el anhelo más preciado que se tenga y tratar de hacerlo realidad. Es saber que posees algo especial que ofrecer, y talentos singulares para compartir. Es asumir una actitud optimista capaz de abrirte nuevas puertas dondequiera.

Saber que Dios siempre está a nuestro lado y vela por nosotros, nos llena de paz y serenidad. Y aunque a veces pensamos que se ha alejado de nuestro camino, en nuestro corazón tenemos la certeza que Él nos ama y podemos encontrar esperanza en su palabra, consuelo en su Sabiduría y refugio en su Amor.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

*Este trabajo se lo dedico a **mi Mamá** (Yolanda) y a **mi Hermana** (Rosa), quiero darles las gracias por su apoyo incondicional, por brindarme la oportunidad de culminar esta meta, por que este logro es de ustedes también, gracias por confiar en mí, gracias por haber hecho de mí una persona de bien, por que nunca terminare de agradecerles todo lo que me han brindado, las quiero mucho.*

*Este logro también te lo dedico a tí **Oscar** (mi esposo), gracias por darme la confianza, apoyo y comprensión, gracias por estar conmigo en todo momento, por acompañarme en este camino y por hacer de mis logros, mis tristezas, mis alegrías, parte de ti, Te Amo.*

A mis Tíos Anita, Micaela, Goyo, a mis primos: Miguel y Juan, por haberme apoyado siempre en todos mis anhelos y mis logros.

A mis suegros Juana y Gabriel por haber confiado en mí, por se parte importante de esta meta, muchas gracias por todo.

Al Sr. Manuel y la Sra. Estela por toda la ayuda brindada para la realización de esta meta, ya que ustedes fueron parte importante y gracias a su apoyo este trabajo llego a ser culminado

A mis profesores, por haberme transmitido su conocimiento, y por darme la oportunidad de aprender de ustedes.

A mi asesor Pedro Villanueva, muchas gracias por haberme permitido colaborar en este proyecto, por todo el apoyo brindado para la culminación de esta tesis, por todo el conocimiento transmitido, y sobre todo por confiar en mí capacidad.

A las profesoras Honoria Sixtos y Ma. del Socorro Alpizar, por el apoyo brindado para la realización y corrección de esta tesis, y por todos sus conocimientos brindados.

A mis amigos: Brenda, Yareli, Leobardo, Abraham, Jorge, Cristian, Sonia, Belem, Tonantzin, por todos esos buenos ratos, que pasamos juntos, por todas esas tardes de presión por los exámenes, por todas esas alegrías de saber que habíamos aprobado las materias, por todos los trabajos que realizamos juntos, y por todos los recuerdos que han quedado en nuestra memoria.

Gracias Dios por permitirme terminar este proyecto tan importante y por rodearme de gente tan maravillosa.

INDICE

	Pág.
Introducción.....	8
Objetivos.....	10
CAPÍTULO 1. “Generalidades”	
1.1 Definición de Validación.....	12
1.2 Clasificación de Métodos Analíticos.....	13
1.3 Normatividad Nacional e Internacional.....	15
1.4 Propiedades Físicas y Químicas del Naproxen.....	21
1.5 Monografía del Naproxen.....	21
1.6 Acciones Farmacológicas e Indicaciones Terapéuticas.....	25
1.7 Farmacocinética y Farmacodinamia del Naproxen.	26
1.8 Información Farmacológica del Naproxen.....	27
1.9 Espectrofotometría UV-Vis.....	30
1.10 Otros Métodos para Determinar Naproxen.....	32
CAPÍTULO 2. “Desarrollo Experimental”	
2.1 Material.....	34
2.2 Reactivos.....	35
2.3 Equipo.....	35
2.4 Pruebas de Solubilidad.....	36
2.5 Obtención del Espectro de Absorción del Naproxen.....	36
 <i>Parámetros de Desempeño del Sistema</i>	
2.6 Especificidad del Sistema.....	37
2.7 Linealidad del Sistema.....	39
2.8 Precisión del Sistema.....	39

	<i>Pág.</i>
<i>Parámetros de Desempeño del Método</i>	
2.9 Exactitud y Repetibilidad del Método.....	40
2.10 Linealidad del Método.....	41
2.11 Precisión Intermedia.....	42
2.12 Estabilidad de la Muestra.....	43
2.13 Cuantificación de Naproxen en Productos Farmacéuticos Comerciales.....	44
CAPÍTULO 3. “Resultados Experimentales”	
3.1 Pruebas de Solubilidad.....	48
3.2 Espectro de Absorción del Naproxen en etanol.....	48
<i>Parámetros de Desempeño del Sistema</i>	
3.3 Especificidad del Sistema.....	50
3.4 Linealidad del Sistema.....	52
3.5 Precisión del Sistema.....	55
<i>Parámetros de Desempeño del Método</i>	
3.6 Linealidad del Método.....	57
3.7 Exactitud y Repetibilidad del Método.....	61
3.8 Precisión Intermedia.....	63
3.9 Estabilidad de la Muestra.....	66
<i>Determinación de Naproxen en Producto Comercial</i>	
3.10 Determinación de Naproxen en Producto Comercial.....	69
CAPÍTULO 4. Análisis de Resultados y Conclusiones.....	72
GLOSARIO.....	75
ANEXOS.....	78
BIBLIOGRAFÍA.....	84

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tiene la finalidad de ofrecer un método analítico alternativo al que se encuentra documentado, que proporcione confiabilidad en los resultados y que disminuya los costos de análisis para el producto terminado de Naproxen (forma farmacéutica tabletas).

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro los intervalos definidos.

La validación proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico y se realiza con carácter obligatorio cuando se desarrolla un nuevo procedimiento, ya que permite asegurar que el método propuesto cumpla con los requerimientos establecidos.

La validación de métodos analíticos es parte fundamental para el desarrollo de una formulación así como de la técnica de análisis para una determinada forma farmacéutica, debido a que durante la serie de pruebas que se realizan, el químico puede darse cuenta en el estudio, si el método cumple con los propósitos prácticos para los cuales fue diseñado. De acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación es indispensable que todos los métodos analíticos que se emplean estén validados.

T Una de las características más importantes de toda empresa es la calidad de sus productos, ya que de ésta dependerán tanto el prestigio como el desarrollo económico y el crecimiento de la misma. Atendiendo a esta necesidad se han venido formulando diferentes programas y parámetros por varias instituciones para lograr el aseguramiento de la calidad de los distintos productos.

Entre los instrumentos regulatorios más importantes se tiene a nivel nacional la Secretaría de Salud (SSA); a nivel internacional la Food and Drug Administration (FDA), ISO 9000, las Good Manufacturing Procedures (GMP's) y Good Laboratory Procedures (GLP's).

Por este motivo es necesario el uso de la estadística puesto que la necesidad de tecnificar el proceso de validación exige el tratamiento estadístico para el manejo y análisis de los datos permitiendo juicios con criterio que llevan a una correcta evaluación.

Los productos farmacéuticos deben de poseer ciertas características para cumplir con la normatividad oficial así como con la reglamentación interna de la empresa, por lo que el método analítico a utilizar debe medir las características críticas de calidad del producto.

La validación de métodos analíticos es un sistema involucrado en lo procesos de fabricación en el área de calidad de la empresa y con está las Autoridades Regulatorias verifican que los sistemas cumplan con estos sistemas con actividades documentadas.

La validación proporciona, una seguridad de la confiabilidad de dichos métodos, además de impactar en otras áreas relacionadas a la calidad de un producto como puede ser la estabilidad, limpieza de equipos, entre otras.

No hay que olvidar que el factor mas importante durante la validación de todo método analítico es siempre el criterio del profesional, responsable de esta decisión, criterio que es necesario aplicar después de tomar en cuenta todos los factores relacionado con el, o los principios activos, concentraciones, forma farmacéutica, tipo de muestra, método de análisis, propósito de la técnica analítica, instrumentación, sustancias relacionadas, etc.

OBJETIVOS:

- Desarrollar un método analítico para determinar Naproxen en tabletas, que sea rápido, fácil y de bajo costo, además de que ofrezca confiabilidad y precisión en los resultados.

- Verificar en forma documentada que la metodología propuesta cumpla con los propósitos prácticos de medición para los cuales ha sido optimizada.

- Validar el método utilizando los parámetros establecidos en la Guía de Validación de métodos analíticos.

- Después de validar el método analítico, cuantificar el Naproxen en tabletas fabricadas por diferentes laboratorios farmacéuticos.

CAPÍTULO 1

"Generalidades"

CAPÍTULO 1

GENERALIDADES.

1.1 DEFINICIÓN DE VALIDACIÓN.

La Guía de Validación de Métodos Analíticos (Expedida por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A. C), define la **Validación** como el Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

La Guía CIPAM de Buenas Prácticas de Fabricación. “Procesos de limpieza y su validación en áreas de fabricación”, se refiere a la **Validación de un método analítico** como el proceso por el cual queda establecido experimentalmente, que la capacidad del método satisface consistentemente los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

El Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2003, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, define a la **Validación** como la evidencia documentada que muestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones de calidad establecidas, y a la **Validación de proceso** como la evidencia documentada de que el proceso, operado dentro de parámetros establecidos puede rendir efectiva y reproduciblemente para producir un producto médico que satisfaga sus especificaciones determinadas y atributos de calidad.

La Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines Edición 2002 Versión 2 define a la **Validación** como El acto de documentar y demostrar que los procedimientos, procesos y actividades son consistentes con los resultados. Incluyendo la calificación de sistemas y equipos.

1.2 CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Los métodos analíticos se clasifican de acuerdo a:

Su estado regulatorio

- ✓ Métodos farmacopeicos: Todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM, USP, BP, Europea, etc.).
- ✓ Métodos No farmacopeicos: Aquellos métodos no incluidos en una Farmacopea.

Su aplicación en la industria farmacéutica (NOM 059 SSA1 Y NOM-073-SSA1):

- ✓ Métodos para producto a granel
- ✓ Métodos para producto terminado
- ✓ Métodos para materia prima
- ✓ Métodos indicadores de estabilidad.

Su función de la respuesta analítica en: Métodos físico-químicos.

- ✓ Cuando la respuesta es de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje, etc.)
- ✓ Cuando la respuesta es de carácter químico (Consumo de iones $-OH$, consumo de un acomplejante, etc.).

La función de su propósito analítico para:

- ✓ Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia)
- ✓ Métodos para establecer la presencia del analito a un límite
- ✓ Métodos para identificar el analito
- ✓ Cualquier método analítico puede estar constituido por técnicas de separación, extracción, etc., y por técnicas de medición (espectrofotometría, volumetría, colorimetría, potenciometría, etc.) que permiten medir la respuesta del analito en la muestra.

De acuerdo al sistema de medición:

- ✓ Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido (cromatógrafo de líquido, cromatógrafo de gases, espectrofotómetros, etc.)
- ✓ Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros, etc.).

La USP XX26/NF 21 refiere una clasificación de categorías para La Validación de Métodos Compendiales, que menciona los parámetros a evaluar durante la validación de métodos analíticos.

- ✓ Categoría I. Utilizar Métodos analíticos para cuantificar los componentes principales de los principios activos (Granel) en productos farmacéuticos terminados.
- ✓ Categoría II. Utilizar Métodos Analíticos para la determinación de impurezas y en los principios activos a granel y compuestos de degradación en productos farmacéuticos terminados.
- ✓ Categoría III. Utilizar Métodos Analíticos para determinar parámetros como disolución, liberación de fármaco, etc.
- ✓ Categoría IV. Pruebas de identificación o pruebas de propiedades físicas.

1.3 NORMATIVIDAD NACIONAL E INTERNACIONAL.

En el Reglamento de Insumos para la Salud, publicado en el Diario Oficial el 4 de febrero de 1998 que hace referencia a los establecimientos que se destinan a la fabricación de insumos sean estas materias primas, aditivos, medicamentos, fármacos, menciona lo siguiente:

<i>Artículo</i>	<i>Contenido</i>
15	Los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos, llevarán el control analítico de éstos. Dicho control deberá incluir: III. La validación de las técnicas empleadas.

El Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2004, Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, menciona lo siguiente sobre la Validación de Métodos Analíticos:

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
5.8	El responsable del más alto nivel jerárquico del área de producción se encargará de que la producción de los medicamentos se realice de acuerdo a los estudios de validación y orden maestra aprobada, garantizando que se cumple con las especificaciones de producto establecidas y el contenido de esa norma.
5.9.5	Aprobar todos los estudios del Plan Maestro de Validación.

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
9.5 9.5.1.17	Control de la Producción. Deberán existir tiempos definidos para cada etapa crítica del proceso de producción y cuando el producto no se envase inmediatamente, se deben especificar sus condiciones y periodo máximo de almacenamiento. Todo esto soportado por estudios de validación donde aplique.
9.8.3	Se debe contar con métodos de análisis validados de acuerdo a esta norma para materias primas, producto a granel, producto en proceso y producto terminado.
14. 14.1	Validación. Es un requerimiento de esta Norma que los fabricantes de medicamentos determinen que actividades de validación son necesarias para demostrar el control de los aspectos críticos de sus operaciones particulares. Debe utilizarse un enfoque de análisis de riesgos para evaluar el ámbito y grado de validación. Todas las instalaciones, equipos, sistemas críticos y computacionales (que impacten en la calidad del producto), deben estar calificados y los métodos de limpieza y analíticos deben validarse al inicio de la operación y terminado antes de liberación de un producto.

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
14.2	Planeación para la validación.
14.2.1	Las actividades de validación deben estar integradas en un Plan Maestro de Validación (PMV) ó equivalente, el cual debe incluir los elementos clave que lo integran.
14.7	Métodos analíticos.
14.7.1	Deben ser validados de acuerdo a un protocolo aprobado, los métodos analíticos usados para:
14.7.1.1	Evaluación de materias primas.
14.7.1.2	Evaluación de producto a granel, en proceso y terminado.
14.7.1.3	Validaciones.

La Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998. Buenas prácticas fabricación de fármacos menciona lo siguiente referente a la Validación de métodos analíticos.

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
16.1	Los controles de laboratorio e inspecciones deben apoyarse en norma, PNOs o manuales que contengan las especificaciones para garantizar la confiabilidad de sus resultados. Tales controles deben incluir:
16.1.5	Validación de métodos analíticos utilizados por la empresa, no farmacopeicos o farmacopeicos que tengan desviaciones frente a la farmacopea de referencia.

La Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005. Estabilidad de Medicamentos marca lo siguiente para la Validación de Métodos Analíticos.

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
5. 5.3	Fármaco nuevo. Parámetros a evaluar y metodología analítica. El protocolo del estudio debe incluir los parámetros o especificaciones de estabilidad que son susceptibles de cambiar durante el estudio y que pueden influir en su calidad, seguridad o eficacia. Las pruebas deben cubrir en su caso, parámetros físicos, químicos, biológicos o microbiológicos. Se deben aplicar métodos analíticos indicativos de estabilidad validados.
6. 6.3	Fármaco conocido. Parámetros a evaluar y metodología analítica. El protocolo del estudio debe incluir los parámetros o especificaciones de estabilidad que son susceptibles de cambiar durante el estudio y que pueden influir en su calidad, seguridad o eficacia. Las pruebas deben cubrir en su caso, parámetros físicos, químicos, biológicos o microbiológicos. Se deben aplicar métodos analíticos indicativos de estabilidad validados.

<i>Número de la norma</i>	<i>Contenido</i>
7. 7.3	Medicamento nuevo. Parámetros a evaluar y metodología analítica. El protocolo del estudio debe incluir los parámetros o especificaciones de estabilidad que son susceptibles de cambiar durante el estudio y que pueden influir en su calidad, seguridad o eficacia. Las pruebas deben cubrir en su caso, parámetros físicos, químicos, biológicos o microbiológicos. Se deben aplicar métodos analíticos indicativos de estabilidad validados.
9. 9.18	Consideraciones generales. Cuando se cambie el método analítico durante el estudio de estabilidad, se debe demostrar que los dos métodos son equivalentes mediante el proceso de validación.
9.20 9.20.9	Protocolo del estudio. Debe contener la siguiente información: Referencia de los métodos analíticos por parámetro y su validación, si procede.

La Guía CIPAM de Buenas Prácticas de Fabricación. “Procesos de limpieza y su validación en áreas de fabricación”, menciona lo siguiente para la validación de métodos analíticos:

<i>Número de la guía.</i>	<i>Contenido</i>
5.2	<p>Validación de Métodos Analíticos</p> <p>Con en fin de evitar que estén presentes residuos o trazas de productos farmacéuticos fabricado previos al siguiente lote por fabricar, surge la necesidad de desarrollar y validar técnicas analíticas sensibles y confiables para cuantificar trazas de activos que son indicativos del grado de limpieza del equipo y área de fabricación después de sus uso.</p> <p>La capacidad se expresa en este caso en términos de parámetros analíticos: los que generalmente se consideran son la precisión, linealidad, exactitud, especificidad y límite de detección y límite de cuantificación.</p>

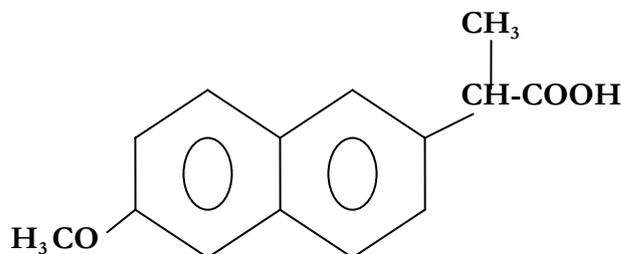
La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos justifica a la validación del método analítico en virtud de que al realizar las pruebas de perfil de disolución se cuantifican concentraciones menores que el valor de Q, además de que hay que evaluar que no haya interferencias debidas a los aditivos.

Las Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines Edición 2002 Versión 2 menciona:

<i>Número</i>	<i>Contenido</i>
3.2.3	<p>Que es responsabilidad del fabricante:</p> <ul style="list-style-type: none"> -La validación de procesos ‘La validación de Métodos de análisis

Con lo anterior podemos ver la necesidad de que los establecimientos que se dedican a la fabricación de insumos para la salud, validen los métodos analíticos que utilizan en su proceso de fabricación y análisis.

1.4 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL NAPROXEN



Nombre químico: 2-ácido naftaleneacético-6-metoxi, α metil

Fórmula Condensada: C₁₄H₁₄O₃

Descripción: Polvo cristalino blanco, inodoro.

Solubilidad: soluble en cloroformo, etanol y metanol, poco soluble en éter, casi insoluble en agua.

Temperatura de fusión: 156°C

1.5 MONOGRAFÍA DEL NAPROXEN

NAPROXENO. TABLETAS.

Contiene no menos del 90.0 por ciento y no más del 110.0 por ciento de la cantidad de naproxen indicada en el marbete.

SUSTANCIA DE REFERENCIA.

Naproxeno, secar a 105°C durante 3 horas.

ENSAYOS DE IDENTIDAD.

- A. MGA 0351. Pesar no menos de 10 tabletas y calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino, pesar una cantidad del polvo equivalente a 20 mg de naproxen, pasar a un matraz Erlenmeyer, agregar 100 mL de metanol, agitar y filtrar. Mezclar una alícuota de 25 mL del filtrado con 500 mg de bromuro de potasio, evaporar el metanol y secar a 105°C. El espectro IR de la preparación de la muestra, exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que el obtenido con una preparación similar de la sustancia de referencia de naproxen.

- B. MGA 0241. Cromatografía líquida de alta resolución. Preparar una mezcla (1:1) de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, obtenida como se indica en la valoración. Obtener el cromatograma como se indica en la valoración. El cromatograma obtenido exhibe 2 picos principales, que corresponden al naproxen y al estándar interno.
- C. MGA 0241. Capa delgada.

Soporte. Gel de sílice cromatográfico GF₂₅₄

Fase móvil. Tolueno: tetrahidrofurano: ácido acético glacial (90:9:3).

Preparación de referencia I. Preparar una disolución de la sustancia de referencia en metanol, que contenga 2.0 mg / mL de naproxen.

Preparación de referencia II. Pasar una alícuota de 1.0 mL de la preparación de referencia I a un matraz volumétrico de 200 mL, llevar al aforo con metanol y mezclar. Esta disolución contiene 10 µg / mL de naproxen.

Preparación de la muestra. Pesar no menos de 10 tabletas y calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino, pesar una cantidad del polvo equivalente a 100 mg de naproxen, pasar a un matraz volumétrico de 50 mL, agregar 25 mL de metanol, agitar mecánicamente, llevar al aforo con metanol, mezclar y filtrar.

Procedimiento. Aplicar a la cromatoplaque, en carriles separados, 100 µL de las preparaciones de referencia I y II y 100 µL de la preparación de la muestra. Desarrollar el cromatograma, dejar correr la fase móvil, secar con corriente de aire y observar bajo lámpara de luz UV. La mancha principal obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra, corresponde en tamaño, color y R_f a la mancha obtenida en el cromatograma con la preparación de referencia I.

UNIFORMIDAD DE DOSIS.

MGA 0299. Cumple los requisitos.

SUSTANCIAS RELACIONADAS.

MGA 0241. Capa delgada. Proceder como se indica en el ensayo de identidad B (Cromatografía líquida de alta resolución). Cualquier mancha obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra, diferente de la mancha principal, no es más grande ni más intensa que la mancha obtenida con la preparación de referencia II.

DISOLUCIÓN.

MGA 0291. Aparato 2. Q=80.0 por ciento.

Medio de Disolución. Disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4 (Fosfato monobásico de sodio-fosfato dibásico de sodio anhidro).

Preparación de referencia. Preparar una disolución de la disolución de Referencia en disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4 (Fosfato monobásico de sodio-fosfato dibásico de sodio anhidro) que contenga 50 µg / mL de naproxen.

Procedimiento. Colocar cada tableta en el aparato con 900 mL de medio de disolución, accionarlo a 50 rpm, durante 45 min. Filtrar inmediatamente una porción de la disolución, pasar una alícuota del filtrado equivalente a 2.7 mg de naproxen a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4 (Fosfato monobásico de sodio-fosfato dibásico de sodio anhidro) y mezclar.

Determinar la absorbancia de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra como se indica en MGA 0361, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 332 nm, utilizar celdas de cuarzo de 1 cm. y emplear disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4 (Fosfato monobásico de sodio-fosfato dibásico de sodio anhidro) como blanco de ajuste. Calcular el porcentaje de naproxen disuelto por medio de la formula siguiente:

$$100CD (A_m/A_{ref})/M=\% \text{ Naproxen}$$

Donde:

C= Cantidad por mililitro de naproxen en la preparación de referencia.

D= Factor de disolución de la muestra.

A_m= Absorbancia obtenida con la preparación de la muestra.

A_{ref}= Absorbancia obtenida con la preparación de referencia.

M= Cantidad de naproxen indicada en el marbete.

VALORACIÓN.

MGA 0241. Cromatografía líquida de alta resolución.

Fase Móvil. Acetonitrilo: agua: ácido acético glacial (50:49:1), hacer los ajustes necesarios para obtener el sistema cromatográfico adecuado. Es factible incrementar la resolución aumentando la proporción de agua en la fase móvil. Filtrar y desgasificar.

Mezcla disolvente. Acetonitrilo: agua (90:10), filtrar y desgasificar.

Patrón interno. Pasar 5.0 mL de butirofenona a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con acetonitrilo. Pasar una alícuota de 1.0 mL de esta disolución a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con acetonitrilo y mezclar. Esta disolución contiene 0.5 µL / mL de butirofenona.

Preparación de referencia. Preparar una disolución de sustancia de referencia en la mezcla disolvente, que contenga 2.5 mg / mL de naproxen. Pasar una alícuota de 1.0 mL, y una alícuota de 2.0 mL del patrón interno, llevar al aforo con fase móvil y mezclar. Esta disolución contiene 25 µg / mL de naproxen.

Preparación de la muestra. Pesar no menos de 20 tabletas, calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino y pesar una cantidad del polvo equivalente a 250 mg de naproxen pasar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 10 mL de agua y someter a la acción del ultrasonido durante 10 min. Hasta que el material esté disperso. Agregar 80 mL de acetonitrilo y someter a la acción de un baño de ultrasonido durante 5 min. más. Dejar que el matraz alcance la temperatura ambiente, llevar al aforo con acetonitrilo y mezclar. Dejar que el material insoluble sedimente y pasar una alícuota de 1.0 mL del sobrenadante claro a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar una alícuota de 2.0 mL del patrón interno, llevar al aforo con fase móvil y mezclar.

Condiciones del equipo. Detector de luz ultravioleta de una longitud de onda de 254 nm; columna de 15 cm x 4.6 mm; empacada con L1 de 5.0 µm; velocidad de flujo de 1.2 mL / min.

Procedimiento. Inyectar repetidas veces, volúmenes iguales (20 µL) de la preparación de referencia y registrar los picos respuesta. La eficiencia de la columna determinada por el pico analítico no es menor de 4000 platos teóricos calculados por la fórmula:

$$5.545 (t/W_{h/2})^2$$

El factor de resolución entre el naproxen y el patrón interno no es menor que 11.5 calculado por la fórmula:

$$2(t_2-t_1) / (1.699 (W_{1h/2} + W_{2h/2}))$$

y el coeficiente de variación no es mayor que 1.5 por ciento. Una vez ajustados los parámetros de operación, inyectar al cromatógrafo, por separado, volúmenes iguales (20 µL) de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, registra los cromatogramas y medir las respuestas para los picos principales. Los tiempos de retención son de 0.6 para naproxen y 1.0 para el patrón interno. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{14}O_3$, en la porción de muestra tomada, por medio de la fórmula:

DC (Am / Aref)

Donde:

D= Factor de dilución de la muestra.

C= Cantidad por mililitro de naproxen en la preparación de referencia.

Am= Relación entre el pico del naproxen y el patrón interno obtenida con la preparación de la muestra.

Aref= Relación entre el pico del naproxen y el patrón interno obtenidos con la preparación de referencia.

1.6 ACCIÓN FARMACOLÓGICA E INDICACIONES TERAPÉUTICAS

El naproxen es uno de los más potentes derivados del ácido propiónico: es 10 a 20 veces más potente que la aspirina. El naproxen también posee dos características únicas que se han utilizado para el tratamiento antiinflamatorio más efectivo. En primer lugar, la prolongada vida media del naproxen permite su administración dos veces en el día. En segundo lugar, el naproxen presenta potentes propiedades inhibitorias de la migración leucocitaria (como la colchicina), que pueden explicar su éxito en el tratamiento de la artritis gotosa aguda. El naproxen es sometido a la 6-demetilación y es excretado como los conjugados de este metabolito y el ácido libre.

Es un medicamento antiinflamatorio no esteroideo con propiedades antiinflamatorias antipiréticas y analgésicas.

Es naproxen en un agente efectivo para el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis juvenil, la osteoartritis, la espondilitis anquilosante, la tendinitis y como analgésico en la dismenorrea.

1.7 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DEL NAPROXEN

1.7.1 FARMACODINAMIA.

Naproxeno es un agente antiinflamatorio no esteroideo con acción analgésica y antipirética desarrollado por Syntex. Estas propiedades han sido demostradas en estudios clínicos en humanos y en los modelos de experimentación en animales. Presenta su efecto antiinflamatorio aun en animales adrenalectomizados lo que indica que su acción no está mediada por el eje hipófisis-suprarrenal. Inhibe la síntesis de prostaglandinas al igual que otros analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos.

El naproxen inhibe a las enzimas COX-1 y COX-2, estas han sido identificadas como los catalizadores de la formación de prostaglandinas y del ácido araquidónico y de sus precursores, aunque aún no se sabe con claridad como es el mecanismo de inhibición del naproxen con estas dos isoenzimas.

El mecanismo del efecto antipirético aún no se conoce se ha sugerido que se debe a la supresión de la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central (probablemente en el hipotálamo).

1.7.2 FARMACOCINÉTICA Y METABOLISMO

El naproxen es totalmente soluble en agua y se absorbe rápida y completamente del tracto gastrointestinal después de la administración oral. Debido a su absorción rápida y completa se obtienen niveles significativos en plasma a los 20 minutos de su administración. Los niveles plasmáticos máximos después de una dosis son alcanzados en 1 a 2 horas dependiendo de la ingesta de alimentos.

La absorción puede acelerarse agregando bicarbonato de sodio o reducirse con hidróxido de aluminio. También se absorbe por vía rectal aunque los niveles plasmáticos máximos se alcanzan de manera más lenta que por vía oral. El naproxen se disuelve rápidamente en el jugo gástrico y por esa razón la administración oral de 550 mg produce una biodisponibilidad más rápida del fármaco lo cual es ventajoso en muchos aspectos puesto que con ellos se obtiene una respuesta antiinflamatoria y analgésica más rápida.

Las dosis orales producen niveles sanguíneos comparables a los obtenidos por la aplicación intravenosa. Además al aumentar la dosis oral por ejemplo de 100 a 300 mg se produce un aumento lineal en las concentraciones en plasma. Las concentraciones máximas en plasma después de dosis únicas de 100, 200, y 300 mg son 12, 25, y 42 mg / mL respectivamente lo que sugiere que se logra una respuesta lineal en la relación dosis-concentración sanguínea. A dosis elevadas la relación directa entre dosis y concentración plasmática máxima no se observa tras la administración de dosis mayores de 500 mg. Sin embargo la vida media del naproxen no cambia ya sea tratándose de la administración de una sola dosis o bien después de 4 días de tratamiento. El naproxen se une casi por completo (99%) a las proteínas plasmáticas después de dosis terapéuticas normales. Atraviesa placenta y está presente en la leche materna en aproximadamente 1 % de la concentración plasmática que presenta la madre.

Los metabolitos del naproxen se excretan casi por completo en la orina. Se ha encontrado que la velocidad de excreción coincide estrechamente con la velocidad con que desaparece el fármaco del plasma. Cerca de 30% del fármaco sufre 6-desmetilación y la mayor parte de este metabolito así como el mismo naproxen se excretan como glucurónidos y otros conjugados.

1.8 INFORMACIÓN FARMACOLÓGICA DEL NAPROXEN

CONTRAINDICACIONES DEL NAPROXEN.

Hipersensibilidad a las formulaciones de naproxen, debido al potencial que existe de reacciones cruzadas de sensibilidad no deberá administrarse a pacientes en quienes el ácido acetilsalicílico u otros antiinflamatorios/analgésicos no esteroideos hayan provocado manifestaciones alérgicas severas.

Puesto que los estudios pediátricos de seguridad y eficacia no se han completado el uso de este producto en niños menores de 2 años no es recomendable. El naproxen no deberá darse a paciente con úlcera péptica activa. En pacientes con historia de enfermedad gastrointestinal el naproxen deberá darse bajo estrecha supervisión.

El naproxen reduce la agregación plaquetaria y prolonga el tiempo de sangrado lo anterior deberá tomarse en cuenta cuando este factor sea determinado.

RESTRICCIONES DE USO DURANTE EL EMBARAZO Y LA LACTANCIA.

El naproxen demora el parto en animales y afecta el sistema cardiovascular del feto humano (cierre del conducto arterioso). Por eso no debe utilizarse durante el embarazo a menos que sea estrictamente necesario. Debido a la posibilidad de efectos adversos de los fármacos que inhibe la síntesis de prostaglandinas sobre neonatos no se recomienda en madres durante la lactancia.

REACCIONES SECUNDARIAS Y ADVERSAS.

Las reacciones adversas del naproxen más comunes son malestar abdominal, cefalea, náusea, edema periférico moderado y vértigo.

INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS Y DE OTRO GÉNERO.

La administración concomitante de antiácidos disminuye su absorción pero no afecta su alcance. Debido a que el naproxen se une fuertemente a las proteínas plasmáticas los pacientes que toman hidantoínas al mismo tiempo que naproxen deben ser vigilados cuidadosamente para poder ajustar la dosis en caso necesario. El naproxen puede reducir el efecto antihipertensivo del propanolol y otros betabloqueadores.

El naproxen reduce el aclaramiento renal del metotrexato, por lo que los niveles plasmáticos de éste aumentan. Se han descrito casos de complicaciones graves e incluso fatales cuando se administran AINES a pacientes tratados con dosis elevadas de metotrexato. Deben evitarse los AINES, incluido el naproxen durante y después del tratamiento con metotrexato.

El tratamiento con naproxen puede aumentar las concentraciones plasmáticas de digoxina, siendo esta interacción más importante en los pacientes con insuficiencia renal.

El probenecid, un fármaco que inhibe el aclaramiento renal de muchos fármacos, aumenta las concentraciones plasmáticas de naproxen hasta en un 50%.

Las concentraciones de litio con el correspondiente aumento de su toxicidad pueden aumentar si este fármaco se administra concomitantemente con el naproxen. Se recomienda monitorizar los niveles plasmáticos de litio en los pacientes.

EFFECTOS DE CANCINOGENESIS, MUTAGENESIS, TERATOGENESIS Y SOBRE LA FERTILIDAD.

El uso de naproxen en humanos no se ha relacionado con efectos de carcinogénesis, mutagénesis o teratogénesis. No se han demostrado efectos sobre la fertilidad.

DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN.

Para artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante en adultos, terapia inicial la dosis usual es de 1000 mg al día en dos tomas o en dosis única. En los siguientes casos se recomienda iniciar la terapia con dosis de 1000 mg por día durante algunas semanas, en pacientes que reportan dolor intenso durante la noche y/o rigidez matutina.

Tratamiento de mantenimiento: dosis de 500 a 1000 mg por día (en dos única o en dos tomas con intervalos de doce horas).

Dosis en niños: 10 mg/Kg como dosis inicial seguido por 2.5-5.0 mg/Kg cada 8 horas. La dosis no debe exceder de 15 mg/Kg al día. No se administre en menores de 2 años.

PRESENTACIONES COMERCIALES

- ✓ 1000 mg, caja con 24 tabletas
- ✓ 500 mg, caja con 45 tabletas
- ✓ 250 mg, caja con 45 tabletas
- ✓ 500 mg supositorios caja con 6 supositorios.

Consérvese a temperatura ambiente a no más de 30°C y en lugar seco.

1.9 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.

La espectrofotometría se basa en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. En general, los espectros ultravioleta y visible de una sustancia, no tienen un alto grado de especificidad, sin embargo son muy adecuados para las valoraciones cuantitativas y en el caso de muchas sustancias constituyen un medio útil de identificación adicional.

La disminución de la energía de radiación monocromática que pasa a través de un medio absorbente homogéneo, se establece cuantitativamente por la ley de Beer:

$$A = \epsilon bc = \log_{10} (1/T)$$

Donde:

A= Absorbancia: logaritmo en base 10 del inverso de la Transmitancia (T).

ϵ = Absortividad molar: cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), y la longitud de la trayectoria de la energía luminosa (b).

b= Longitud de la trayectoria de la energía luminosa expresada en centímetros.

c= Concentración de la sustancia expresada en moles/ litro.

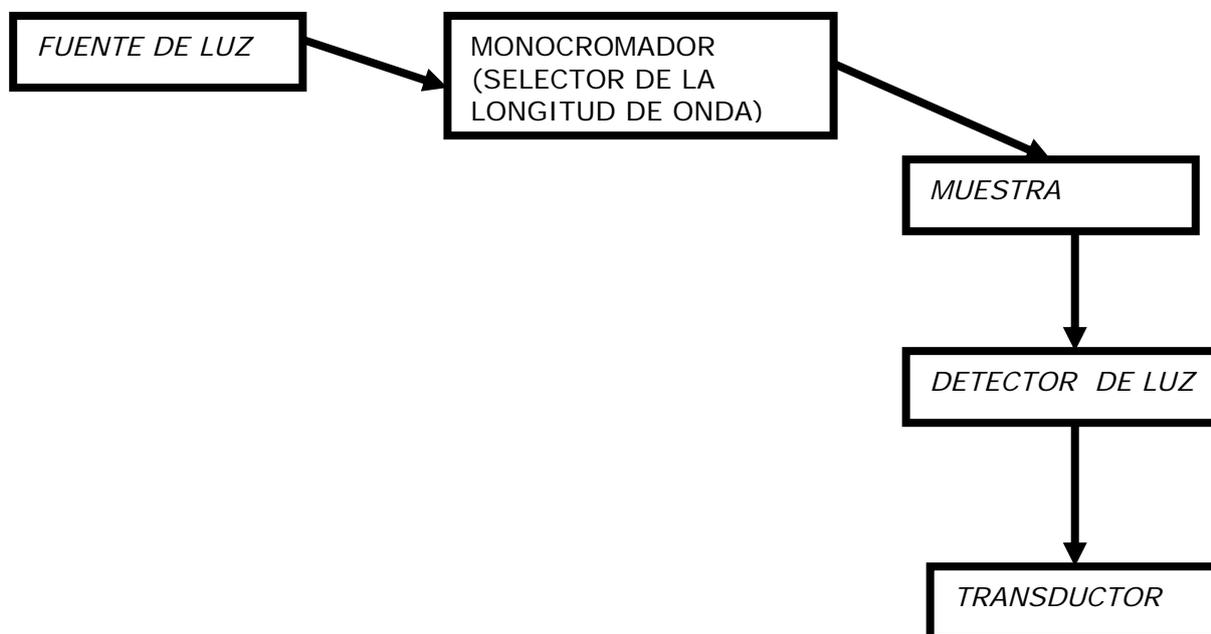
T= Transmitancia; cociente de dividir la energía radiante transmitida por la sustancia presente en el medio entre la energía radiante incidente.

El espectro de absorción, es la representación gráfica de la absorbancia o de cualquier función de la absorbancia, trazada contra la longitud de onda o contra una función de longitud de onda.

El uso de la espectrofotometría de absorción como procedimiento de valoración se basa en el hecho de que la absortividad molar de una sustancia en términos generales en una constante independiente de la intensidad de la radiación incidente, de la longitud interna de la celda y de la concentración, por lo cual esta última puede determinarse fotométricamente.

La ley de Beer no considera el efecto de la temperatura, longitud de onda o el tipo de disolvente, pero en la mayoría de las determinaciones analíticas el efecto de variación normal de temperatura es insignificante.

COMPONENTE BÁSICOS DE UN ESPECTROFOTOMETRO



CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTOMETRO

La mejor fuente individual de calibración del espectro ultravioleta y visible es el arco de cuarzo-mercurio, del que se pueden usar las líneas a 253.7, 302.25, 313.16, 334.15, 365.48, 404.66, 453.83 nm. La escala de longitud de onda también puede calibrarse usando filtro de vidrio adecuados, que tienen bandas de absorción útiles a lo largo de las regiones ultravioleta y visible.

Para la calibración de la escala fotométrica suele aceptarse una tolerancia de ± 1.0 por ciento de absorptividad. Para verificar esta escala se utiliza una disolución de dicromato de potasio. El dicromato de potasio empleado para la calibración del espectrofotómetro debe tener una pureza no menor que 99.9 por ciento calculado con referencia a la sustancia secas a 130°C .

1.10 OTROS MÉTODOS PARA DETERMINAR NAPROXEN.

Existen diferentes métodos documentados para determinar naproxen y algunos de ellos son los que a continuación se enlistan.

- a. Determinación espectrofluorimétrica directa y simultánea de naproxen y salicilatos en suero humano.
- b. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de naproxen en sistemas con β -ciclo dextrinas amorfas.
- c. Determinación del contenido de naproxen en cápsulas por fluorescencia.
- d. Determinación de ibuprofeno y naproxen en tabletas por fluorescencia.
- e. Determinación espectrofotométrica en la segunda derivada de naproxen presente como metabolitos en humanos.
- f. Análisis del contenido de tabletas de naproxen e ibuprofeno por CCFAR (cromatografía en capa fina de alta resolución) por absorción ultravioleta.
- g. Determinación de naproxen en tabletas por cromatografía líquida de alta resolución.
- h. Determinación de naproxen por detección luminiscente.

CAPÍTULO 2

Desarrollo Experimental

CAPÍTULO 2

DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Los parámetros analíticos evaluados se determinaron considerando a la Guía Oficial de validación de Métodos Analíticos expedida por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.

2.1 MATERIAL.

- 3 Tubos de ensaye de 16 x 150
- 20 Matraces aforados de vidrio de 10 mL
- 5 Pipetas volumétricas de 1 mL
- 3 Vasos de precipitados de 100 mL
- 1 Vaso de precipitados de 200 mL
- 3 Embudos de filtración rápida
- Papel filtro
- Bureta especial graduada
- 6 Naves para pesar
- 1 Piseta
- 2 Espátulas cromo-níquel
- 1 Gradilla
- 1 Propipeta
- 1 Micropipeta Wilson Auto-ajustable de 20-200 μ L
- 1 Micropipeta Wilson Auto-ajustable de 200-400 μ L
- Puntas de plástico para Micropipeta

2.2 REACTIVOS.

- Sustancia de referencia de naproxen
- Naproxen FEUM.
- Etanol RA
- Metanol RA
- Cloroformo RA
- Kollidon Cl
- Kollidon 30
- Estearato de magnesio
- Agua destilada

2.3 EQUIPO.

- Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139.
- Balanza Analítica Sartorius BP 210S, Máx. 210 g, D= 0.1 mg
- Celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico
- Agitador magnético

2.4 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.

El naproxen es soluble en etanol, cloroformo y metanol comprobándose experimentalmente realizando las pruebas de solubilidad correspondientes, con lo anterior se decidió utilizar como disolvente al **Etanol**, ya que es más económico y no es tóxico como el cloroformo y el metanol.

Las pruebas de solubilidad se realizaron utilizando una cantidad cualitativa que permitiera observar la solubilidad del naproxen en los diferentes disolventes.

- a. Se agregan 3 mL de los diferentes disolventes (etanol, cloroformo y metanol), en un tubo de ensaye de 16 x 150.
- b. Se incorpora una pequeña cantidad de naproxen estándar, a cada tubo, procurando que se agregue la misma cantidad de naproxen a los diferentes tubos.
- c. Se agita suavemente para ver que tan soluble es el naproxen en los diferentes disolventes.

2.5 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL NAPROXEN EN ETANOL.

La obtención del espectro de absorción del naproxen disuelto en etanol, se obtuvo realizando un barrido de absorción en la zona del ultravioleta en el rango de 200 a 300 nm para disoluciones de concentración de 1, 2 y 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, de naproxen utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. La obtención del espectro de absorción del naproxen nos permitirá determinar la longitud de onda de máxima absorción y la concentración que representara el 100%.

La longitud de onda de máxima absorción del naproxen obtenida experimentalmente en disolución etanólica es 231 nm. La disolución que se considero el 100% es la que corresponde a la concentración 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Disolución de naproxen en concentración 1 µg/mL (sustancia de referencia).

Preparar una disolución de naproxen de concentración 1 mg / mL; pesar exactamente alrededor de 10 mg de naproxen (sustancia de referencia), se coloca en un matraz aforado de 10 mL, a continuación se agrega un poco de etanol, se agita, y se lleva a la marca de aforo con etanol. Para la disolución de concentración 1 µg/mL: se toma una alícuota de 0.1 mL de naproxen de concentración 1mg/mL, se colocó en un matraz aforado de 10 mL y se lleva a la marca con etanol, de esta disolución se vuelve a tomar una alícuota de 1.0 mL y se coloca en un matraz aforado de 10 mL, se lleva a la marca con etanol, esta disolución final es la correspondiente a la de 1 µg/mL.

Disolución de naproxen en concentración 1 µg/mL (Disolución Problema)

Tomar 10 tabletas del producto comercial, y determinar el peso promedio, colocar las tabletas en un mortero y triturar hasta obtener polvo fino, pesar el equivalente a 10 mg de naproxen, y transferir a un matraz volumétrico de 10 mL, agregar etanol RA, agitar hasta disolver, llevar al aforo, de esta disolución (concentración 1 mg / mL), se toma una alícuota de 0.1 mL, se coloca en un matraz aforado de 10 mL y se lleva a la marca con etanol, de esta disolución se vuelve a tomar una alícuota de 1.0 mL y se coloca en un matraz aforado de 10 mL, esta última disolución corresponde a la concentración 1 µg/mL.

2.6 ESPECIFICIDAD DEL SISTEMA.

En el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias que puedan interferir, y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis. Para ello se realizó un barrido de absorción en la zona del ultravioleta en el rango de 200 a 260 nm, utilizando una concentración menor a la que representa el 100%, para observar que el método además de ser específico, posee sensibilidad en las lecturas de la respuesta analítica (absorbancia).

La formulación para las tabletas de naproxen se obtuvo del Generic Drug Formulations y a partir de esta, se preparó: un placebo, un placebo adicionado y se utilizó un estándar de naproxen (sustancia de referencia).

Componentes	Cantidad g
Naproxen	457.5
Kollidon Cl.	10.0
Kollidon 30	2.5
Estearato de magnesio	2.5
Agua	90.0

Tabla 2.1 Formulación para las tabletas de naproxen, referencia tomada de Generic Drug Formulations, Volver Bühler, BASF Fine Chemicals, 1° edición, 1997.

PREPARACIÓN DEL PLACEBO.

- ✓ Se prepara el placebo de acuerdo a la formulación para tabletas de naproxen (todos los excipientes excepto el principio activo) utilizando las mismas cantidades, con éste se prepara una disolución equivalente a 0.8 µg/mL.

PREPARACIÓN DEL PLACEBO + ACTIVO

- ✓ Preparar el placebo + activo, o placebo adicionado con activo de acuerdo a la formulación para tabletas de naproxen, preparar una disolución para obtener una concentración de 0.8 µg/mL de naproxen.

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR.

- ✓ Preparar una disolución con el estándar de naproxen para obtener la concentración de 0.8 µg/mL.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
Respuesta analítica de la sustancia de referencia	-----
Respuesta analítica del placebo adicionado	Debe corresponder en máximos y mínimos con la de la sustancia de referencia
Respuesta analítica del placebo	Debe ser despreciable o nula

2.7 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Se preparó por triplicado 5 niveles de concentración (0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2 $\mu\text{g/mL}$), de la disolución de referencia por dilución (a partir de una misma disolución concentrada). La concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$ representa el 100% de la muestra. Medir la respuesta analítica en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición

Determinar:

- La relación concentración vs respuesta analítica (absorbancia)
- El valor de la pendiente (b_1)
- La ordenada al origen (b_0)
- El coeficiente de determinación (r^2)
- El intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1)

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
r^2	Mayor o igual a 0.98
IC (β_1)	No debe incluir el cero.

2.8 PRECISIÓN DEL SISTEMA.

Se preparó un sextuplicado de las disoluciones de naproxen que representan el 100% (1 $\mu\text{g/mL}$), de la muestra procesada para su medición; preparadas por dilución. Medir la respuesta analítica (absorbancia) en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico, bajo las mismas condiciones, utilizando como blanco y disolvente etanol RA

Determinar:

- La desviación estándar S
- El coeficiente de variación CV de la respuesta analítica.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
CV	Menor o igual a 1.5 % para métodos fisicoquímicos.

2.9 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Se preparó por sextuplicado placebos adicionados con naproxen (sustancia de referencia) con la cantidad de analito correspondiente al 100% (1 µg/mL). Los placebos adicionados se analizaron por un analista, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición al placebo analítico (naproxen), las disoluciones se prepararon por dilución para obtener la concentración final de 1 µg/mL. Determinar la cantidad recuperada del analito y medir la respuesta analítica en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, usar como blanco y disolvente etanol RA

Determinar:

- La media aritmética \bar{y}
- La desviación estándar S
- El coeficiente de variación CV
- Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
IC(μ)	Debe de incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo. 97 - 103 % si el método es químico o espectrofotométrico.
CV	El CV del porcentaje de recobro: no debe ser mayor al 3% si el método es químico o espectrofotométrico.

2.10 LINEALIDAD DEL MÉTODO.

La linealidad del método se determinó preparando placebos adicionados, se seleccionaron dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito, manteniendo constante la cantidad de placebo analítico en los tres niveles (niveles 80%, 100% y 120% esto es equivalente a las concentraciones 0.8, 1.0 y 1.2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente), se prepara cada concentración por triplicado.

Se mide la respuesta analítica en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico, utilizar como blanco y disolvente etanol RA

Determinar la cantidad recuperada del analito.

Determinar:

- Graficar cantidad adicionada vs cantidad recuperada
- Valor de la pendiente b_1
- La ordenada al origen b_0
- Coeficiente de determinación r^2
- Intervalo de confianza para la pendiente IC(β_1)
- Intervalo de confianza para la ordenada al origen IC(β_0)
- Coeficiente de variación $CV_{y/x}$
- Promedio aritmético \bar{y}
- Desviación estándar S
- Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
r^2	Mayor o igual a 0.98
$IC(\beta_1)$	Debe incluir la unidad.
$IC(\beta_0)$	Debe de incluir el cero.
$CV_{y/x}$	Del porcentaje de recobro, no debe ser mayor de 3 % si es químico o espectrofotométrico.
$IC(\mu)$	Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.

2.11 PRECISIÓN INTERMEDIA.

Se analizo por triplicado una muestra que representa el 100 % (1 $\mu\text{g/ml}$), en dos día diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar la misma sustancia de referencia y los mismos materiales y equipo. Medir la respuesta analítica en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico, usar como blanco y disolvente etanol RA

Determinar:

- La media aritmética \bar{y}
- Desviación estándar S
- Coficiente de variación CV del contenido de la muestra

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
CV	$CV \leq 3 \%$

2.12 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

Para determinar la estabilidad analítica de la muestra se preparan 3 muestras con la cantidad equivalente al 100 % (1 µg/ml), y se almacenan a diferentes condiciones ambientales.

Condiciones ambientales de almacenaje	Tiempo de análisis (Horas)
Refrigeración	0, 12, 24, 48, 72
Temperatura ambiente; oscuridad	0, 12, 24, 48, 72
Temperatura ambiente; Luz	0, 12, 24, 48, 72

Se toma lectura de las muestras a diferentes tiempos: 0, 12, 24, 48, 72 horas, para observar si hay cambios en las lecturas de las muestras. Medir la respuesta analítica en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a la longitud de onda de 231 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico, usar como blanco y disolvente Etanol RA.

Determinar:

- Media aritmética de análisis inicial \bar{y}_0
- Media aritmética del análisis en cada condición de almacenaje \bar{y}_1
- Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial $|d_1|$

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Parámetro	Criterio de aceptación
Diferencia absoluta de la media aritmética	$ d_1 \leq 3 \%$, $ d_2 \leq 3 \%$, $ d_3 \leq 3 \%$, $ d_4 \leq 3 \%$

2.13 CUANTIFICACIÓN DE NAPROXEN EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS COMERCIALES (TABLETAS).

Después de la validación realizada al método propuesto, donde se determino que los parámetros cumplen con los criterios de aceptación se realiza la cuantificación de naproxen en diferentes productos farmacéuticos comerciales. Tomando en cuenta que la absorbancia que se obtenga será directamente proporcional a la concentración de naproxen, y que los excipientes presentes en la muestra no causaran interferencia en el análisis.

Se analizaron 5 productos fabricados por diferentes laboratorios, con los que se prepararon las disoluciones problema y a las cuales se les determino el % de recobro de la cantidad de naproxen presente, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Re cobro} = \frac{AbsM}{AbsSR} * Con.SR * FD * \frac{\bar{x}}{mg - de - naproxen - marbete} * 100$$

Donde

Abs M = Absorbancia de la muestra

Abs SR= Absorbancia de la disolución de referencia ó estándar.

Con. SR= Concentración de la disolución de referencia ó estándar.

FD= Factor de dilución

\bar{x} = Peso promedio

mg de naproxen marbete= mg de naproxen indicado en el marbete.

100= Por ciento

Preparación de la disolución de referencia.

Se pesa con exactitud 10 mg del estándar de naproxen, se transfieren a un matraz aforado de 10 mL, se disuelve con un poco de etanol y se lleva a la marca, se toma 0.1 mL de la disolución anterior y se transfiere a un matraz aforado de 10 mL se lleva a la marca con etanol, de esta nueva disolución se toma una alícuota de 1 mL para obtener una concentración de 1 µg/mL. La lectura de la absorbancia se realizó en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139 a 231nm, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y etanol como reactivo blanco.

Preparación de la muestra.

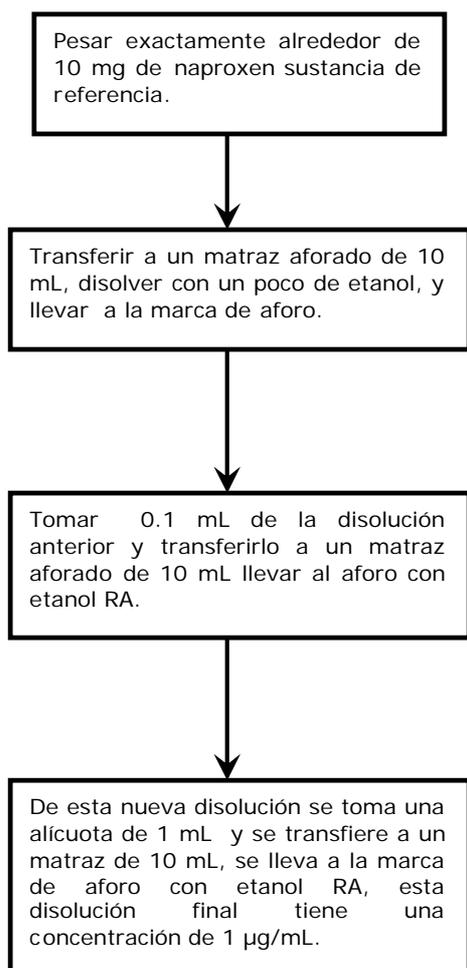
Se determina el peso promedio de 10 tabletas de naproxen 250, ó 500 mg. Estas tabletas se trituran para pesar el equivalente a 10 mg del principio activo.

La pesada se transfiere a un matraz aforado de 10 mL, se agrega un poco de etanol se agita, y se lleva a la marca de aforo con etanol, se toma una alícuota de 0.1 mL de esta disolución, se coloca en un matraz aforado de 10 mL y se lleva a la marca con etanol, de esta disolución se vuelve a tomar una alícuota de 1.0 mL y se coloca en un matraz aforado de 10 mL, se lleva a la marca con etanol, esta última disolución tiene una concentración de 1 µg/mL.

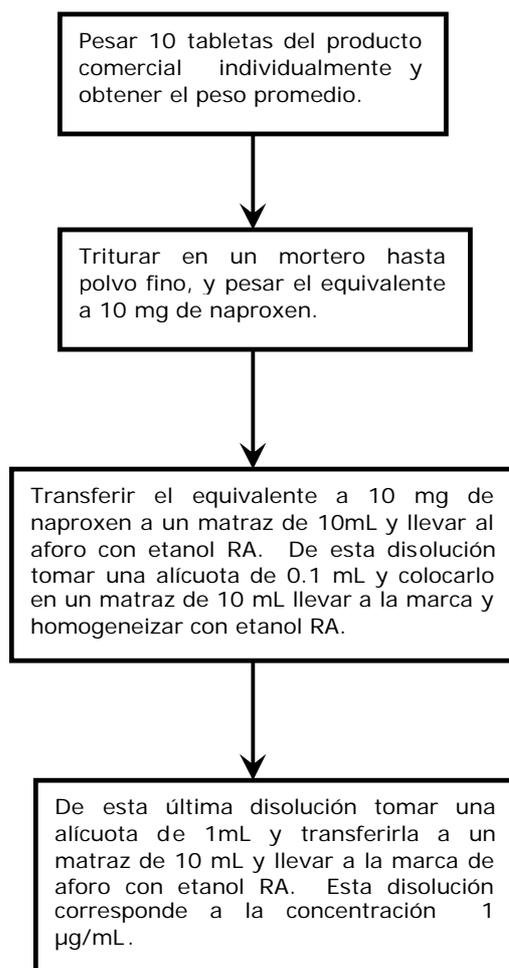
Por último se filtra para realizar la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 231 nm en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de pasó óptico.

Diagrama de Flujo del Método Analítico Desarrollado para Determinar Naproxen en Productos Farmacéuticos Comerciales (Tabletas).

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE REFERENCIA



PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PROBLEMA



Medir la respuesta analítica a $\lambda=231$ nm en el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 139, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico utilizando como blanco y disolvente etanol RA.

CAPÍTULO 3

Resultados Experimentales

CAPÍTULO 3

RESULTADOS EXPERIMENTALES

3.1 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.

Después de realizar las pruebas solubilidad correspondientes se comprobó que el naproxen es soluble en etanol, metanol y cloroformo, por lo que usar cualquiera de los tres nos garantiza que el naproxen se solubilizará satisfactoriamente.

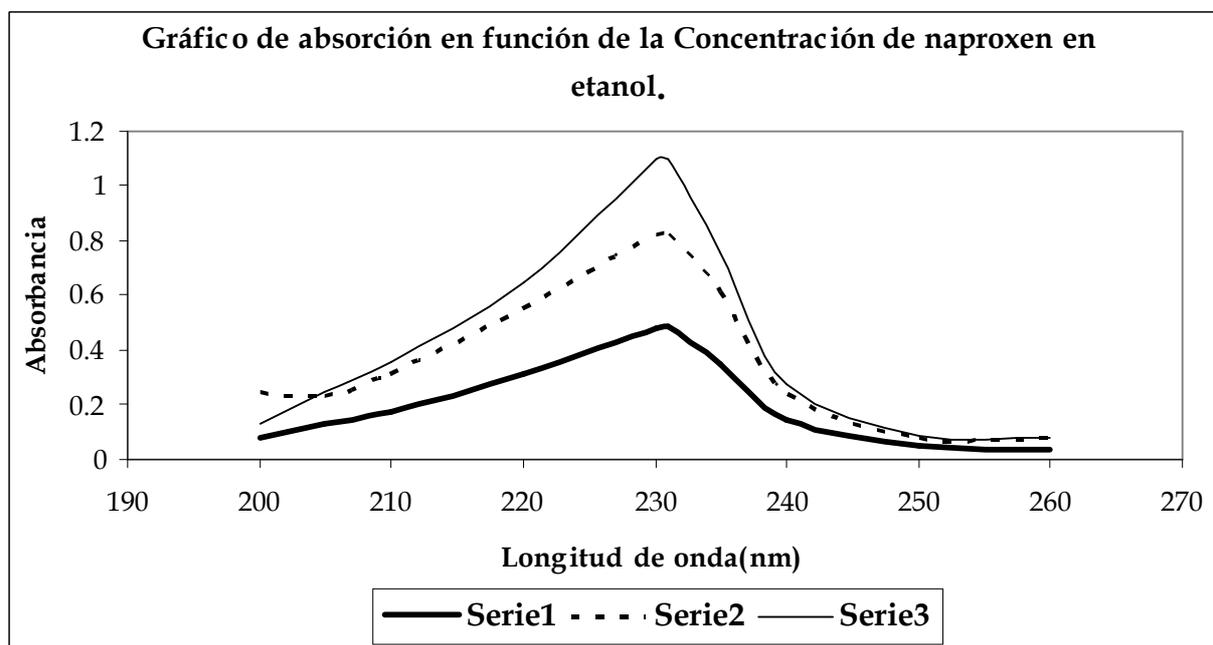
Se decidió utilizar etanol como disolvente debido a que es uno de los disolventes más económicos además de que el etanol es menos tóxico en comparación con el metanol y cloroformo, sin embargo su manejo debe ser cuidadoso ya que es inflamable.

3.2 ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL NAPROXEN EN ETANOL.

En la Tabla 3.1 se muestran las absorbancias obtenidas con las concentraciones 1, 2, 3 μg / mL y en la grafica 3.1 el espectro de absorción de la sustancia de referencia.

Longitud de onda (nm)	Absorbancia		
	Concentración 1 μg / mL	Concentración 2 μg / mL	Concentración 3 μg / mL
200	0,080	0,12	0,130
205	0,130	0,23	0,250
210	0,175	0,31	0,360
220	0,310	0,55	0,650
230	0,480	0,82	1,100
231	0,490	0,82	1,100
235	0,350	0,61	0,760
240	0,1450	0,24	0,275
250	0,050	0,08	0,085
260	0.040	0.08	0.080

Tabla 3.1. Barrido de absorción de 200 a 260 nm, utilizando concentraciones de 1, 2 y 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de naproxen.



Gráfica 3.1. Barrido de absorción: La serie 1 pertenece a la concentración de $1 \mu\text{g}/\text{mL}$, la serie 2 pertenece a la concentración $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ y la serie 3 pertenece a la concentración $3 \mu\text{g}/\text{mL}$.

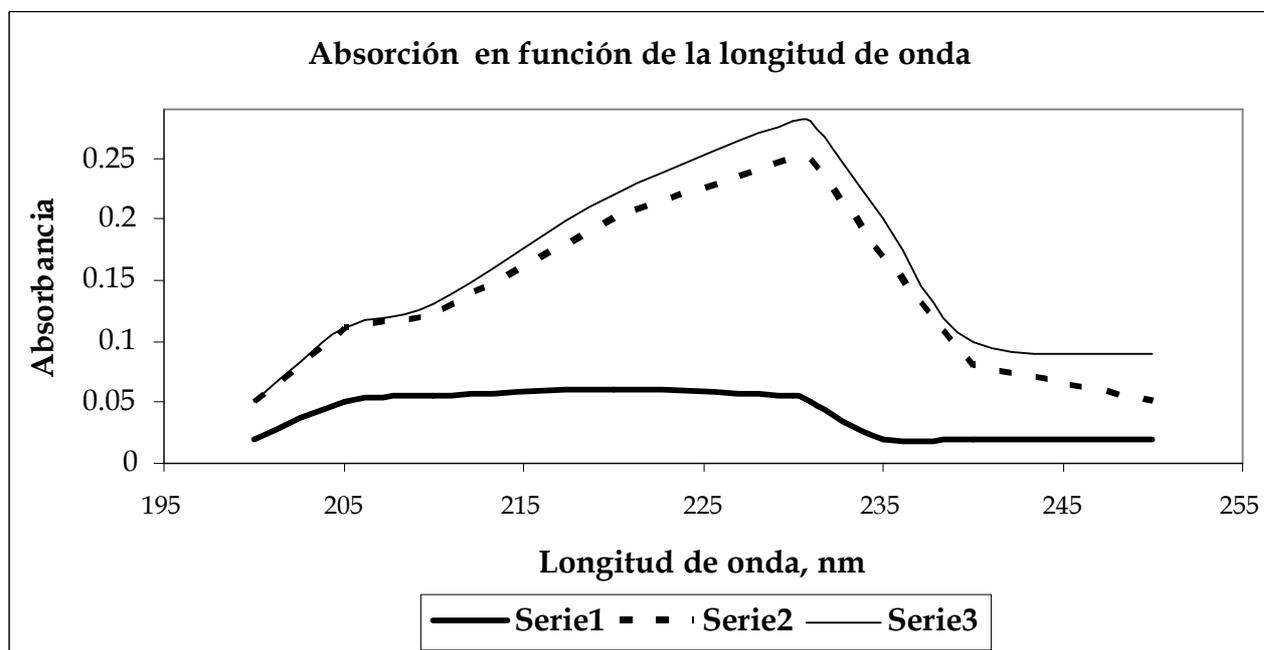
En el Gráfico 3.1 se puede observar que el naproxen presenta un máximo de absorción a una longitud de onda de 231 nm en las tres concentraciones utilizadas. De acuerdo a estos resultados se decidió utilizar la concentración de $1 \mu\text{g}/\text{mL}$, como la concentración al 100% (referencia base), para realizar la validación del método analítico propuesto.

3.3 ESPECIFICIDAD DEL SISTEMA.

Longitud de onda (nm)	Absorbancia		
	Placebo	Placebo cargado	Estándar
200	0.020	0.05	0.05
205	0.050	0.11	0.11
210	0.055	0.12	0.13
220	0.060	0.20	0.22
230	0.055	0.25	0.28
231	0.050	0.25	0.28
235	0.020	0.17	0.20
240	0.020	0.08	0.10
250	0.020	0.05	0.09

Tabla 3.2. Resultados en absorbancia para la especificidad del sistema

En la tabla 3.2 se presentan los resultados para la especificidad de sistema donde podemos observar claramente que los excipientes presentes no causan interferencia en la lectura de la respuesta analítica.



Grafica 3.2. Especificidad del sistema. La serie 1 pertenece al placebo, la serie 2 pertenece al placebo cargado, y la serie 3 pertenece al estándar de naproxen.

Los resultados obtenidos para el placebo analítico presentan una absorbancia despreciable, por lo que los excipientes presentes en la muestra no interfieren en la respuesta analítica para el naproxen al utilizar el método analítico propuesto.

Para el caso del placebo adicionado y la sustancia de referencia se puede observar que su espectro de absorción es muy parecido presentando un máximo de absorción a la longitud de onda de 231 nm al aplicar el método analítico propuesto.

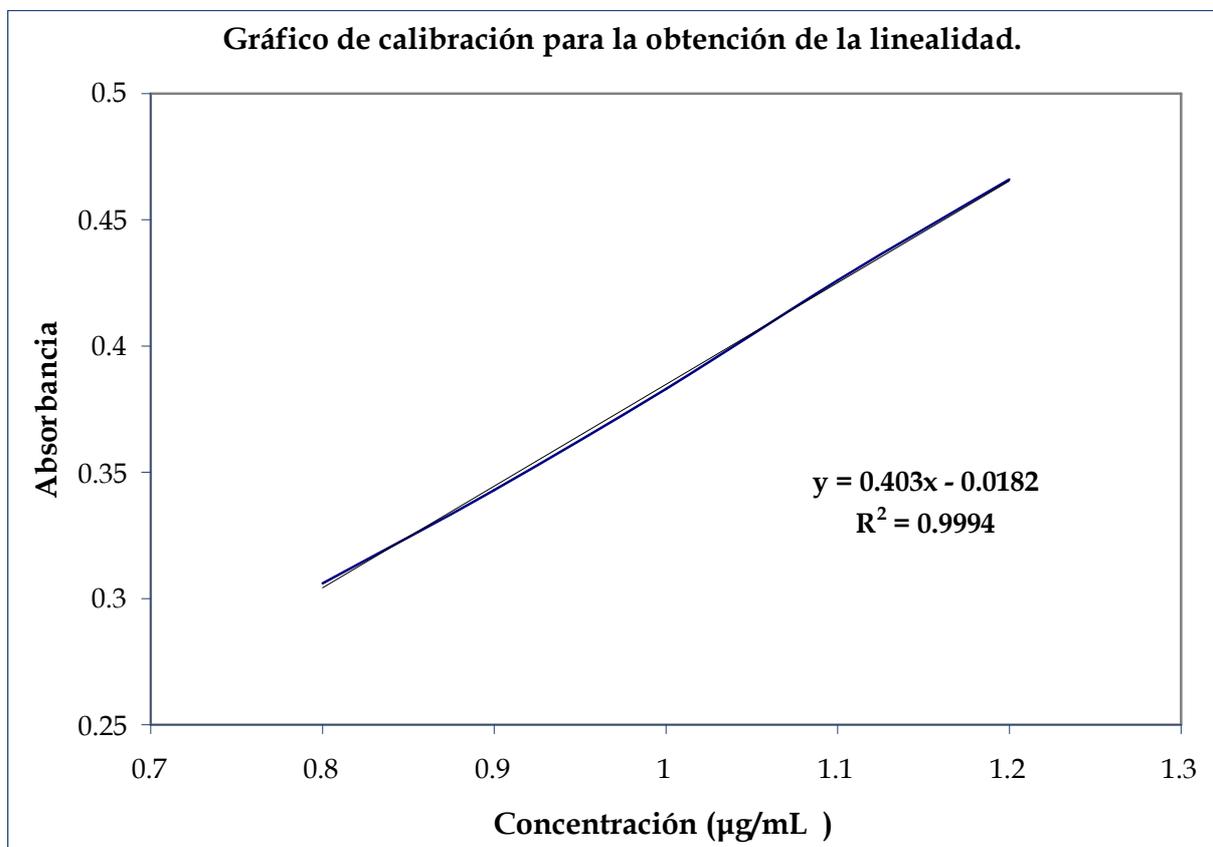
Con lo anterior podemos ver claramente que el método analítico propuesto es específico para el principio activo naproxen.

RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL SISTEMA

3.4 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Nivel (%Porcentaje)	Concentración $\mu\text{g/ml}$ (x)	Absorbancia (y)	Absorbancia promedio
80	0.8	0.30	0.306
80	0.8	0.32	
80	0.8	0.30	
90	0.9	0.34	0.343
90	0.9	0.35	
90	0.9	0.34	
100	1.0	0.39	0.383
100	1.0	0.39	
100	1.0	0.37	
110	1.1	0.43	0.426
110	1.1	0.42	
110	1.1	0.43	
120	1.2	0.47	0.466
120	1.2	0.46	
120	1.2	0.47	

Tabla 3.3 Resultados en absorbancia para la linealidad del sistema.



Grafica 3.3 Gráfica de calibración para la obtención de la linealidad.

En la Tabla 3.3 podemos observar los resultados obtenidos para la linealidad del sistema para los diferentes niveles utilizados, En la Gráfica 3.3 se encuentra el grafico que nos muestra la relación de la respuesta analítica en función de la concentración de naproxen.

La Tabla 3.4 muestra los resultados obtenidos al evaluar la linealidad del sistema, comparados con los criterios de aceptación marcados en la Guía de Validación de Métodos Analíticos, las fórmulas para realizar los cálculos necesarios se encuentran en el Anexo 1.

Parámetro	Valor obtenido experimentalmente	Criterio de aceptación
Pendiente	$b_1=0.4033$	-----
Ordenada al origen	$b_0=-0.0182$	-----
Coefficiente de determinación	$r^2= 0.9994$	$r^2 \leq 0.98$
Intervalo de confianza de la pendiente	$IC(\beta_1) = 0.4033 \pm 0.287$ $IC(\beta_1) = 0.6903, 0.1163$ El $IC(\beta_1)$ no incluye el cero	$IC(\beta_1)$, No debe incluir el cero

Tabla 3.4 Resultados para la linealidad del sistema.

Podemos observar que el coeficiente de determinación es mayor a 0.98 por lo que el método analítico propuesto es lineal.

También podemos ver que el intervalo de confianza no incluye al cero por lo que este criterio también se cumple satisfactoriamente.

3.5 PRECISIÓN DEL SISTEMA.

A continuación se encuentran los resultados obtenidos para la precisión del sistema, se realizaron 3 series, cada serie consta de un sextuplicado utilizando una concentración de 1.0 $\mu\text{g/mL}$ correspondiente al 100 %, se trabajó con los promedios para obtener el % de recobro.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias obtenidas λ de 231 nm		
	Serie 1	Serie 2	Serie 3
1.0	0.37	0.37	0.37
1.0	0.37	0.37	0.37
1.0	0.37	0.37	0.36
1.0	0.375	0.37	0.37
1.0	0.37	0.36	0.37
1.0	0.38	0.37	0.375

Tabla 3.5 Absorbancias obtenidas para las series 1, 2, y 3 de la precisión del sistema

En la Tabla 3.6 se encuentran los % de recobro para las series 1, 2, y 3, con estos resultados se obtuvo el coeficiente de variación, para determinar si el método de análisis propuesto es repetible.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	% de recobro		
	Serie 1	Serie 2	Serie 3
1.0	99.40	100.36	99.07
1.0	99.40	100.36	99.07
1.0	99.40	100.36	96.40
1.0	100.71	100.36	99.07
1.0	99.40	97.65	99.07
1.0	102.05	100.36	100.41

Tabla 3.6 Resultados para el % de recobro de la precisión del sistema.

Parámetro	Valor obtenido experimentalmente	Criterio de aceptación
\bar{x} Media aritmética	99.60 %	-----
S Desviación estándar	1.2392	-----
CV Coficiente de variación	1.2440	$CV \leq 1.5\%$ para métodos fisicoquímicos

Tabla 3.7 Resultados de los parámetros para la precisión del sistema

Como podemos observar en la tabla 3.7 el coeficiente de variación obtenido experimentalmente es menor a 1.5%, por lo que comprobamos que el método analítico propuesto es repetible.

Las fórmulas para realizar los cálculos necesarios para la determinación de los parámetros de la precisión del sistema, se encuentran en el Anexo 1.

RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO

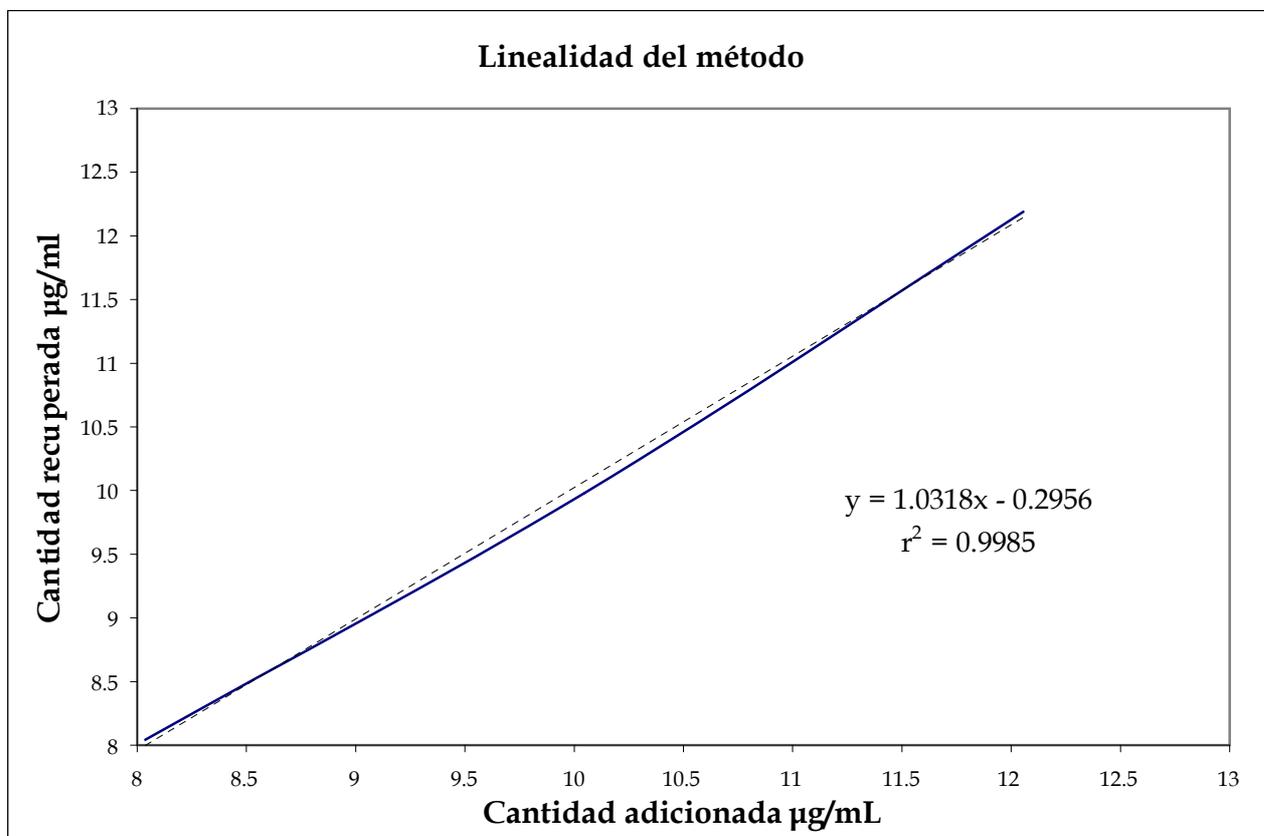
3.6 LINEALIDAD DEL MÉTODO.

Los resultados obtenidos para la linealidad del método se encuentran en la Tabla 3.7, en donde se utiliza un nivel superior y un nivel inferior tomando como base la concentración que representa el 100 % (1 µg/mL).

Nivel (%)	Concentración (µg/mL)	Absorbancia a λ 231 nm	X Cantidad adicionada (µg/mL)	Y Cantidad recuperada (µg/mL)	% de recobro
80	0.8	0.3010	8.037	8.12	101.080
80	0.8	0.3010	8.037	8.12	101.080
80	0.8	0.2924	8.037	7.89	98.200
100	1.0	0.3767	10.047	10.16	101.190
100	1.0	0.3665	10.047	9.89	98.460
100	1.0	0.3665	10.047	9.89	98.460
120	1.2	0.4559	12.056	12.3	102.065
120	1.2	0.4436	12.056	11.97	99.310
120	1.2	0.4559	12.056	12.30	102.065

Tabla 3.7 Resultados experimentales obtenidos para la linealidad del método.

Con los resultados anteriores se calculan los parámetros para la linealidad del método analítico propuesto, las fórmulas necesarias para determinar los parámetros de la linealidad se muestran en el Anexo 1, así como las tablas necesarias para estos cálculos, que encuentran en el Anexo 2.



Grafica 3.4. Linealidad del método

En el Gráfico 3.4, se puede observar la proporcionalidad que hay entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada al final del análisis del método analítico propuesto, por lo que podemos considerar que el método analítico propuesto es **Lineal**.

<i>Parámetro</i>	<i>Valor obtenido experimentalmente</i>	<i>Criterio de aceptación</i>
Porcentaje de recobro		
<i>Promedio aritmético del % de recobro (\bar{y})</i>	102.21	-----
<i>Desviación estándar (S)</i>	1.5942	-----
<i>Coefficiente de variación para el % de recobro (CV)</i>	1.5908	CV no mayor al 3%
<i>Intervalo de confianza para la media poblacional (ICμ)</i>	IC(μ)=100.98, 103.43	Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.
Cantidad adicionada Vs Cantidad recuperada		
<i>Pendiente (b_1)</i>	$b_1 = 1.0318$	-----
<i>Ordenada al origen (b_0)</i>	$b_0 = -0.2956$	-----
<i>Coefficiente de determinación</i>	$r^2 = 0.9985$	$r^2 \geq 0.9800$
<i>Intervalo de confianza para la pendiente</i>	IC(β_1)= 1.1103, 0.9532	El IC(β_1) debe de incluir la unidad
<i>Intervalo de confianza para la ordenada al origen</i>	IC(β_0)= 0.5039, -1.0934	El IC(β_0) debe de incluir el cero
<i>Coefficiente de variación de la regresión</i>	CV= 1.62%	CV del % de recobro no mayor al 3%

Tabla 3.8. Resultados de los parámetros para la linealidad del método.

Podemos observar que el coeficiente de variación del % de recobro ($CV=1.5908$) es menor al 3% por lo que entra dentro del criterio de aceptación establecido.

El intervalo de confianza incluye el promedio aritmético del % de recobro $IC(\mu)=100.98, 103.43$, por lo que cumple con uno de los criterios de aceptación.

El coeficiente de determinación $r^2=0.9985$, es mayor que el establecido en el criterio de aceptación $r^2 \geq 0.9800$, por lo que el método es lineal.

El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad, el valor obtenido experimentalmente para este parámetro es de: $IC(\beta_1)= 1.1103, 0.9532$, por lo que cumple con el criterio de aceptación establecido, al incluir la unidad.

El intervalo de confianza para la ordenada al origen incluye al cero, cumpliendo con la proporcionalidad que rige la ley de Lambert-Beer.

Podemos observar que el coeficiente de variación de regresión ($CV=1.62$) es menor al 3% por lo que entra dentro del criterio de aceptación establecido.

3.7 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

Muestra	Absorbancia	Cantidad adicionada (μg)	Cantidad recuperada(μ)	% Recobro
1	0.3665	10.047	9.89	98.47
2	0.3565	9.860	9.62	97.53
3	0.3665	9.950	9.89	99.36
4	0.3565	9.860	9.62	97.5
5	0.3872	10.140	10.44	103.0
6	0.3767	9.950	10.16	102.12

Tabla 3.9. Exactitud y repetibilidad del método

Parámetro	Valor obtenido experimentalmente	Criterio de aceptación
Media del % de recobro	$\bar{X} = 99.66$	-----
Desviación estándar	$S = 2.3629$	-----
CV	$CV = 2.3709$	El CV del porcentaje de recobro: no debe ser mayor al 3% si el método es químico o espectrofotométrico.
IC(μ)	$IC(\mu) = 99.66 \pm 2.477$ $IC(\mu) = 102.14, 97.18$	Debe de incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo. 97 - 103 % si el método es químico o espectrofotométrico.

Tabla 3.10. Resultados para los parámetros de la exactitud y repetibilidad del método

El coeficiente de variación experimental obtenido $CV=2.3709$, no excede el 3% por lo que podemos considerar que el método analítico propuesto posee exactitud y repetibilidad.

El intervalo de confianza para la media poblacional $IC(\mu)= 102.14 , 97.18$, incluye el 100%, además de que el promedio aritmético del % de recobro se incluye en el intervalo.

Para la media del % de recobro se aplico la prueba estadística, t de Student considerando lo siguiente:

$$H_0: \bar{y} = 100$$

$$H_A: \bar{y} \neq 100$$

$$\alpha = 0.05$$

Criterio de aceptación:

$$|t_{calculada}| < |t_{0.975, n=9}|$$

$$|t_{calculada}| = 0.3529$$

$$|t_{0.975, n=9}| = 2.571$$

El resultado experimental obtenido para la t es menor $t=0.3529$, que el reportado en tablas $t=2.571$, por lo que la hipótesis nula se rechaza encontrando que la media no es significativamente diferente del 100%.

3.8 PRECISIÓN DEL MÉTODO (PRECISIÓN INTERMEDIA)

El análisis se realizó por triplicado en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Se utilizaron muestras con el contenido de naproxen al 100% (1 µg/mL), para esta prueba los dos analistas utilizaron los mismos instrumentos de medición, materiales y sustancia de referencia. En las tablas 3.11 y 3.12 se muestran los resultados obtenidos para cada analista en los dos días diferentes.

Analista 1			
	Replica	Absorbancia $\lambda = 231 \text{ nm}$	% de recobro
Día 1	1	0.3767	100.19
	2	0.3716	99.83
	3	0.3665	99.41
Día 2	1	0.3767	100.19
	2	0.3665	98.44
	3	0.3716	99.83

Tabla 3.11 Resultados experimentales de la precisión intermedia para el analista 1.

Analista 2			
	Replica	Absorbancia $\lambda = 231 \text{ nm}$	% de recobro
Día 1	1	0.3716	98.91
	2	0.3716	99.83
	3	0.3767	102.11
Día 2	1	0.3767	100.20
	2	0.3665	98.44
	3	0.3767	101.12

Tabla 3.12 Resultados experimentales de la precisión intermedia para el analista 2.

Los resultados obtenidos para la precisión intermedia se muestran en la Tabla 3.13

Parámetro	Valor obtenido experimentalmente	Criterio de aceptación
Media aritmética	$\bar{X} = 99.87$	----
Desviación estándar	$S = 1.0497$	----
CV	$CV = 1.0510$	El CV del porcentaje de recobro: no debe ser mayor al 3% si el método es químico o espectrofotométrico.

Tabla 3.13 Resultados experimentales para los parámetros de la precisión intermedia

Como podemos observar en la tabla 3.13, el coeficiente de variación es menor al 3% por lo que el método analítico propuesto posee reproducibilidad.

Se realizó otro tratamiento estadístico (análisis de varianza) para determinar si hay diferencias significativas entre días y entre los analistas.

Las fórmulas necesarias para realizar los cálculos se encuentran en el Anexo 1.

Día (k)	% de Recobro	
	Analista 1 (i)	Analista 2 (j)
1	100.19	98.91
	99.83	99.83
	99.41	102.11
2	100.19	100.20
	98.44	98.44
	99.83	101.12

Tabla 3.14 Resultados experimentales para el % de recobro de la precisión intermedia

Criterio de aceptación:

- Si F calculada del analista < F tablas El método analítico es reproducible por los analistas.
- Si F calculada del analista > F tablas El método analítico no es reproducible por los analistas.
- Si F calculada del día < F tablas El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.
- Si F calculada del día > F tablas El método analítico no es reproducible en distintos días por un mismo analista.

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad (gl)	Suma de cuadrados (SC)	Media de cuadrados (MC)	F calculado	F (Tablas $\alpha=0.25$ gl num./ gl den)
Analista (A_i)	1	0.617	0.617	0.438	5.83
Día (D_i)	1	2.813	1.407	1.001	1.54
Error experimental (ϵ)	8	11.151	1.394	-----	-----

Tabla 3.15 Resultados del análisis de varianza

Después del Análisis estadístico realizado podemos decir:

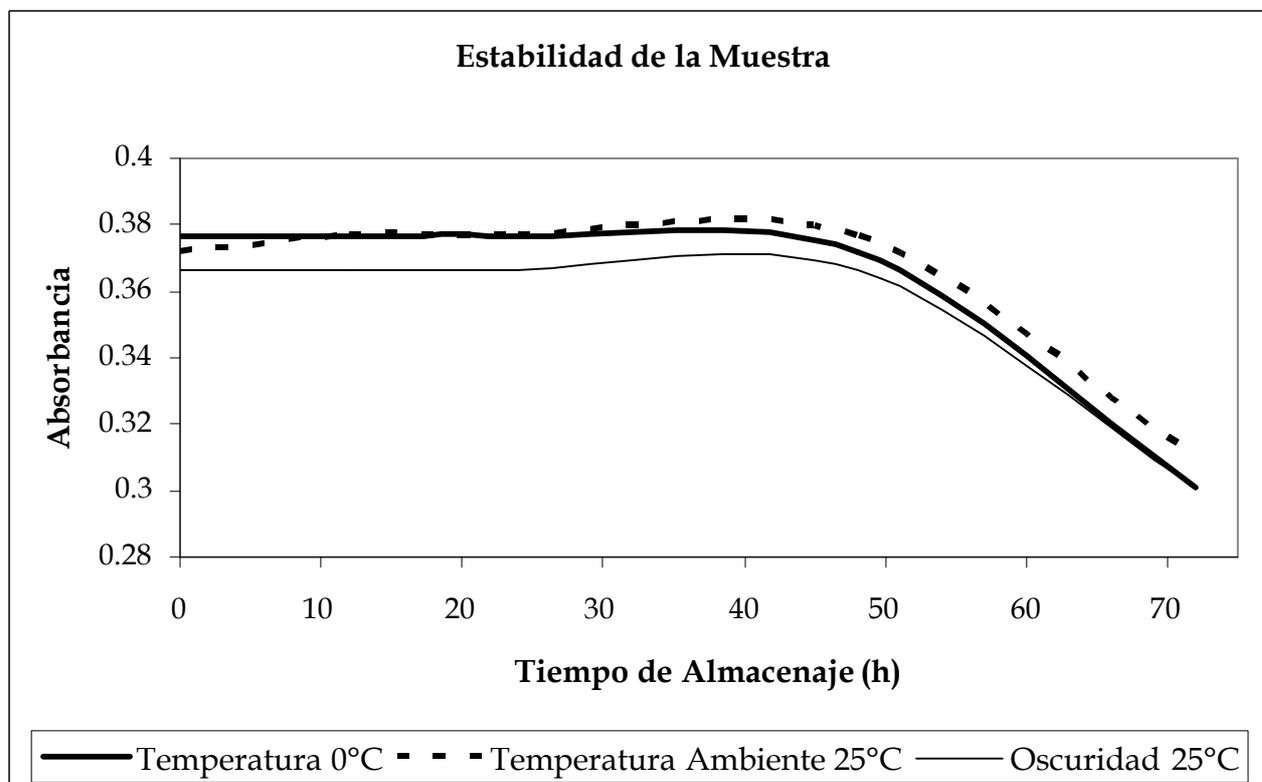
El método analítico es reproducible por dos analistas en días diferentes.

3.9 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Es muy importante saber que tan estable es la muestra con la que se trabaja por lo que se realizó un análisis para determinar que condiciones ambientales pueden afectar el análisis del método propuesto, para ello se almacenó en tres condiciones diferentes, los resultados obtenidos de la respuesta analítica se muestran en la **Tabla 3.16** en absorbancias y en la **Tabla 3.17** en % de recobro, de la misma manera podemos observar en la **Gráfica 3.5** y en la **Gráfica 3.6** como se comporta la muestra en las diferentes condiciones de almacenaje.

Condiciones de almacenaje	Tiempo de almacenaje (horas)				
	0	12	24	48	72
	<i>Absorbancia</i>				
Temperatura 0 °C	0.3767	0.3767	0.3767	0.3716	0.3010
Temperatura ambiente 25 °C	0.3716	0.3767	0.3767	0.3767	0.3098
Oscuridad 25 °C	0.3665	0.3665	0.3665	0.3665	0.3010

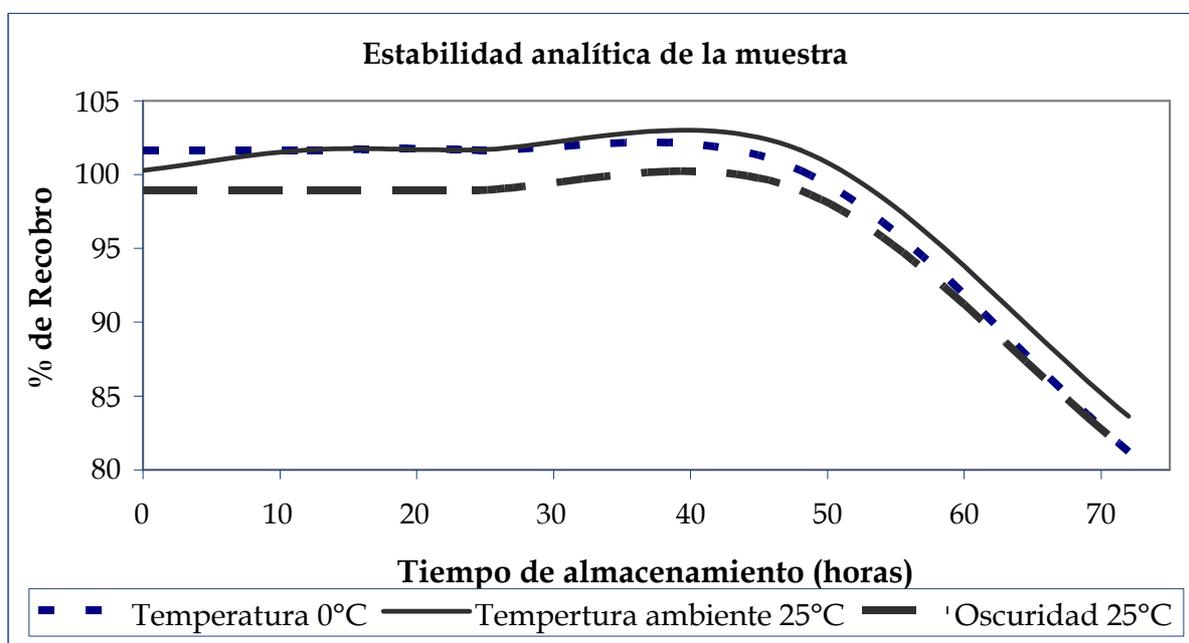
Tabla 3.16 Resultados experimentales para la estabilidad de la muestra



Gráfica 3.5 Gráfico de la estabilidad de la muestra (absorbancias)

Condiciones de almacenaje	Tiempo de almacenaje (horas)				
	0	12	24	48	72
	% Recobro				
Temperatura 0 °C	101.67	101.67	101.67	100.30	81.24
Temperatura ambiente 25 °C	100.30	101.67	101.67	101.67	83.62
Oscuridad 25 °C	98.92	98.92	98.92	98.92	81.24

Tabla 3.17 Resultados experimentales para las distintas condiciones de almacenaje.



Gráfica 3.6 Gráfico de la estabilidad de la muestra.

Como se puede observar la muestra mantiene su estabilidad hasta por 48 horas, sin presentar alteración en los resultados, por lo que el análisis se puede realizar en este periodo en condiciones de trabajo.

Se determinaron las medias aritméticas para obtener los parámetros experimentales de la estabilidad de la muestra, los resultados se muestran en la **Tabla 3.18**. Las fórmulas necesarias para realizar los cálculos de los parámetros de la estabilidad de la muestra se encuentran en el Anexo 1.

Parámetro	Valor obtenido experimentalmente	Criterio de aceptación
Media del % de recobro	$\bar{y}_0 = 100.30$ $\bar{y}_1 = 100.75$ $\bar{y}_2 = 100.75$ $\bar{y}_3 = 100.32$ $\bar{y}_4 = 82.03$	-----
$ d_1 $	$ d_1 = 0.45$	$ d_1 < 3 \%$
$ d_2 $	$ d_2 = 0.45$	$ d_2 < 3 \%$
$ d_3 $	$ d_3 = 0.02$	$ d_3 < 3 \%$
$ d_4 $	$ d_4 = 18.27$	$ d_4 < 3 \%$

Tabla 3.18 Resultados para las diferencias absolutas de las medias aritméticas de la estabilidad de la muestra

Como podemos observar en la **Tabla 3.18** la diferencia absoluta de la media aritmética cumple durante 48 horas, sin exceder el 3% por lo que las muestras no presentan cambios significativos en este lapso de tiempo, sin embargo después de este periodo el % de recobro disminuye, por lo tanto las muestras presentan cambios significativos en el % del recobro del naproxen, después de 72 horas.

DETERMINACIÓN DE NAPROXEN EN PRODUCTO COMERCIAL

3.10 DETERMINACIÓN DE NAPROXEN EN PRODUCTO COMERCIAL (TABLETAS).

Se analizaron 5 muestras comerciales de naproxen utilizando el método analítico propuesto, el cual cumple con los criterios de aceptación de la Guía de Validación de Métodos Analíticos, los resultados obtenidos se muestran en las tablas siguientes.

N° Tableta	Peso (mg)				
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
1	315.2	261.6	309.7	307.9	1369.1
2	313.4	266.0	310.5	306.7	1340.8
3	340.2	270.6	308.5	308.7	1348.7
4	310.1	265.6	305.1	312.6	1345.3
5	326.6	262.5	309.7	308.4	1345.1
6	328.8	260.7	310.1	313.5	1355.6
7	317.7	270.6	304.8	298.5	1356.3
8	315.5	268.1	307.0	306.8	1354.9
9	316.5	260.6	307.5	342.2	1359.1
10	319.4	271.6	305.2	304.2	1355.1
Peso promedio	320.34	265.79	307.81	310.96	1353.0
Contenido de naproxen (marbete)	250 mg	250 mg	220 mg	250 mg	500 mg

Tabla 3.19 Resultados de peso promedio para las 5 muestras comerciales utilizadas.

Producto comercial	Replica	Peso (mg)	Absorbancia $\lambda=231$ nm	% de Recobro
Producto 1 (250mg)	1	10.6	0.3565	98.15
	2	10.8	0.3665	99.03
	3	10.6	0.3665	100.90
Producto 2 (250mg)	1	13.0	0.3767	102.920
	2	12.9	0.3665	100.906
	3	12.9	0.3665	100.906
Producto 3 (220mg)	1	14.1	0.3468	95.38
	2	14.0	0.3565	98.75
	3	14.2	0.3565	97.36
Producto 4 (250mg)	1	12.49	0.3665	100.76
	2	12.5	0.3565	97.93
	3	12.5	0.3565	97.93
Producto 5 (500mg)	1	27.5	0.3665	99.56
	2	27.2	0.3665	100.66
	3	27.6	0.3716	100.58

Tabla 3.20 Resultados de los % de recobro para distintas muestras comerciales utilizando el método analítico propuesto

La FEUM 8ª edición marca que no debe contener menos del 90.0 por ciento y no más del 110.0 por ciento de la cantidad de naproxen, indicada en el marbete, por lo que todos los resultados obtenidos del % de recobro cumplen con este criterio de aceptación.

CAPÍTULO 4

Análisis de Resultados y Conclusiones

CAPÍTULO 4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Especificidad del sistema. El ensayo realizado para el estudio de la especificidad del sistema comprueba que el método descrito resulta ser específico. Ninguno de los excipientes presentes en la formulación interfiere en el ensayo de cuantificación propuesto ya que su absorbancia máxima es de 0.06.

Linealidad del sistema. Las gráficas de calibración a la longitud de onda de 231 nm resultó ser lineal en el intervalo de concentraciones comprendidos entre 0.8 y 1.2 µg/mL. El coeficiente de correlación lineal fue de $r^2= 0.9994$, cumpliendo con los límites establecidos.

Precisión del Sistema. En la **Tabla 3.7** se exponen los resultados correspondientes a este estudio. El coeficiente de variación 1.2440 es menor a 1.5 %. Por lo que cumplen con el criterio de aceptación establecido.

Exactitud y repetibilidad del método. Aquí podemos observar que no tenemos interferencias y que el método posee repetibilidad, además de ser exacto, el intervalo de confianza incluye al 100% y se encuentra dentro del criterio de aceptación. Cabe mencionar que se debe de tener cuidado al realizar las diluciones, ya que hemos observado que el método es muy sensible y una mala dilución, puede ocasionar un error en las lecturas de absorbancia.

Linealidad del método. En la a linealidad del método se comprobó mediante las pruebas estadísticas realizadas, que el valor de la pendiente no difiere significativamente del valor unitario y el valor del intercepto no difiere significativamente de cero. La curva de recuperación mostró un comportamiento lineal debido al valor del coeficiente de correlación $r^2=0.9985$ cercano a la unidad

Precisión intermedia. El coeficiente de variación $CV=1.0510$ resulto ser menor al 3 %, lo cual demuestra la buena repetibilidad del método de cuantificación. No se observaron diferencias significativas entre las medias de ambos analistas, y el método analítico fue reproducible en distintos días por un mismo analista.

Estabilidad de la muestra. Se evaluó la estabilidad de la muestra para determinar el tiempo máximo en que puede conservarse una vez preparada. La muestra se sometió a 3 diferentes condiciones de almacenaje: a 0° C, a temperatura ambiente, y en la oscuridad, se observó que la muestra permanece estable durante 48 hrs., sin embargo después de este intervalo de tiempo la absorbancia de la muestra disminuye así como el % de recuperación del analito, por lo que la lectura de la muestra, debe realizarse dentro de las primeras 48 hrs. en que se prepara, lo más recomendable es que se realice la lectura de medición inmediatamente después de que se prepara la muestra.

Determinación de naproxen en producto comercial (tabletas). Se determinó el principio activo naproxen en diferentes productos farmacéuticos comerciales, utilizando la **metodología analítica experimental propuesta validada**, obteniéndose % de recobro que se encuentran dentro del límite de aceptación que marca la monografía del activo (contiene no menos del 90.0 por ciento y no más del 110.0 por ciento de la cantidad de naproxen indicada en el marbete).

CONCLUSIONES

El método analítico para la cuantificación del principio activo naproxen propuesto es lineal, preciso y exacto en el intervalo de concentración estudiado (1 µg/mL), cumpliendo con los límites de aceptación establecidos para estos parámetros referidos en la Guía de Validación de Métodos Analíticos.

La validación de un método analítico es el proceso mediante el cual se establece por medio de estudios de laboratorio que las características representativas del método analítico cumplen con las especificaciones para su aplicación, comprobándose que el método cumple, con los objetivos planteados, ya que es rápido, fácil y de bajo costo, y que la metodología propuesta cumple con los propósitos prácticos de medición para los cuales fue diseñada.

El método es específico para la determinación de naproxen en tabletas, y la muestra en disolución se conserva estable durante 48 hrs.

GLOSARIO

GLOSARIO

Analito: Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.

Especificidad del sistema: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

Exactitud: Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Estabilidad analítica de la muestra: Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Linealidad: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcional a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

Método analítico: Descripción de la secuencia de actividades, recurso materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

Método analítico oficial: Método que aparece en la literatura oficial reconocida.

Método analítico no oficial: Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.

Muestra: Porción del material a evaluar.

Muestra analítica: Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.

Placebo analítico: Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

Placebo adicionado: Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida de analito.

Precisión: Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a deferentes porciones de un muestra homogénea del producto o de una referencia.

Precisión intermedia: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

Repetibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.

Reproducibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

Sustancia de referencia: Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

Validación del método analítico: Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

ANEXOS

ANEXO 1

Formulas para la precisión del sistema, exactitud y repetibilidad del método y precisión del método (precisión intermedia).

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar

$$s = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{s}{\bar{y}} * 100$$

n= número de mediciones, número de recobros y número de muestras de contenido/potencia/valoración.

Intervalo de confianza para la media poblacional

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0.975, n-1} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

n= número de recobros

Formulas para linealidad del sistema y linealidad del método.

Pendiente

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n= número de mediciones (concentración- respuesta analítica)

Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coefficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente.

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

$$S_{b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

$t_{0.975, n-2}$ = Referirse al anexo 2 para determinar el valor de la t de Student.

Intervalo de confianza para la ordenada al origen.

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Coefficiente de variación de regresión.

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{y} \times 100$$

Fórmulas para calcular t de Student

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

Fórmulas para realizar el análisis de varianza

Día (k)	Analista 1 (i)	Analista 2 (j)
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}

$$\sum y_{ijk} = (Y_{111} + Y_{112} + \dots + Y_{223})$$

$$\sum Y_i^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$\sum Y_j^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$\sum Y_{ij}^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$\sum Y_{ijk}^2 = [(Y_{111})^2 + (Y_{112})^2 + (Y_{113})^2 + (Y_{121})^2 + \dots + (Y_{223})^2]$$

<i>Fuente de variación (FV)</i>	<i>Grados de libertad (g)</i>	<i>Suma de cuadrados (SC)</i>	<i>Media de cuadrados (MC)</i>	<i>F calculada</i>
Analista (A)	(i-1)	$\frac{\sum Y_i^2}{k} - \frac{(\sum Y_{ijk})^2}{ijk}$	$\frac{SC_A}{(i-1)}$	$\frac{MC_A}{MC_{AD}}$
Día (D)	(j-1)	$\frac{\sum Y_{ijk}^2}{k} - \frac{\sum Y_i^2}{jk}$	$\frac{SC_C}{(j-1)}$	$\frac{MC_D}{MC_{AD}}$
Error experimental (ε)	ij(k-1)	$\frac{\sum Y_{ijk}^2}{k} - \sum Y_{ij}^2$	$\frac{SC_\epsilon}{ij(k-1)}$	-----

ANEXO 2

TABLA ESTADISTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT

Grados de libertad	$t_{0.975}$	Grados de libertad	$t_{0.975}$	Grados de libertad	$t_{0.975}$
1	12.706	26	2.056	51	2.008
2	4.303	27	2.056	52	2.007
3	3.182	28	2.048	53	2.006
4	2.776	29	2.045	54	2.005
5	2.571	30	2.042	55	2.004
6	2.447	31	2.040	56	2.003
7	2.365	32	2.037	57	2.002
8	2.306	33	2.035	58	2.002
9	2.262	34	2.032	59	2.001
10	2.228	35	2.030	60	2.000
11	2.201	36	2.028	61	2.000
12	2.179	37	2.026	62	1.999
13	2.160	38	2.024	63	1.998
14	2.145	39	2.023	64	1.998
15	2.131	40	2.021	65	1.997
16	2.120	41	2.020	66	1.997
17	2.110	42	2.018	67	1.996
18	2.101	43	2.017	68	1.995
19	2.093	44	2.015	69	1.995
20	2.086	45	2.014	70	1.994
21	2.080	46	2.013	71	1.994
22	2.07	47	2.012	72	1.993
23	2.069	48	2.011	73	1.993
24	2.064	49	2.010	74	1.993
25	2.060	50	2.009	75	1.992

ANEXO 2

TABLA ESTADISTICA DE LA DISTRIBUCIÓN F $\alpha=0.25$ GL Num. / gl Den

Grados de libertad del numerador (v2)	Grados de Libertad del numerador(v1)				
	1	2	3	4	5
1	5.83	7.50	8.20	8.58	8.82
2	2.57	3.00	3.15	3.23	3.28
3	2.02	2.28	2.36	2.39	2.41
4	1.81	2.00	2.05	2.06	2.07
5	1.69	1.85	1.88	1.89	1.89
6	1.62	1.76	1.78	1.79	1.79
7	1.57	1.70	1.72	1.72	1.71
8	1.54	1.66	1.67	1.66	1.66
9	1.51	1.62	1.63	1.63	1.62
10	1.49	1.60	1.60	1.59	1.59

BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 8° edición, Vol. II, México 2004, Secretaria de Salud, Págs. 1896-1897, 2134.

- ❖ Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, PLM, edición 40, Pág. 1138-1140. 1998.

- ❖ Generic Drug Formulations, Volker Bühler, BASF Fine Chemicals. 1° edición, 1997.

- ❖ Guía CIPAM de Buenas Prácticas de Fabricación. “Procesos de limpieza y su validación en áreas de fabricación”. 1ª edición, Monografía Técnica No. 16. México, DF., 1999.

- ❖ El Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2004, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.

- ❖ Reglamento de Insumos para la Salud, Diario Oficial el 4 de febrero de 1998.

- ❖ La Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998. Buenas prácticas fabricación de fármacos.

- ❖ La Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005. Estabilidad de Medicamentos

- ❖ Good Manufacturing Practices Guidelines, Edition 2002, versión 2, Health Canada, Health Products and Food Branch Inspectorate, Págs. 55, 83.

- ❖ Tesis. Validación de un Método Analítico para determinar Ketoconazol en crema. Colín López Raquel. Facultad de Química, CD. Universitaria, 2002.

- ❖ Tesis. Validación de un Método Espectrofotométrico para la determinación de Ketoconazol en una preparación farmacéutica. Hernández Solórzano Débora. Facultad de Química, CD. Universitaria, 2002.

- ❖ Tesis. Validación de un método Espectrofotométrico para determinar Acetaminofen en un producto Farmacéutico. Ledesma Peña Verónica. Facultad de Química, CD. Universitaria, 2004.

- ❖ Probabilidad y Estadística aplicada a la ingeniería, Douglas C. Montgomery y George C. Runger. Editorial Mac Graw Hill, 1996, Págs. 312-317, Anexo A-10.