



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Desarrollo y validación de un método espectroscópico
para la determinación de piroxicam en un producto
farmacéutico comercial.

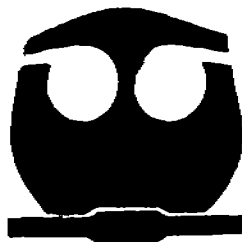
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

ELIZARRARAS HERRERA ELENA GUADALUPE



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

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 Prof. Pedro Villanueva González.
Vocal Prof. Ernestina Cervera Flores.
Secretario Prof. Honoria Fuentes Sixtos.
1er. Suplente Prof. Ernestina Hernández García.
2º. Suplente Prof. Joaquín González Robledo.

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 3D de la Facultad de Química
Ciudad Universitaria, UNAM.

Asesor del tema:


Pedro Villanueva González.

Sustentante:


Elena Guadalupe Elizarrarás Herrera.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Elizarrarás

Herrera Elena G. pl.

FECHA: 24/ marzo/ 06

FIRMA: 

DEDICATORIAS

A Dios.

Por ser mi guía, por darme tantas cosas hermosas en el transcurso de mi vida, por su bondad infinita para conmigo y para los seres que amo, por su amor, y por que de no haber sido por su voluntad este logro no se hubiera llevado a cabo.

A mis padres.

Al *Dr. José Rafael Elizarrarás García* por el amor que siempre me ha dado, ser mi padre, mi mejor y más grande amigo, por que se cuento con él incondicionalmente y por apoyarme en todo momento... ¡Te admiro!

A *María Elena Herrera de Elizarrarás* por que mejor madre no me hubiera podido dar Dios, por ser mi mejor y única amiga, por sus desvelos y su apoyo incondicional, por enseñarme en esta mi nueva etapa el significado de esa palabra tan grande y que encierra todos los mejores sentimientos que una mujer puede sentir, el ser...“madre”.

Y por que este logro es también de ustedes.

A mis hermanos.

Fernando Rafael y Rodrigo Alfonso, por los momentos tan maravillosos que hasta el día de hoy me han permitido compartir con ustedes, por ser unos seres humanos increíbles y por su nobleza infinita..... Y por que este logro también es compartido.

A mi esposo.

Al *Ing. Agustín G. Ruiz Tamayo* por su amor, su apoyo, por que somos uno solo, por su bondad y por todos los hermosos momentos que hemos compartido y por esta nueva vida.

A mi hija.

Mi pequeño amor, por que a partir del 29 de julio del 2005 eres mi motor de vida, por que todos mis logros llevarán tu nombre y por que eres mi mayor alegría.....TE AMO bebe y siempre estaré a tu lado.

A mis abuelitos.

Al Lic. José Herrera Vela, por ser un ejemplo de esfuerzo y dedicación. A mi Chepinita linda (q.e.p.d.) que se que desde el cielo estas conmigo y que compartes mis alegrías y mis triunfos...te llevo en mi corazón y pensamiento. A mis abuelitos Rafael (q.e.p.d.) y Rita (q.e.p.d.), que le dieron vida a ese ser tan maravilloso que es mi padre.

A mis tíos y primos

Por ser parte de mi familia, por brindarme su cariño, y por hacerme sentir que puedo contar con ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Pedro Villanueva González, por compartir sus conocimientos conmigo, su apoyo brindado en todas las etapas para la realización del presente trabajo, y su valiosa amistad.

Al Ingeniero Fernando Jiménez Lugo, director de operaciones de productos Medix, S.A. de C.V. por interesarse en mi trabajo de tesis y facilitarme los componentes de la formulación de tabletas de piroxicam.

Al departamento de Química Analítica de la Facultad de Química de la U.N.A.M. por facilitarme el equipo y el material para llevar a cabo el presente trabajo.

Índice	página.
Capítulo I	
Introducción	2
Objetivo	3
Capítulo II	
Generalidades	5
Espectroscopia	12
Espectrofotómetro	13
Tipos de espectrofotómetros	14
Terminología utilizada en espectroscopia	15
Transmitancia	16
Absorbancia	16
Absortividad y absortividad molar	17
Monografía del piroxicam	19
Nombres químicos	19
Nombres comerciales	19
Fórmula condensada	19
Peso molecular	19
Composición	20
Uso terapéutico	20
Temperatura de fusión	20
Descripción	20
Solubilidad	20
Propiedades fisicoquímicas	20
Usos	21
Condiciones de almacenamiento	21
Acción terapéutica	21
Farmacodinamia	27
Farmacocinética	28
Interacción con valores fisiológicos	29
Contraindicaciones	29
Toxicidad gastrointestinal	29
Toxicidad hepática	30
Toxicidad renal	30
Toxicidad en el sistema nervioso central	30
Toxicidad hematológica	31
Toxicidad en el embarazo y lactancia	31
Interacción medicamentosa	31
Dosificación y vías de administración	32
Validación	33
Definiciones	33
Simbología	35
Determinaciones, metodología y criterios de aceptación	36

Capítulo III	
Desarrollo experimental	41
Formulación	41
Propiedades	41
Reactivos, material y equipo	42
Preparación de disoluciones y evaluación de parámetros	43
Determinación de los máximos de longitud de onda	45
Capítulo IV	
Resultados de especificidad	47
Resultados de la linealidad del sistema	48
Resultados de la precisión del sistema	58
Resultados de la linealidad del método	64
Resultados de la precisión del método	74
Resultados de la exactitud y repetibilidad del método	78
Resultados de la estabilidad	87
Capítulo V	
Análisis de resultados	93
Capítulo VI	
Conclusiones	97
Apéndice	99
Bibliografía	101

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN.

Las técnicas de análisis químico proporcionan información sobre la composición de una muestra. Existen dos tipos de análisis el cualitativo y el cuantitativo, el cualitativo aporta información en la que se registran especies atómicas o moleculares, características a nivel estructural o bien reconocer grupos funcionales presentes en la muestra. En el análisis cuantitativo los resultados que se obtienen son expresados como datos numéricos: molaridad, normalidad, ppm, mg/mL, etc.

Al analizar una muestra por métodos espectrofotométricos se genera una señal, la cual es una magnitud que puede ser medida como la absorbancia, el área, la masa, entre otras; y que es manejada como una propiedad para reconocer la composición química de dicha muestra.

En la espectrofotometría, la señal obtenida es proporcional a la concentración del analito que se esta evaluando.

El validar una técnica de análisis, permite aceptar y confiar, a través de un conjunto de instrucciones escritas, una metodología a seguir para verificar que los valores que se obtienen experimentalmente son los apropiados.

Al elegir un método de análisis para determinar un analito, es necesario tomar en cuenta diversos parámetros o criterios como la especificidad, la precisión, la linealidad, la exactitud y la repetibilidad así como la estabilidad analítica, que permitan la aceptación de dicha metodología.

El presente trabajo describe el desarrollo experimental y la validación de un método analítico fundamentado a partir de las propiedades espectroscópicas para distinguir las señales analíticas particulares de cada grupo funcional presentes en la molécula de una formulación, que tiene como principio activo el piroxicam, el cual es un fármaco no esteroideo con tiempo de vida media largo y que es utilizado como antiinflamatorio, analgésico y antipirético y la forma farmacéutica a analizar serán tabletas de 20 mg.

El presente trabajo de tesis, tiene por objetivo desarrollar y validar un método espectroscópico de ultravioleta para determinar piroxicam en presentaciones farmacéuticas tabletas, considerando tres diferentes longitudes de onda; 252 , 294 y 352 nm, utilizando etanol como disolvente de tal forma que se permita establecer cual es la longitud de onda en la que sea mejor la determinación de piroxicam y validar la metodología mediante la realización de los parámetros que permitan su aceptación como especificidad, precisión y linealidad del método y del sistema, exactitud y repetibilidad, estabilidad analítica del método.

Confirmar que los resultados obtenidos a partir de éste método son confiables al encontrarse dentro de los límites de aceptación según la guía de validación para métodos analíticos.

CAPITULO II

GENERALIDADES

GENERALIDADES.

A la ciencia que se encarga de estudiar la radiación de tipo electromagnético, que puede ser absorbida o emitida por diferentes sustancias, se le conoce como espectroscopia y es importante para identificar y caracterizar compuestos presentes en una muestra¹.

Existen diferentes métodos espectroscópicos, los cuales se apoyan en fenómenos como la absorción y la emisión ocurrida al interaccionar la radiación electromagnética con un analito a través de fenómenos como: la transición de los electrones entre niveles energéticos, vibraciones de enlace, rotaciones moleculares y transiciones de electrones entre orbitales atómicos y moleculares.

Se considera que este tipo de radiación esta formada por un conjunto de moléculas cargadas a las que se les denominan fotones los cuales viajan a una determinada distancia siguiendo una trayectoria de carácter ondulatorio, cuya oscilación completa forma una onda sinusoidal en donde la trayectoria que existe entre dos máximos o dos mínimos corresponde a la longitud de onda (λ), cuando la radiación llega a una muestra, ésta absorbe la energía que transportaba el fotón pasando a un estado de alta energía; por lo que la intensidad de los fotones que pasan a través de una muestra que contiene el analito de interés se atenúa debido a la absorción de ésta. A este fenómeno de atenuación, se le designa como absorbancia y ésta es una señal que puede ser medida. Este tipo de espectroscopia se le ha denominado de absorción, y la espectroscopia de ultravioleta se cimienta en esta.^{5, 6}

Durante la década de los 40, surgieron instrumentos para la espectroscopia de absorción en los que se utilizaban selectores monocromáticos, los cuales permitían seleccionar una longitud de onda; a estos instrumentos se les denominó espectrómetros y para aquellos que podían medir, el cociente entre la potencia radiante que atraviesa una muestra y la potencia de la fuente de radiación que es, la transmitancia se les conoció con el nombre de espectrofotómetros³. La absorción en estos instrumentos para radiación ultravioleta-visible se origina a consecuencia de la excitación a niveles más altos de energía de los electrones presentes en una molécula.

Una molécula está formada por enlaces entre átomos los cuales se agrupan en pares en zonas específicas denominadas orbitales, y que forman parte de grupos funcionales, estos enlaces dan origen a la absorción de la radiación ultravioleta-visible. Al átomo o conjunto de átomos que absorben radiación se le denomina cromóforo y generalmente presentan electrones de valencia no compartidos en la parte externa de la molécula, como en el caso del oxígeno, el azufre, el nitrógeno o de algún tipo de halógeno⁵.

Existen cuatro tipos de orbitales, que se denotan *s*, *p*, *d*, y *f*, siendo los dos primeros los que se encuentran formando parte de moléculas orgánicas generalmente.

Los orbitales *s* son de forma esférica y los orbitales *p* tienen forma de pesas de gimnasia.

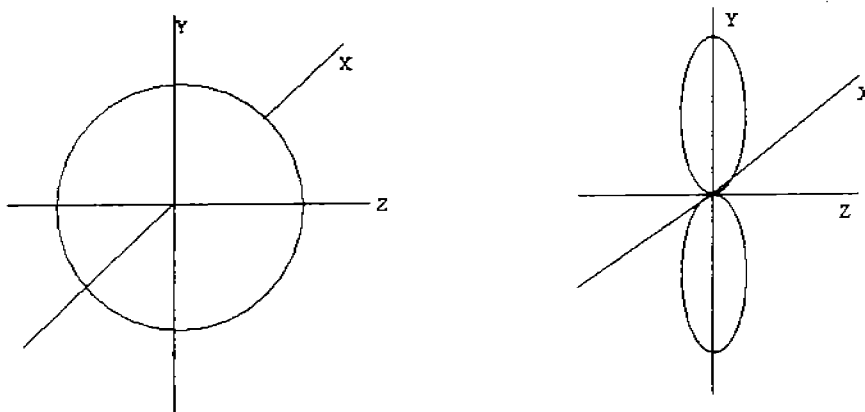


Fig. 1 Esquema de la forma de los orbitales "s" y "p".

La configuración electrónica de un átomo puede deducirse asignando electrones a los orbitales adecuados, empezando con los de energía más baja.

Existen dos diferentes tipos de enlaces químicos: enlaces iónicos y enlaces covalentes. Los primeros se basan en la afinidad electrostática de cargas diferentes y se encuentran generalmente en sales inorgánicas. Los enlaces covalentes se forman cuando dos átomos comparten un par de electrones como en el caso de dos átomos de carbono. Estos electrones se comparten por superposición, por ejemplo en el caso de que dos átomos de un elemento en

el que tiene cada uno un orbital de tipo $1s$ (forma esférica) y cada uno con un solo electrón en donde se aproximan y se unen para formar un nuevo orbital molecular.

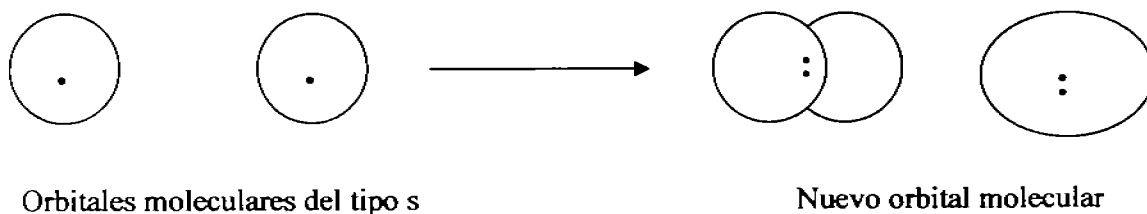


Fig. 2 Esquema de la superposición de dos orbitales de tipo "s".

Los enlaces con sección transversal circular y que se forman por superposición frontal de dos orbitales se denominan enlaces sigma (σ); los enlaces que se forman por superposición lateral de dos orbitales p se llaman enlaces pi (π). Cuando una molécula muestra electrones que no forman enlaces se representan con la letra n .

Al combinarse un par de orbitales atómicos se origina un par de orbitales moleculares, uno de mayor y otro de menor energía que los orbitales atómicos iniciales. El de mayor energía queda vacío y se dice que es de antienlace debido a que resulta de la superposición sustractiva de dos lóbulos con signos opuestos. El orbital molecular de menor energía es de enlace y resulta de la superposición aditiva de lóbulos que tienen mismo signo.

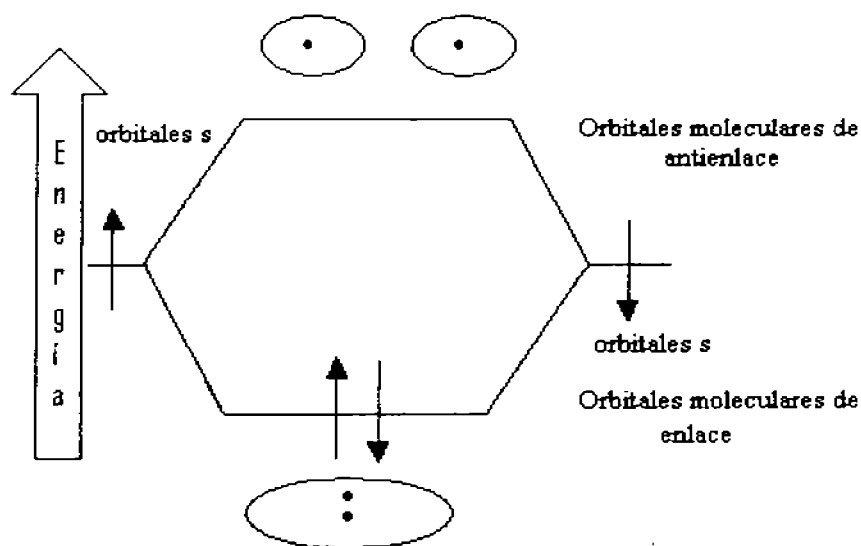
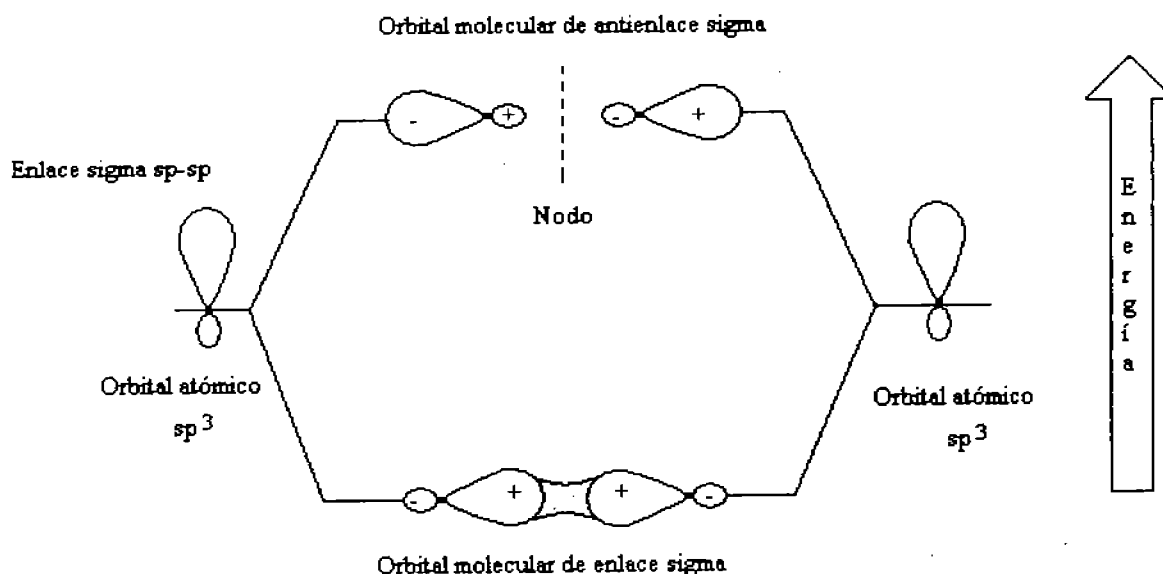


Fig. 3 La combinación de dos orbitales atómicos “s”, conduce a la formación de dos orbitales moleculares. El orbital molecular de menor energía (de enlace) se llena, y el de mayor energía (de antienlace) queda vacío.

Si los electrones ocuparan el orbital que es de mayor energía, la molécula poseería mucho mayor energía que los átomos aislados y por ende no se formaría el enlace, por esto es que se le designa de antienlace y tienen nodos entre los núcleos (planos de cero densidad electrónica entre lóbulos de signo opuesto) por lo que tienen menor número de interacciones favorables para el enlace.



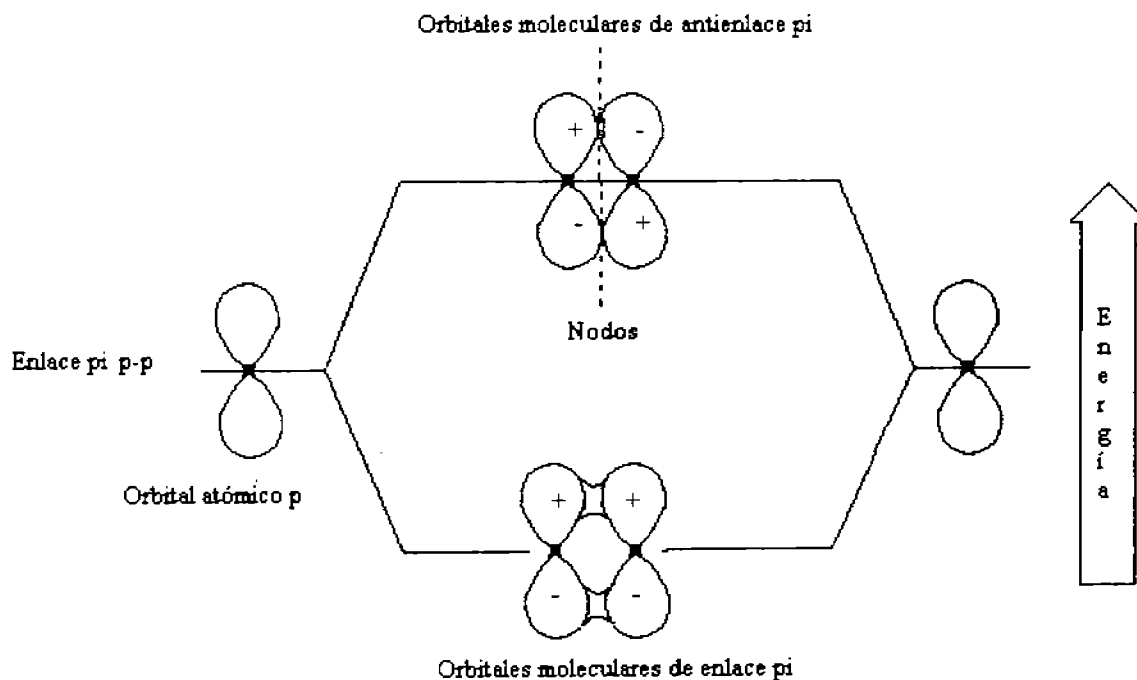


Fig. 4 Esquema del origen de los orbitales moleculares de enlace y antienlace (*).

Los electrones que ayudan a que exista una absorción por parte de una molécula orgánica son aquellos que participan de manera directa en la formación del enlace entre átomos y que están asociados a más de un átomo; así como aquellos electrones no enlazantes o externos que no participan y que están localizados alrededor de átomos.

Existen cuatro tipos de transiciones de acuerdo a los niveles de energía moleculares: $\sigma\text{-}\sigma^*$, $n\text{-}\sigma^*$, $n\text{-}\Pi^*$, y $\Pi\text{-}\Pi^*$. La espectroscopia de absorción es aplicable mayormente a compuestos orgánicos con transiciones de electrones n o Π al estado excitado Π^* , ya que se requiere de un grupo funcional que provea de centros absorbentes insaturados (cromóforos).

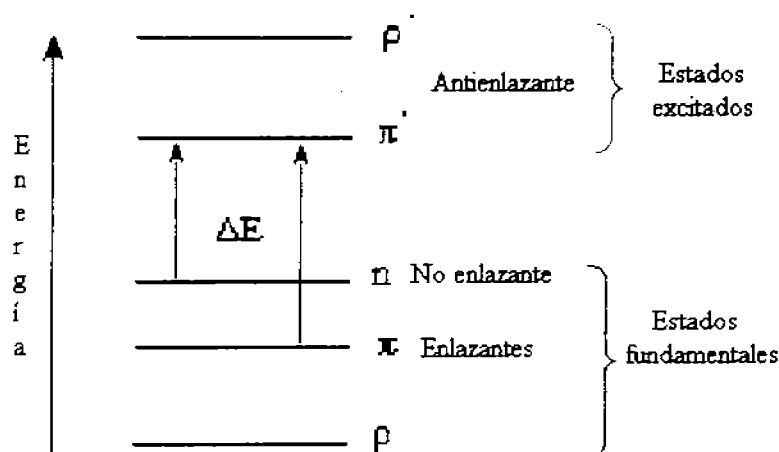


Fig. 5 Esquema de la energía que presentan los orbitales moleculares de enlace y antienlace.

Las energías de los distintos tipos de enlaces en una molécula son diferentes y le dan la propiedad de absorber energía a una determinada longitud de onda, dependiendo de las transiciones electrónicas entre niveles de energía.

Las transiciones de tipo $n\text{-}\pi^*$, y $\pi\text{-}\pi^*$ tienen características importantes, una de ellas es el efecto que ejercen disolventes polares hidrofílicos sobre la longitud de onda, ya que para transiciones $n\text{-}\pi^*$ generalmente el desplazamiento de las longitudes de onda es hacia unas longitudes de onda más cortas (hacia el azul, efecto hipsocrómico) efecto que se lleva a cabo al aumentar la polaridad del disolvente debido al aumentar la solvatación del par de electrones no enlazados que provocan una disminución de la energía del orbital n . Para transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ y $n\text{-}\pi^*$ el disolvente provoca otro efecto y da lugar a un desplazamiento hacia el rojo al aumentar la polaridad del disolvente, este efecto se ve eclipsado por las transiciones $n\text{-}\pi^*$ por el desplazamiento al azul. Con el desplazamiento hacia el rojo, las fuerzas de polarización de atracción entre el disolvente y el absorbente tienden a disminuir los niveles de energía de ambos estados excitado y no excitado.⁵

La existencia de un segundo doble enlace conjugado en una molécula o la presencia de un grupo auxocromo, que es un grupo funcional que no absorbe por sí mismo en la región de ultravioleta pero tiene el efecto de desplazar la señal de cromóforos hacia longitudes de onda largas y aumenta sus intensidades, provoca que aumente la $\lambda_{\text{máx}}$ de la absorción (efecto batocrómico) así como la absorbancia y ϵ , (efecto hiperocrómico). En caso de producirse por cualquier circunstancia una disminución de la $\lambda_{\text{máx}}$ sería un efecto hipsocrómico, o una disminución de la absorbancia (efecto hipocrómico).

De acuerdo con los anteriores modos de excitación tendremos los siguientes cromóforos simples en la espectroscopia ultravioleta:

Electrones implicados	Enlace	transición	$\lambda_{\text{máx}}$ nm
Electrones σ	C-C, C-H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
	-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	185
	-N-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
Electrones n	-S-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
	C=O	$n \rightarrow \pi^*$	290
Electrones π	C=O	$n \rightarrow \sigma^*$	190
	C=C	$\pi \rightarrow \pi^*$	190

ESPECTROSCOPIA.

El objetivo de un espectroscopio es la dispersión de la luz en sus diferentes longitudes de onda para que pueda ser analizada. La pieza fundamental de un espectroscopio es su elemento dispersor. Existen dos principios ópticos fundamentales que permiten dispersar la luz, la refracción diferencial y la interferencia. El primero da lugar a los espectroscopios de prisma y el segundo a los basados en redes de difracción.

En espectroscopia se estudia la absorción y la emisión de radiación electromagnética (luz) de la materia. En un sentido amplio, la espectroscopia tiene que ver con todas las interacciones de la radiación electromagnética con la materia, y por tanto, también incluye dispersión de luz y rotación del plano de rotación de la luz polarizada por sustancias ópticamente activas.

Las técnicas espectroscópicas se utilizan para conocer las características de la estructura de las moléculas.

Las transiciones entre estados electrónicos moleculares corresponden a absorción en las regiones del ultravioleta (U.V.) y visible:

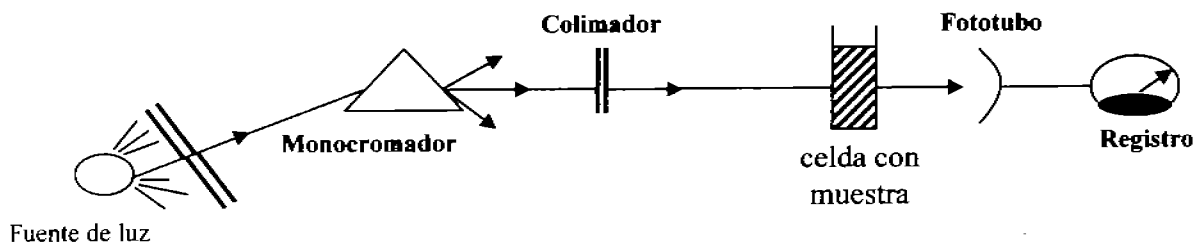
U.V. lejano	—————>	de 150 a 250 nm
U.V. medio	—————>	de 250 a 350 nm.
Luz visible	—————>	de 350 a 700 nm

Cuando la luz visible o la luz ultravioleta incide sobre un material, esta onda tiene asociado un campo magnético, que provoca la creación de dipolos transitorios. Si se aumenta la frecuencia de onda se aumenta la formación de dipolos en la muestra, hasta llegar a un valor límite a partir del cual se genera una transición electrónica. Lo que ocurre es que se produce absorción de esta radiación electromagnética por la muestra.

La fracción de la luz incidente absorbida por una solución a una longitud de onda determinada está relacionada con el espesor de la capa absorbente (denominado paso óptico o densidad óptica) y con la concentración de la especie absorbente. Estas dos relaciones están combinadas en la ley de Lambert-Beer.

Espectrofotómetro.

Los métodos fotométricos de análisis utilizan los efectos de la interacción de las radiaciones electromagnéticas con las moléculas. Los aparatos que miden la absorción de la radiación electromagnética se denominan "espectrofotómetros" y pueden representarse de forma sencilla mediante el siguiente esquema:



Está compuesto por:

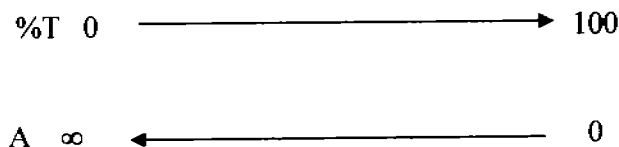
- Una lámpara que proporciona una mezcla de longitudes de onda (lámpara de deuterio para luz U.V. y lámpara de wolframio para el visible).
- Monocromador: separa la luz en distintos componentes con su longitud de onda característica.
- Colimador: selecciona el paso de una única radiación con una única longitud de onda. Es básicamente una "rendija", de ajuste variable cuyo tamaño tiene un límite: $l \pm Dl$, siendo mas grande o mas pequeña dependiendo de que el aparato sea menos o mas sensible. El valor mínimo posible de Dl es de $0,2\text{nm}$.

- Prisma: donde se coloca la muestra. Los prismas tienen dos caras opacas y dos caras transparentes. En la zona del visible estas cubetas son de plástico, mientras que para el U.V. se utilizan de cuarzo para evitar ruido de fondo.
- Fotomultiplicador: transforma la radiación emergente en una señal eléctrica, que va a ser el valor de A de la muestra.

La utilización de la luz monocromática o de un intervalo pequeño de longitudes de onda es importante, ya que la ley de Lambert-Beer solo se cumple en estas condiciones.

La luz que sale del colimador se hace pasar por la solución y luego incide sobre el fototubo donde es detectada. La señal se envía a un registrador que puede ser la escala de un galvanómetro calibrado o un registro gráfico.

En algunos espectrofotómetros este registro consta de dos escalas, donde una mide la absorbancia y la otra transmitancia. La escala de A va desde 0 a ∞ , la de T va desde 0% a 100%, en sentido contrario.



Antes de realizar una medida, el aparato debe calibrarse, para lo cual se introduce la celda que contiene el blanco (medio de disolución) y se lleva al cien por ciento de transmitancia (cero de absorbancia). Posteriormente, la se introduce la disolución con la muestra y se hace pasar de nuevo el haz de luz para darnos la lectura de la transmitancia.

Tipos de espectrofotómetros:

- De un solo haz de luz -> solo podemos poner una cubeta de medida, y por tanto hay que restar a todas los valores de absorbancia obtenidas de los distintos tubos de ensayo el valor del blanco.

- De doble haz -> después del colimador tiene un divisor de haz, que divide un haz de luz en dos de idéntica intensidad, pudiéndose medir así la muestra frente a una cubeta blanco.

TERMINOLOGIA UTILIZADA EN ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION.

Término y símbolo	Definición.
Potencia radiante, P, Po	Energía de la radiación en ergs incide en el detector, por cm ² de superficie y por segundo.
Absorción, A	$\log P_0/P$
Transmitancia, T	P_0/P
Trayectoria b de la radiación, en cm.	-
Absortividad molar, ϵ	$A/(bc)$

La absorción de las radiaciones ultravioleta, visibles e infrarrojas, depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia.

Como las moléculas se encuentran disueltas en el disolvente antes de realizar la lectura, es probable que exista un porcentaje de error al absorber la luz del propio disolvente. Por lo que para estar seguro que una medida espectrofotométrica sólo está midiendo la absorción de luz por el soluto, es necesario realizar ajustes en el espectrofotómetro, es decir calibrar, con el disolvente puro. Esto se realiza al tomar una muestra del disolvente únicamente en la celda de cuarzo y ajustar la escala del galvanómetro de tal forma que se lea 100% de transmitancia ó 0.0 de absorbancia. Luego,

se extrae la celda de cuarzo del espectrofotómetro y se introduce la celda que contiene la muestra en solución, se hace pasar el haz de luz y cualquier medida diferente de 100% ó 0.0 de absorbancia se considera la verdadera medida de absorción de luz de la muestra.

Transmitancia.

La transmitancia T, se define como la relación de intensidades (o el poder de radiación) de la radiación no absorbida P_0 (con respecto a la muestra testigo), P, y de la radiación incidente; de esta forma:

$$T = \frac{P}{P_0}$$

que generalmente se expresa como porcentaje.^{2,3} (%T)

Absorbancia.

La absorbancia A, es el logaritmo decimal de la recíproca de la transmitancia:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log \frac{P}{P_0}$$

La absorbancia de una disolución aumenta a medida que aumenta la atenuación del haz⁵ y es proporcional a la concentración de la muestra.

La relación que existe entre la absorbancia y el por ciento de la transmitancia es:

$$A = 2 - \log T$$

Absortividad y Absortividad molar.

La absorbancia es directamente proporcional a la trayectoria de la radiación a través de la solución y a la concentración de la especie que produce la absorción. Es decir,

$$A = a \cdot b \cdot c^{(5)}$$

a : es una constante de proporcionalidad, propiedad de la sustancia que se denomina absortividad y se expresa en $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$.^{2,3}

b : es la longitud de la trayectoria que la luz atraviesa por la muestra y se expresa en cm.²

c : es la concentración del cromóforo, se expresa en gramos por unidad de volumen.²

Cuando se expresa la concentración c en moles por litro y longitud de la trayectoria a través de la celda en centímetros, la constante a ó de absortividad tendrá las unidades de $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ y se denominará coeficiente de absortividad molar y se representa con el símbolo ϵ .

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Esta es la ecuación que representa la ley de Beer, y su representación gráfica dl% de T en función de la longitud de onda o de la concentración conocida como gráfica de calibración es la siguiente:

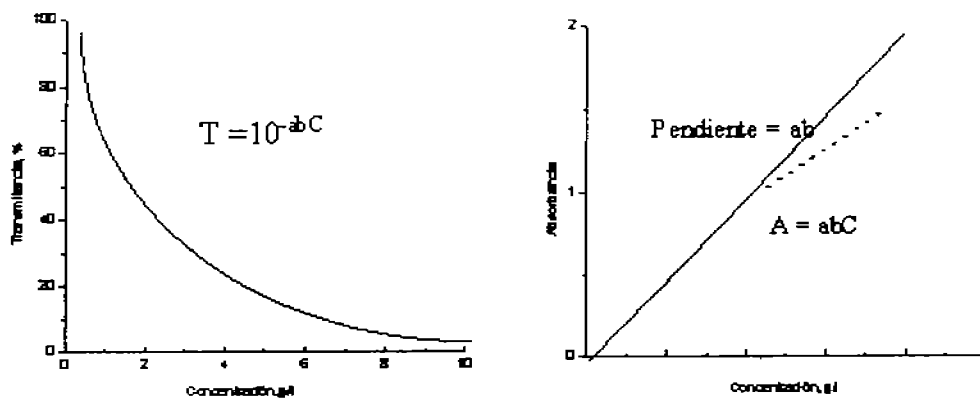
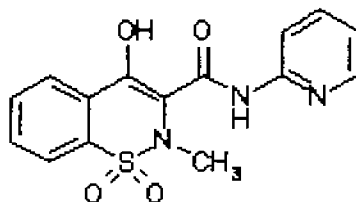


Fig. 6 Graficas de la representación de la transmitancia y la absorbancia con respecto a la concentración de un analito.

MONOGRAFÍA DEL PIROXICAM.



Es una carboxiamida -N- heterocíclica de 1,2-benzotiazida-1,1-dióxido.

NOMBRES QUÍMICOS.

- 3,4-dihidro-2-metil-4-oxo-N-2-piridil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dioxido.
- 1,1-dioxi-4-hidroxi-2-metil-2H-1,2-benzotiazin -1-(N-(2-piridil) carboxilamida)).
- 4-hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dioxido.

NOMBRES COMERCIALES.

Artinor®, Artragil®, Brexinil®, Brucam®, Cycladol®, Doblextan®, Facicam®, Feldene®, Feldene, Flas®, Improntal®, Osteral®, Oxicanol®, Piroxicam Phanto Furna®, Piroxicam, Pharmagenus®, Piroxicam Ratiopharm®, Pirox®, Piroxan®, Salcacam®, Salvacam®, Sasulen®, Vitaxicam®.

FORMULA CONDENSADA.



PESO MOLECULAR.

331.36 g/mol

COMPOSICIÓN.

C=54.37% H=3.95% N=12.68% O=19.31% S=9.68%

USO TERAPEUTICO.

Antinflamatorio, antipirético y analgésico no esteroideo con tiempo de vida media prolongado.

TEMPERATURA DE FUSION.

196 – 198 °C

DESCRIPCIÓN.

Sólido cristalino, inoloro, de color ligeramente amarillo, de sabor amargo.

SOLUBILIDAD.

Poco soluble en agua y en ácidos diluidos, mayormente soluble en solventes orgánicos. Se disuelve ligeramente en alcoholes y en soluciones acuosas alcalinas.

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.

Por ser un ácido orgánico débil, se mantiene ionizado en medios ácidos (mucosa gástrica, orina, líquido sinovial y líquido extracelular de tejidos inflamados, por lo que su difusión a través de membranas biológicas se ve facilitada. Tiene un pka de 4.6; se comporta como anfótero, debido a que en su estructura presenta un protón 4-hidróxi débilmente ácido (pka de 5.1) y un nitrógeno piridinilo básico (pka de 1.8).

USOS.

El Piroxicam es un antiinflamatorio no esteroideo; el cual en la clasificación de este tipo de fármacos, entra en el tipo de los oxicanos; tiene acción farmacológica, así como efectos terapéuticos como antiinflamatorio, analgésico, antipirético y antiagregante plaquetario. Su utilidad mas frecuente es para aliviar signos y síntomas de artrosis y artritis reumatoide aguda, así como para mitigar la algesia originada por procedimientos quirúrgicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Preservar el contenedor perfectamente cerrado, en un lugar libre de humedad, y alejado de la luz.

ACCION TERAPEUTICA.

El piroxicam, actúa en el organismo inhibiendo reversiblemente a las dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) y a la lipoxigenasa (LOX); por lo que bloquea la formación y síntesis de eicosanoides que son moléculas derivadas de los ácidos grasos, los cuales desarrollan una variedad de acciones en los diferentes tejidos. Estos eicosanoides se clasifican como prostaglandinas (PG), prostaciclina (PC), leucotrienos (LT), tromboxanos (TX,) y se originan a partir de los fosfolípidos de la membrana celular; son mediadores de la inflamación y su precursor es el ácido araquidónico.

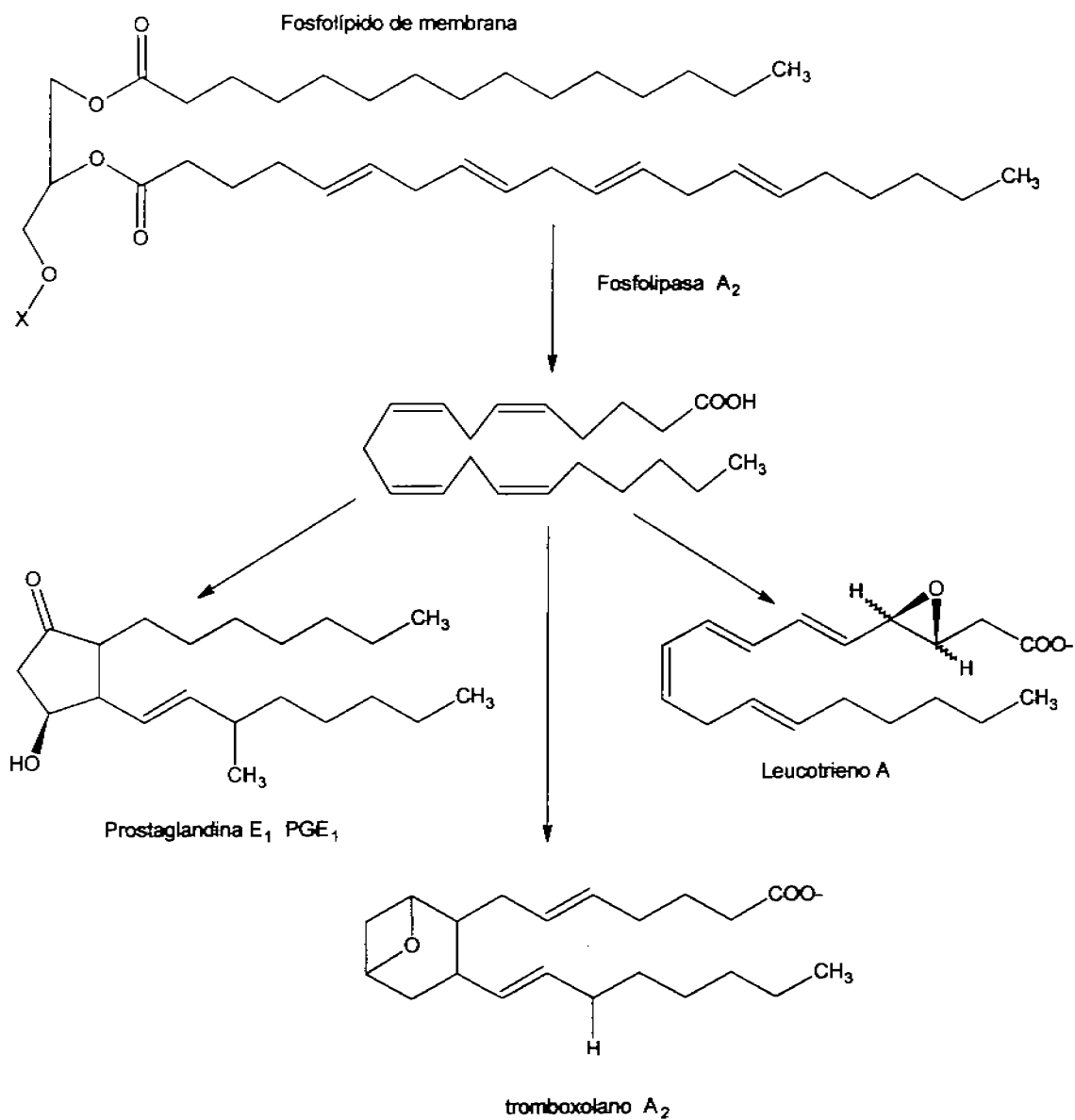


Fig. 7 El ácido araquidónico se libera de la fosfolípidos de la membrana celular, dando origen a eicosanoides presentes en un proceso inflamatorio.

La inflamación es una respuesta normal tras haber ocurrido daño tisular, el fenómeno se presenta al efectuarse una agresión al organismo, mismo que desencadena el proceso, que al modificar el flujo sanguíneo se encuentra mediado por la liberación de

sustancias vasoactivas a partir de los mastocitos; dicho fenómeno es responsable de los signos de calor y rubor.

En la inflamación participan diferentes tipos de células como lo son las endoteliales, monocito (macrófago), linfocitos T y B, célula cebada o mastocito, fibroblasto, histiocitos, y células mesenquimáticas indiferenciadas. También se ven involucradas fibras como colágenas, nerviosas y elásticas; al igual que sustancias fundamentales como lo son el colágeno, proteoglicanos fibronectina. El aparato circulatorio, mismo que participa también en este proceso por medio de los vasos sanguíneos: arteriola, capilares (arteriales y venosos), venas; el aparato linfático: vasos linfáticos y linfa; células sanguíneas: células, plaquetas, sistema del complemento, sistema de coagulación, sistema proteasas, sistema quininas; el sistema nervioso en la vasodilatación y vasoconstricción.

Al originarse el proceso inflamatorio, inicia la acción de la enzima fosfolipasa A_2 (FLA_2) la cual actúa hidrolizando el enlace éster de fosfolípidos de la membrana celular, generando ácido araquidónico. Sobre éste actúan dos enzimas degradándolo; la ciclooxigenasa (COX) y la lipoxigenasa (LOX) son derivados oxigenados (eicosanoides), responsables de la formación de agentes generadores de la inflamación y del dolor y que cuyos efectos caen sobre el sistema vascular, gastrointestinal, renal, hepático y respiratorio.

Las prostaglandinas producen estimulación de contracciones de tipo uterino y disminución de la presión sanguínea. A finales de 1970 se demostró su acción como causante de la algesia (dolor) y de los calambres musculares, característicos de la dismenorrea que experimentan muchas mujeres durante el periodo menstrual.

Estos compuestos, contienen un anillo de 5 átomos de carbono que originalmente formaba parte de la cadena del ácido araquidónico. Todas las prostaglandinas son derivados del ácido prostanóico en el cual se ciclisan los C_8 a C_{12} formando un ciclopentano.

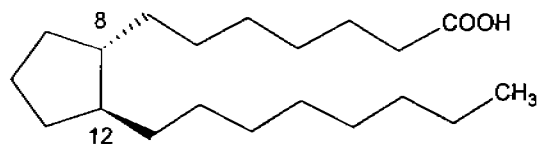


Fig. 8 Molécula del ácido prostanóico del cual se originan la prostaglandinas.

Las dos prostaglandinas tromboxano y prostaciclina, afectan a la capacidad de coagulación de la sangre. El tromboxano por ejemplo, promueve la agregación de las plaquetas (trombocitos), que son pequeños corpúsculos de la sangre que participan en la cicatrización de las heridas, mientras que la prostaciclina la inhibe.

Las prostaglandinas se clasificaron en dos grupos: PGE: mismas que son solubles en éteres y PGF: que son solubles en amortiguadores de fosfato; ambas contienen varios subtipos (PGE₁, PGE₂, etc). Estas moléculas, se producen en todas las células, excepto en los eritrocitos.

Las prostaglandinas, especialmente la PG₁₂ en sinergismo con las bradiquininas e histamina, tienen efectos proinflamatorios directos, ya que sensibilizan los nociceptores periféricos, fibras C, potenciando la acción algésica de la bradicinina, histamina y sustancia P que se liberan durante el proceso de inflamación; originando un estado de hiperalgesia frente a diversos estímulos que pueden ser de tipo mecánico, térmico y químicos intensificando el estímulo doloroso, también aumenta la sensibilidad neuronal de áreas medulares y supramedulares.

La cicloxigenasa (prostaglandin sintetasa) es un conjunto enzimático que transforma el ácido araquidónico en prostaglandina (PGG₂), la cual mediante una peroxidasa da origen a la prostaglandina PGH₂.

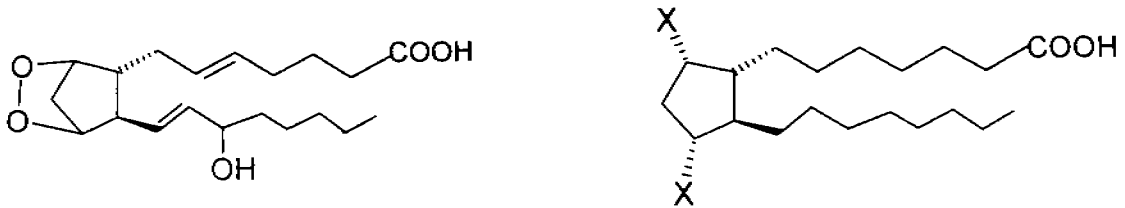
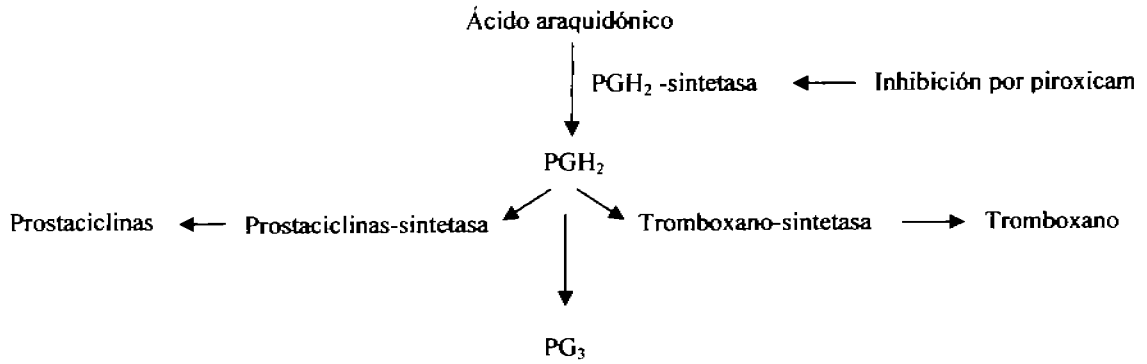


Fig. 9. El papel de PGH_2 en la síntesis de prostaciclina y tromboxanos.

Los anti-inflamatorios no esteroideos como lo es el Piroxicam, inhiben la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos inactivando la actividad de cicloxigenasa de la PGH_2 sintetasa.

Existen dos tipos o isoformas de la cicloxigenasas, los cuales dan origen a agentes generadores de la inflamación y actúan de diferentes maneras cada una en el organismo. En cuanto a la isoforma de la cicloxigenasa COX-1 se sabe que existe de manera natural en el organismo y que la mayoría de los AINES inhiben la actividad de esta enzima, misma que efectúa la síntesis de prostaglandinas involucradas en la homeostasis y en la regulación fisiológica; se expresa en la mayor parte de los tejidos (células endoteliales, de la mucosa gastrointestinal, músculo liso, riñón y plaquetas); es mediadora de reacciones fisiológicas; sus efectos gástricos se relacionan por la inhibición de COX-1. Es la responsable de las

funciones básicas que dependen de prostanoídes la que se encarga de la síntesis de prostaglandinas, la cual tiene por objetivo la citoprotección gástrica y renal.

Su inhibición provoca efectos colaterales, ocasionando un decremento en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina, y tromboxanos, se le asocian efectos perjudiciales.

En lo que concierne a la isoformación de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), esta se encuentra presente en el tejido lesionado; esta enzima tiene la ventaja de ser inducible y se expresa en respuesta a procesos inflamatorios, ya que es la encargada de producir prostanoídes en los sitios en donde existe inflamación. Se manifiesta de forma transitoria cuando se presenta un estímulo por parte de citocinas, factores de crecimiento y hormonas, promoviendo a mediadores de la inflamación; en condiciones normales (sin inflamación) es difícilmente detectable; es inducible experimentalmente mediante estímulos mitogénicos; esta no ocasiona reacciones adversas de coagulación o renales.

La acción antiinflamatoria del piroxicam, permite la disminución de la producción, liberación y acceso de sustancias que pueden activar las terminaciones sensitivas. Se basa en la inhibición periférica de la síntesis de la prostaglandina E₂ (PGE₂), este efecto es tardío, teniendo un periodo de latencia de por lo menos una semana. Como AINE, interfiere en la activación de neutrófilos, lo que afecta la quimiotaxis, migración y liberación de productos leucocitarios (enzimas lisosomales); de ahí deriva parte de su poder antiinflamatorio.

El efecto analgésico del piroxicam se efectúa mediante el bloqueo a nivel periférico y central, al inhibir a las prostaglandinas que son producidas en el momento en el que ocurre la lesión tisular; impiden la sensibilización de neuronas medulares y suprarrenales, inhibiendo de esta forma la algesia a nivel central, Las prostaglandinas sensibilizan los receptores del dolor, debido a la estimulación mecánica o de algún otro tipo, previendo el dolor que pudieran provocar, ya que estas involucran el dolor; su acción como analgésico no permite que se bloqueen las prostaglandinas, que ya fueron liberadas, por lo que estas persisten con el proceso de hiperalgesia hasta que finaliza su actividad.

La actividad antipirética del piroxicam se considera primordialmente central; dicho efecto se atribuye a las prostaglandinas las cuales disminuyen la activación de neuronas del hipotálamo anterior el que da marcha a los mecanismos de pérdida de calor vasodilatación y sudoración, que son originados por las respuesta a pirógenos endógenos, por lo que provoca una ligera disminución de la temperatura corporal.

FARMACODINAMIA.

Su mecanismo de acción, por estudios que se han realizado tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado que existe una interacción con varias etapas de la respuesta inmune e inflamatoria como es a través de la inhibición de diferentes procesos fisiológicos como de la agregación de neutrófilos; de la migración de polimorfonucleares y monocitos al área de inflamación; de la síntesis de prostanoïdes como las prostaglandinas, mediante la inhibición reversible de la cicloxigenasa; de la liberación de las enzimas lisosomales; de los leucocitos estimulados; de la generación del anión superóxido por el neutrófilo y a la reducción de la producción del factor reumatoide sistémico, así como del líquido sinovial en personas con artritis reumatoide.

En animales de laboratorio, inhibe el edema, eritema, la proliferación tisular, el dolor y la fiebre, siendo eficaz en cualquiera que fuere el tipo de etiología de la inflamación. En el ser humano, su efecto como antiinflamatorio se observa en afecciones reumáticas crónicas, artritis reumatoide (aminorando el dolor, la tumefacción, rigidez y la movilidad de las articulaciones) y artrosis.

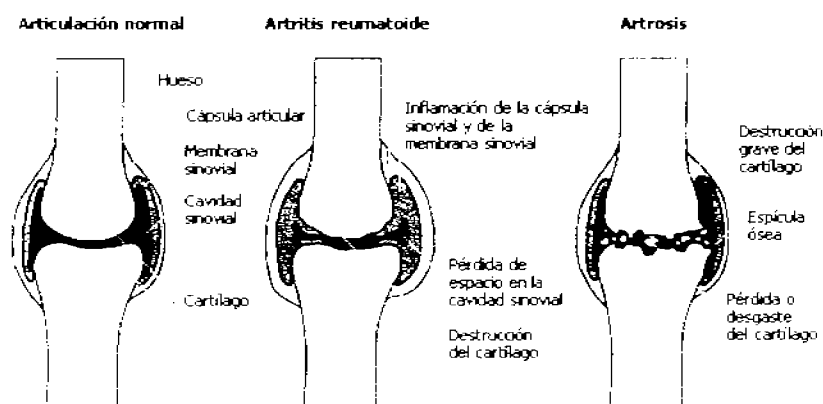


Fig. 10 Procesos degenerativos de las articulaciones.

FARMACOCINETICA.

Cuando el fármaco se administra por vía oral junto con la ingesta de alimentos, produce un retraso en la velocidad de absorción. Es un activo que se selecciona en la mayor parte de las ocasiones por tener un tiempo de vida media prolongada, que aunque tarda más en ejercer su efecto, tiene mayor tiempo de acción, permitiendo su administración unidosis (una dosis diaria), manteniendo concentraciones plasmáticas estables durante todo el día. La vida media plasmática en un adulto es de aproximadamente 50 horas; siendo la concentración plasmática proporcional a la dosis, que pueden ser de 10 mg o 20 mg alcanzando su nivel máximo de 3 a 5 horas después de su administración. La dosis de 20 mg permite una concentración plasmática de 1.5 a 2.0 mcg/mL, y posterior a la ingestión repetida de la misma cantidad por día se estabilizan entre los 3 y 8 mcg/mL. Si se administran 40 mg diarios durante 2 días, seguidos de una dosis de 20 mg diarios, permite que al administrarse por segunda ocasión exista un elevado nivel de aproximadamente el 76%, tanto las áreas bajo la curva como la vida media, y los niveles de estado estacionario se alcanzan de los 7 a los 12 días. Su vida media se atribuye a su afinidad a proteínas plasmáticas del 99% y se difunde al líquido sinovial. Tiene un volumen de distribución aparente de 0.12-0.14 L/Kg. La vía intramuscular alcanza niveles plasmáticos más elevados que la vía oral. Su acción antirreumática se efectúa hasta los 14

días, en cambio la acción para el dolor gotoso a las 14 horas y su tiempo de efecto máximo 12 semanas y 5 días como antirreumático y antigotoso respectivamente.

Se metaboliza de manera amplia, siendo la más importante mediante la vía metabólica de la hidroxilación del anillo piridilo de la cadena lateral de la estructura química; posteriormente se efectúa una conjugación con el ácido glucurónico en el hígado y la eliminación se realiza por la bilis al intestino en donde se hidroliza y se excreta mediante la orina; dejando sin metabolizar menos del 5% de la dosis que se ingiere.

INTERACCIÓN CON VALORES FISIOLÓGICOS.

Provoca un descenso en la agregación plaquetaria por lo que se prolonga el tiempo de sangrado, dicho efecto puede persistir durante 2 semanas después de haber suspendido el tratamiento; se observa disminución en la prueba de hematocrito (Hto) y hemoglobina (Hb), siendo posible visualizar incrementos reversibles del nitrógeno ureico y de creatinina.

CONTRAINDICACIONES.

Su administración de manera prolongada origina malestar abdominal, el cual puede ser leve o moderado, existe la producción de gases, irritación gastrointestinal, hay reacciones alérgicas como urticaria o rash cutáneo; se presenta retención de líquidos; tinnitus; estomatitis ulcerosa; ulceración gingival; agranulocitosis, leucopenia, neutropenia; las cuales requieren atención médica por ser molestas.

TOXICIDAD GASTROINTESTINAL

Al haber disfunción de la mucosa gástrica, y al difundirse iones hidrógeno en dicha mucosa contribuyen a generar una patogénesis de la erosión y ulceración gástrica, trayendo como consecuencia trastornos gastrointestinales, como es el caso de la esofagitis, gastritis, ulcera péptica, perforación del intestino, hemorragias gastrointestinales, constricción esofágica, alteraciones de la permeabilidad del intestino; mismas que se

pueden ver favorecidas por factores de predisposición como son la edad, antecedentes de úlcera péptica, duración del tratamiento y dosis.

TOXICIDAD HEPÁTICA.

Por lo general presenta alteraciones en cuanto al aumento leve o transitorio de las enzimas hepáticas o en forma de cuadros bien establecidos de hepatitis citolítica, colestásica o mixta, inclusive puede existir hepatitis crónica; sin embargo esta fármaco se considera a hepatotoxicidad. Aunque ocasionalmente pudiera existir aumentos leves y transitorios de las transaminasas séricas y de la fosfatasa alcalina.

TOXICIDAD RENAL.

Las prostaglandinas (PG) y las prostaciclina, son de gran importancia para mantener en buenas condiciones el flujo plasmático intrarrenal, el transporte a través de los túbulos y la tasa de filtración glomerular la cual puede llegar a producir insuficiencia renal aguda, la cual puede requerir diálisis y azotemia. Al verse inhibidas las prostaglandinas (PG), se altera la función renal, provocando daños como la nefritis intersticial con síndrome nefrótico; con proteinuria, hematuria y piuria., hipercalcemia; también existe la presencia de retención de iones como el sodio y potasio, así como de agua; efecto que puede provocar hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca y edema de pulmón, estos efectos pueden verse favorecidos en pacientes hipovolémicos. Los factores de predisposición son la insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis, insuficiencia renal.

TOXICIDAD EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

En lo que se refiere al sistema nervioso central, se producen trastornos como cefaleas y depresión; y a nivel encefálico los pacientes de mayor riesgo suelen ser aquellos que utilizan β -bloqueadores. Pero en general los padecimientos que se presentan son dolores de cabeza, ruidos o zumbidos en los oídos, confusión, delirio, desorientación, alucinaciones, y en ocasiones hasta trastornos en la personalidad.

TOXICIDAD HEMATOLÓGICA.

Aunque su incidencia es muy baja, al haber una disminución de la síntesis de TXA₂, provoca incremento de la agregación plaquetaria, teniendo como consecuencia un aumento en el tiempo de hemorragia. Dado que las plaquetas carecen de núcleo, el efecto antiagregante continua de 3-5 días, hasta haber una síntesis de nuevas plaquetas; como consecuencia, se presentan hemorragias, al existir interferencia con la función antiagregante de las plaquetas, neutropenia, agranulocitosis, anemia aplásica, trombocitopenia y anemia hemolítica.

TOXICIDAD EN EL EMBARAZO Y LACTANCIA.

Debe evitarse durante la segunda mitad del embarazo, ya que puede tener efectos perjudiciales en el sistema vascular del feto (pudiendo presentar un cierre prematuro en el conducto arterioso); puede inhibir las contracciones uterinas, por lo que el trabajo de parto suele ser prolongado. En ocasiones se observa preeclampsia por la retención de líquidos, y aumento en la presión arterial; y al haber incremento en la agregación plaquetaria, existe la gran posibilidad que haber una hemorragia al momento del parto.

Durante la lactancia, el Piroxicam se excreta por la leche materna, alcanzando una concentración del 1%. En ocasiones, el fármaco puede producir una inhibición de la lactancia dependiendo de la dosis.

INTERACCION MEDICAMENTOSA.

Algunos de los fármacos que se sabe interaccionan con el piroxicam son los anticoagulantes orales como ecenocumarol, warfarina; los β-bloqueadores como es el caso del propanolol, y el metoprolol; la cimetidina, los diuréticos como la furosemida y la espironolactona; el metotrexato; las sales de litio; antidiabéticos orales entre los que se encuentran la glipizida y la gliclazida, la morfina y el ritonavir.

No se debe de administrar simultáneamente con otra AINE, ya que existe la posibilidad de aumentar las reacciones adversas y no existe sinergismo entre ellas.

DOSIFICACIÓN Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.

Dosis habitual en adultos es de 10 a 20 mg diarios utilizando como vía de administración la oral, en ocasiones se puede requerir de hasta 30 mg por día en unidosis o bien pueden ser divididas: en casos de afecciones agudas, el tratamiento se inicia con 40 mg en unidosis o dividida en el transcurso de 4 a 6 días.

Vía de administración: Oral Presentación

Tabletas..... 20 mg y 10 mg
Capsulas.....20 mg y 10 mg
Suspensión.....Frasco de 90 mL conteniendo 7.5 mg por cada 5 mL.

Vía de administración: Intramuscular

Ampolletas.....40 mg/2mL y 20 mg/mL

Vía de administración: Rectal

Supositorios.....20 mg

Vías de administración: Cutánea

Tubo.....60 mg de gel al 0.5%

VALIDACIÓN.

El validar un método analítico es indispensable para el desarrollo de una técnica de análisis de control de calidad de una forma farmacéutica, y es en el transcurso de diversas pruebas y del análisis, en donde un químico se percata si el estudio, que se está evaluando de manera sistemática, cumple con los propósitos para los que fue desarrollado.²

La validación es un proceso por el cual mediante estudios experimentales permite demostrar la confiabilidad de aquello que se está midiendo. Cuando existe el interés de medir un componente en una muestra, se requiere de una metodología de medición, misma que debe cumplir con la capacidad de ser confiable.

La utilidad de un método analítico tiene por objetivo describir la secuencia de actividades, así como el material del que se requiere para el estudio que se está efectuando; y los parámetros que se deben cumplir para la realización del análisis de un componente en específico contenido en una muestra; es decir, un analito el cual debe tener ciertas características para considerarse confiable en la utilización de una formulación. El validar un método analítico es un proceso que manifiesta la capacidad del método y debe satisfacer los requisitos para una aplicación analítica deseada, o bien para cumplir con el propósito para el que se estableció.

DEFINICIONES.

Especificidad.- Demuestra la capacidad que tiene un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y la no interferencia de otro u otros componentes de la formulación.

Exactitud.- Es el nivel de concordancia entre un valor que es obtenido del método analítico que se está realizando y el valor de referencia.

Estabilidad analítica.- Es la propiedad que tiene una muestra, la cual fue preparada para ser cuantificada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de haber sido almacenada por un periodo de tiempo determinado y en condiciones específicas.

Linealidad.- Es la habilidad para asegurar que los resultados que fueron obtenidos son proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo previamente determinado.

Precisión.- Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se ha aplicado en repetidas ocasiones y en diferentes porciones de una muestra homogénea del producto.

Repetibilidad.- Indica la precisión del método analítico, y expresa la concordancia que se obtiene entre las determinaciones independientes que realiza un solo analista, utilizando el mismo método y los mismos instrumentos.

Intervalo.- Son una serie de concentraciones que están incluidas entre un valor de concentración superior e inferior del analito, para las cuales se ha demostrado que el método analítico que está siendo utilizado es preciso, exacto y lineal.

Analito.- Es un componente específico contenido en una muestra, la cual va a ser medida por un analista.

Muestra.- Es la porción del material que se va a evaluar.

Placebo analítico.- Parte de la muestra contiene todos los componentes de una muestra, excepto el analito de estudio, principio activo.

SÍMBOLOS.

b_1	Pendiente.
b_0	Ordenada al origen.
CV	Coficiente de variación o desviación estándar relativa.
$CV_{y/x}$	Coficiente de variación de regresión.
$IC(\beta_1)$	Intervalo de confianza para la pendiente poblacional.
$IC(\beta_0)$	Intervalo de confianza para la ordenada al origen poblacional.
$IC(\mu)$	Intervalo de confianza para la media poblacional.
r^2	Coficiente de determinación.
S_{b_0}	Desviación estándar de la ordenada al origen.
S_{b_1}	Desviación estándar de la pendiente.
$S_{y/x}$	Desviación estándar de regresión.
$t_{0,975,gl}$	Valor de la distribución t de Student asociado a una confianza del 95% y a grados de libertad (gl) establecidos.
\bar{x}	Media aritmética de x.
\bar{y}	Media aritmética de y.

DETERMINACIONES, METODOLOGÍA Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.

Especificidad.

Metodología.- Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer la posibles sustancias que interfieran, 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 métodos de identificación: Se deben seleccionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base en la estructura molecular del analito, precursores, sustancias relacionadas, etc.

Criterio de aceptación: La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito.

Precisión del sistema.

Metodología: El analista debe preparar por lo menos un sextuplicado de disoluciones a la concentración del analito que represente el 100% de la muestra procesada para su medición; pueden ser preparadas por dilución o por pesadas independientes. Se mide la respuesta analítica bajo las mismas condiciones.

Calcular: S y CV de la respuesta analítica.

Criterio de aceptación: $CV \leq 1.5\%$ para métodos fisico-químicos.

Linealidad del sistema.

Metodología.- El analista debe preparar por lo menos por triplicado tres niveles de concentración, intervalo, de la disolución de referencia ya sea por dilución a partir de la misma disolución concentrada o por pesadas independientes, cuando no sea posible prepararlas por dilución. La concentración central debe ser igual a la que se prepara la disolución de referencia en el método, o en ciertos casos, la concentración que represente el 100% en la muestra procesada para su medición. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, reportar la relación concentración contra respuesta analítica. Calcular el valor de la pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente ($IC(\beta_1)$).

Criterio de aceptación.- $r^2 \geq 0.98$.

$IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.

Es conveniente trazar la gráfica de la concentración(x) contra la respuesta analítica (y), e incluir en ella la ecuación, la línea de ajuste y el coeficiente de determinación.

Exactitud y repetibilidad del método.

Metodología.-El analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por sextuplicado, adicionarle la cantidad de analito que corresponda al 100% de éste en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista y bajo las mismas condiciones. Calcular el promedio aritmético, \bar{Y} la desviación estándar S, el coeficiente de variación CV y el intervalo de confianza para la media poblacional $IC(\mu)$ del porcentaje de recobro.

Criterio de aceptación.- El IC(μ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo del 97%-103% para métodos espectrofotométricos.

El CV del porcentaje de recobro debe no ser mayor del 3% para Métodos espectrofotométricos.

Linealidad del método.

Metodología.- El analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito que corresponda al 100% de éste en la muestra. Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad de analito (intervalo) y preparar el placebo adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de placebo analítico en los tres niveles. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista y bajo las mismas condiciones.

Criterio de aceptación.-

$$r^2 \geq 0.98.$$

El IC (β_1) debe incluir la unidad.

El IC (β_0) debe incluir el cero.

Precisión del método.

Metodología.- Analizar por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100% o una muestra homogénea cuyo contenido esté incluido en el intervalo lineal de concentración de linealidad del método, en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y/o equipos.

Calcular la media aritmética \bar{x} , desviación estándar S y el coeficiente de variación, empleando todos los resultados obtenidos.

Criterio de aceptación.- $CV \leq 3\%$ para métodos espectrofotométricos.

Estabilidad analítica de la muestra.

Metodología.- Para determinar la estabilidad analítica para muestras independientes, a partir de una muestra homogénea, el analista debe analizarse por triplicado. Simultáneamente y de la misma muestra procesar el número de muestras necesarias para cada condición de almacenaje hasta la etapa preestablecida (preparaciones), al menos por triplicado. Proseguir el análisis de cada una de las preparaciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una disolución de referencia. Calcular la media aritmética del análisis inicial (\bar{y}_0) y de cada condición de almacenaje (\bar{y}_1). Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial ($|d_i|$).

Criterio de aceptación.- $|d_i| \leq 3\%$ para métodos espectrofotométricos.

CAPITULO III

DESARROLLO

EXPERIMENTAL

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se realizó una modificación al método original que se empleó, descrito en el artículo "Quantitative determination of piroxicam in a new formulation (piroxicam-cyclodextrin) by derivative UV spectrophotometric method and HPLC", publicado por la revista Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, en el que se utiliza como medio de disolución reguladora de fosfatos de pH 7.8 y concentración analítica 0.1 M.

Dicha modificación se efectuó debido a que se pretendía observar si al variar el medio de disolución se podría obtener una señal analítica en el espectrofotómetro de ultravioleta-visible producida por el fármaco (piroxicam) realizando un "barrido" del rango de longitud de onda de los 220 a los 400 nm del principio activo, de los placebos y del producto terminado para visualizar los máximos de absorción de éstos disueltos en etanol únicamente, y así partiendo de la información obtenida experimentalmente determinar cuales sería las longitudes adecuadas para observar el comportamiento de los componentes de la formulación sometándolo a parámetros de validación como especificidad, linealidad del sistema y del método, precisión del sistema y del método, exactitud, repetibilidad, y estabilidad que nos permitan la aceptación del método que se está utilizando, si es que estos datos entran en los límites de aceptación.

La formulación de la tableta contiene:

Piroxicam.....	20 g
Almidón de maíz.....	150 g
Ludipres.....	50 g
Colidon CL.....	8 g
Poetilenglicol 6000.....	10 g
Aerosil 200.....	1-2 g

Propiedades:

Peso.....	238 mg
Diámetro.....	8mm
Forma.....	biplanar
Dureza.....	66N
Friabilidad.....	0.1%

Reactivos, material y equipo.

- -Alcohol etílico Q.P.
Droguería cosmopolita, S.A. de C.V.
Ref. 1043/39/100305
Lote. 41-60-25
- Piroxicam, Productos Medix, S.A. de C.V.
- Polietilenglicol 600, Productos Medix, S.A. de C.V.
- almidón de maíz, Productos Medix, S.A. de C.V.
- Aerosil 200, (dióxido de silicio).
- Ludipres (celulosa macrocristalina PH 102).
- Colidon CL (polividona k-30).
- Espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer 139.
- Balanza analítica.
- Micropipeta.
- Matraces volumétricos de 10mL.
- Matraces volumétricos de 25 mL
- Vasos de precipitados.

- Nave para pesar reactivos.
- Pipetas Pasteur.
- Celdas de cuarzo.
- Mortero.
- Espátula.

Preparación de disoluciones y evaluación de parámetros.

Para determinar la especificidad, se requirió de un barrido en la zona del ultravioleta, desde 420 a 350 nm, utilizando celdas de cuarzo de un cm de paso óptico, observando las absorbencias de placebo, placebo más principio activo y activo únicamente. Del principio activo se pesó aproximadamente 0.02 g, del principio activo más el placebo se peso 0.24 g y del puro placebo se pesaron 0.22 g. El placebo se preparó según el contenido de cada componente que se indica en la formulación.

Para elaborar una disolución de referencia, se transfirieron aproximadamente 5 mg de principio activo, piroxicam, los cuales se colocaron en un matraz volumétrico de 25 mL y se llevó al aforo con etanol, obteniendo una concentración de 200 µg/mL

$$5 \text{ mg} * \frac{1}{25 \text{ mL}} * \frac{1000 \text{ } \mu\text{g}}{\text{mg}} = 200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

En la guía de validación, se menciona que se requiere de preparar disoluciones que deriven de una de referencia que represente el 100% de la muestra. por lo que se decidió que una concentración de 10 µg/mL seria la concentración de la disolución de referencia. Para determinar las alícuotas que habrían que determinarse para tener tanto ésta concentración como los otros 4 niveles de concentración que se requieren para las determinaciones analíticas, teniendo como apoyo la formula $V_{\text{referencia}} * C_{\text{referencia}} = V_{\text{estándar}} * C_{\text{estándar}}$, se puede obtener los volúmenes que representen el 60, 80, 120 y 140% equivalentes a 6, 8, 12 y 14 µg/mL.

Si el volumen de la disolución de las diferentes concentraciones es de 10 mL, se parte de la disolución de referencia que tiene 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de concentración y que se esta considerando que 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ representan el 100 %. Por lo que:

$$\begin{aligned}V_{\text{referencia}} &=? \\C_{\text{referencia}} &=200 \mu\text{g}/\text{mL} \\V_{\text{estandar}} &=10\text{ml} \\C_{\text{estandar}} &=10 \mu\text{g}/\text{mL}\end{aligned}$$

Despejando el volumen de referencia se tiene:

$$V_{\text{referencia}} = \frac{(V * C)_{\text{estandar}}}{C_{\text{referencia}}}$$

Para la concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se tiene:

$$V_{\text{referencia}} = \frac{10\text{mL} * 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}} = 0.5 \text{ mL}$$

Los 0.5 mL es el volumen de la alícuota que se tomo de la solución de referencia para tener una concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Para la concentración de 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se tiene:

$$V_{\text{referencia}} = \frac{10\text{mL} * 6 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}} = 0.3 \text{ mL}$$

Concentración que variará a 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 14 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Disolución problema para tabletas.

Pesar y pulverizar hasta polvo fino con mortero, 20 tabletas de 20 mg de piroxicam cada una. Pesar el equivalente a 5 mg del principio activo, transferirlos a un matraz volumétrico de 25 mL, se agito y homogenizó perfectamente y se llevo al aforo con etanol, obteniendo una concentración de aproximadamente 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

$$5 \text{ mg} * \frac{1}{25 \text{ mL}} * \frac{1000 \mu\text{g}}{\text{mg}} = 200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

A partir de esta concentración se van a tomar las alícuotas para la concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ que se quiere, por lo que:

$$V = \frac{10 \text{ mL} * 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}{200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}} = 0.5 \text{ mL}$$

Los 0.5 mL será el volumen que se tomará de cada uno de los productos comerciales a analizar.

Determinación de los máximos de longitudes de onda.

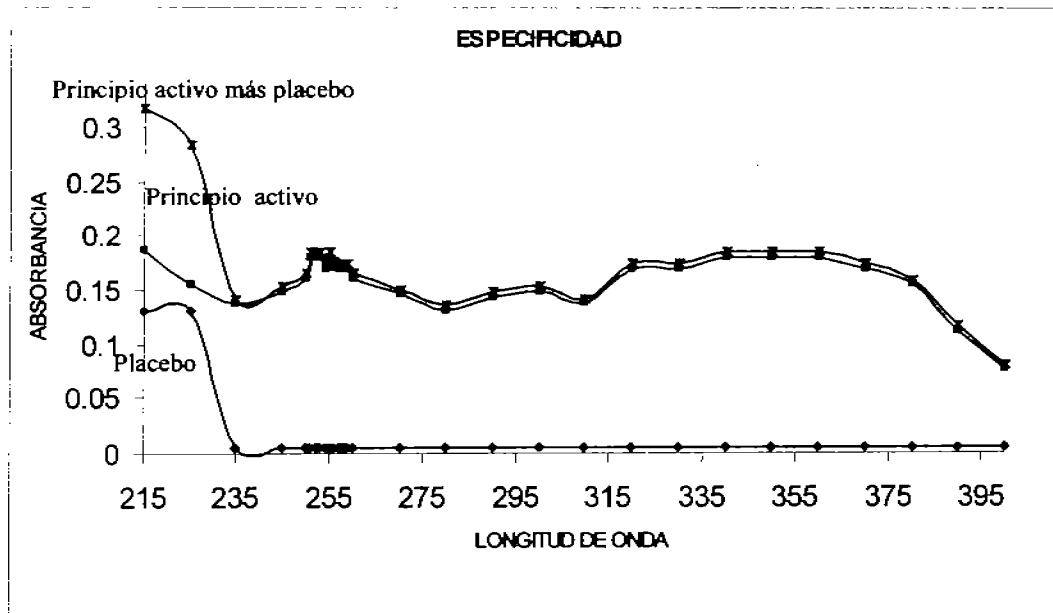
Se realizó un barrido en la zona del espectro desde los 215 a los 400 nm, para este trabajo de elaboraron disoluciones que contenían 0.02g de principio activo y se hizo una disolución hasta obtener una concentración de $2.0 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{mL}$, para el placebo se pesaron 0.22g y se realizo la disolución hasta obtener una concentración de $2.2 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{mL}$ y del placebo mas el principio activo se pesaron 0.24g para obtener una concentración de $2.4 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{mL}$.

CAPITULO IV

RESULTADOS

ESPECIFICIDAD.

Longitud de onda (nm)	Absorbencias		
	Principio activo	placebo	Principio activo mas placebo
215	0.1870	0.1300	0.3170
225	0.1550	0.1300	0.2850
235	0.1370	0.0044	0.1414
245	0.1490	0.0044	0.1534
250	0.1610	0.0044	0.1654
251	0.1800	0.0044	0.1844
252	0.1800	0.0044	0.1844
253	0.1800	0.0044	0.1844
254	0.1700	0.0044	0.1744
255	0.1800	0.0044	0.1844
256	0.1710	0.0044	0.1754
257	0.1700	0.0044	0.1744
258	0.1700	0.0044	0.1744
259	0.1700	0.0044	0.1744
260	0.1610	0.0044	0.1654
270	0.1460	0.0044	0.1504
280	0.1310	0.0044	0.1354
290	0.1430	0.0044	0.1474
300	0.1490	0.0044	0.1534
310	0.1370	0.0044	0.1414
320	0.1700	0.0044	0.1744
330	0.1700	0.0044	0.1744
340	0.1800	0.0044	0.1844
350	0.1800	0.0044	0.1844
360	0.1800	0.0044	0.1844
370	0.1700	0.0044	0.1744
380	0.1550	0.0044	0.1594
390	0.1120	0.0044	0.1164
400	0.0760	0.0044	0.0804



LINEALIDAD DEL SISTEMA.

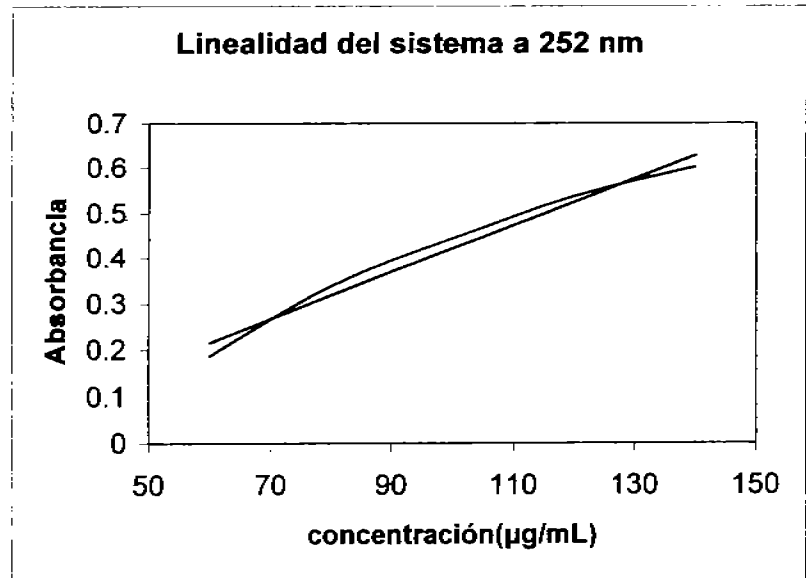
El analista debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (intervalo), de la disolución de referencia ya sea por dilución a partir de la misma disolución concentrada o por pesadas independientes, cuando no sea posible prepararlas por dilución. La concentración central debe ser igual a la que se prepara la disolución de referencia en el método, o en ciertos casos, la concentración que represente el 100% en la muestra procesada para su medición. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, reportar la relación concentración en función de la respuesta analítica. Calcular el valor de la pendiente b_1 , la ordenada en el origen b_0 , el coeficiente de determinación r^2 y el intervalo de confianza para la pendiente $IC(\beta_1)$.

Criterio de aceptación.- $r^2 \geq 0.98$.

$IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.

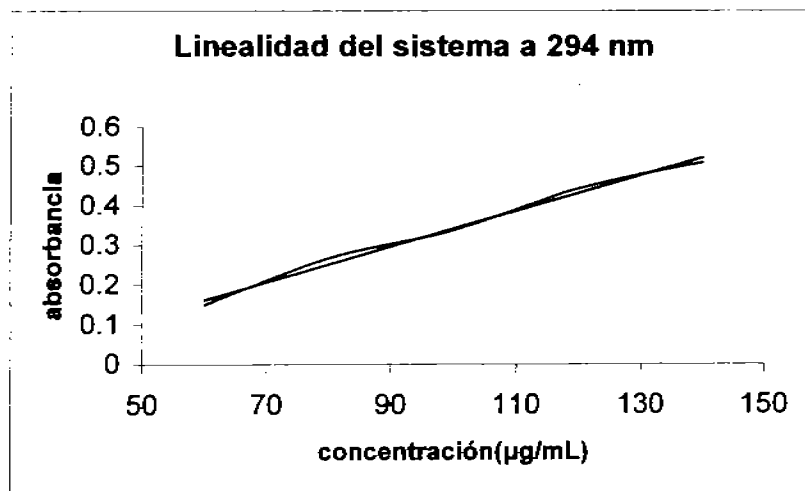
Día número 1.

252 nm		
concentración μg/mL	%	absorbancia
6	60	0,1871
8	80	0,3372
10	100	0,4437
12	120	0,5376
14	140	0,6021
b = -0.0937		
m = 0.0515		
r ² = 0.9886		



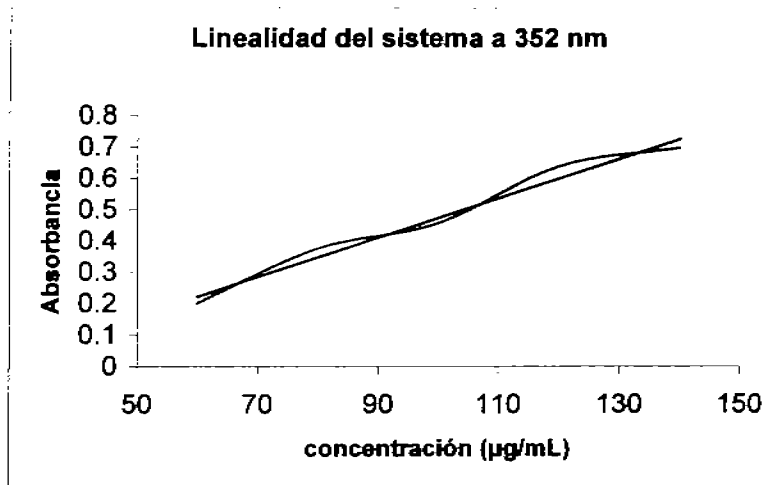
	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9886	≥0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β ₁), no debe incluir el cero.	0.0741-0.0320	No incluye el cero

294 nm		
concentración µg/mL	%	absorbancia
6	60	0,1487
8	80	0,2676
10	100	0,3372
12	120	0,4437
14	140	0,5086
b= -0.1068		
m = 0.0448		
$r^2 = 0.9953$		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9953	≥ 0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β_1), no debe incluir el cero.	0.0544-0.0352	No incluye el cero

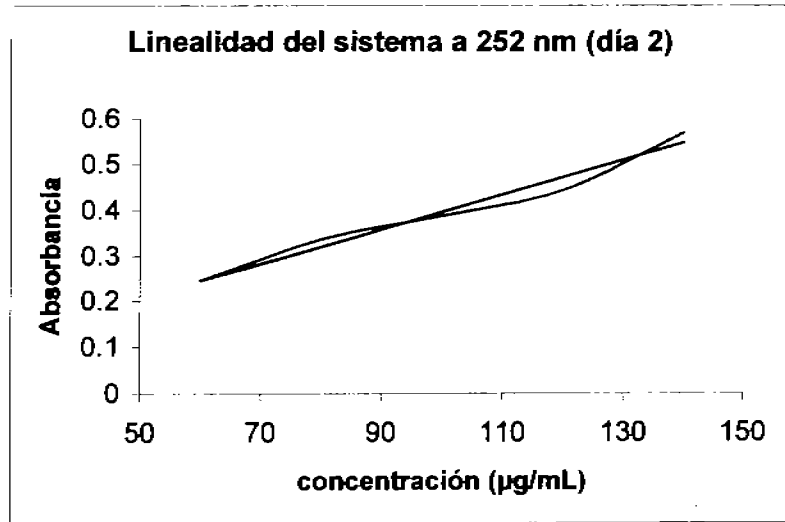
352 nm		
concentración µg/mL	%	absorbancia
6	60	0,2006
8	80	0,3768
10	100	0,4560
12	120	0,6383
14	140	0,6989
b = -0.1498		
m = 0.0629		
$r^2 = 0.9882$		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9882	≥ 0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β_1), no debe incluir el cero.	0.0741-0.0520	No incluye el cero

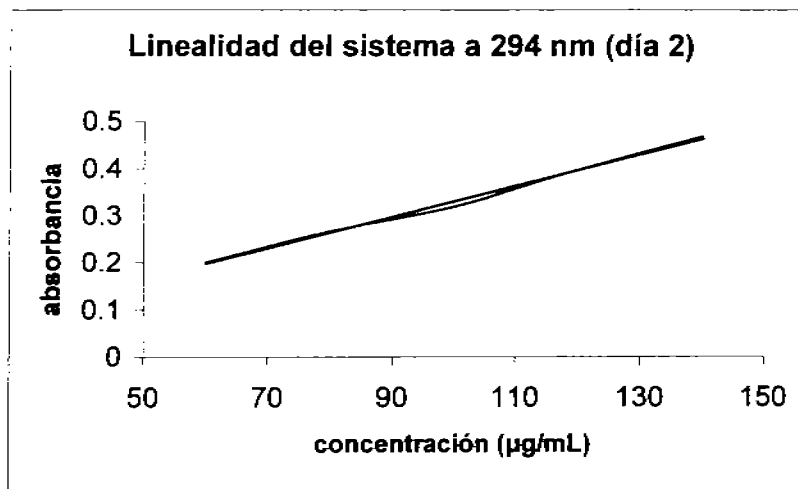
Día número 2.

252 nm		
concentración μg/mL	%	absorbancia
6	60	0,2441
8	80	0,3372
10	100	0,3872
12	120	0,4437
14	140	0,5686
b = -0.0184		
m = 0.0378		
r ² = 0.9863		



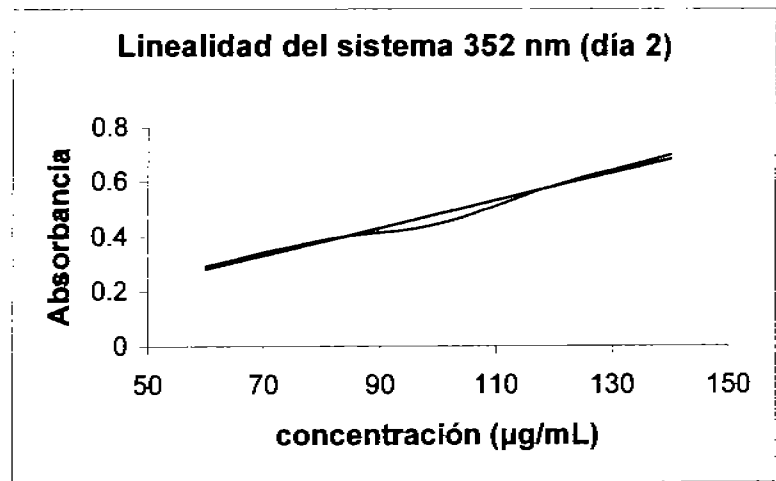
	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coeficiente de determinación (r ²)	0.9863	≥0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β ₁), no debe incluir el cero.	0.0474-0.0282	No incluye el cero

294 nm		
concentración µg/mL	%	absorbancia
6	60	0,2006
8	80	0,2676
10	100	0,3189
12	120	0,398
14	140	0,4685
$b = -2.38 \times 10^{-3}$		
$m = 0.0333$		
$r^2 = 0.9980$		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9980	≥ 0.98
Intervalo de confianza para la pendiente $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.	0.0385-0.0281	No incluye el cero

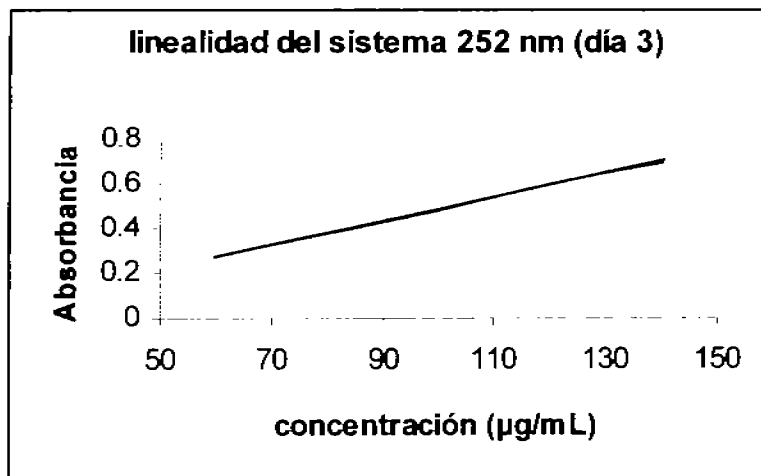
352 nm		
concentración μg/ml	%	absorbencia
6	60	0,2924
8	80	0,3872
10	100	0,446
12	120	0,585
14	140	0,6989
$b = 6.7 \times 10^{-3}$		
$m = 0.0484$		
$r^2 = 0.9933$		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9933	≥ 0.98
Intervalo de confianza para la pendiente $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.	0.0623-0.0345	No incluye el cero

Día número 3.

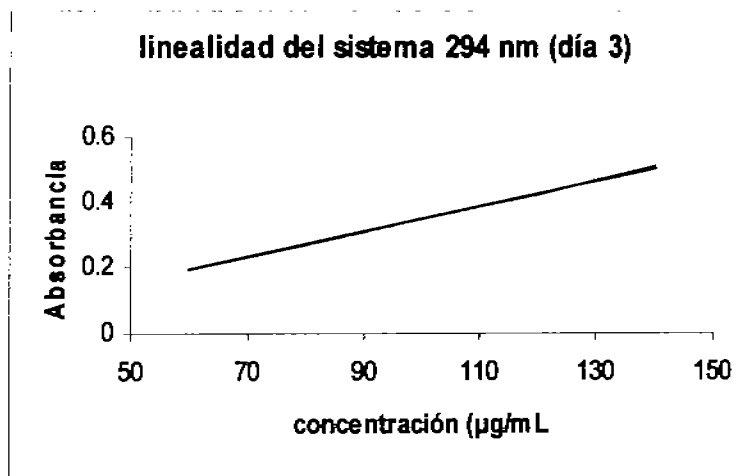
252 nm		
concentración µg/mL	%	absorbancia
6	60	0.2366
8	80	0.3188
10	100	0.398
12	120	0.523
14	140	0.6198
b = 0.0661		
m = 0.0485		
r ² = 0.9964		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9964	≥0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β ₁), no debe incluir el cero.	1.8705--1.7735*	No incluye el cero

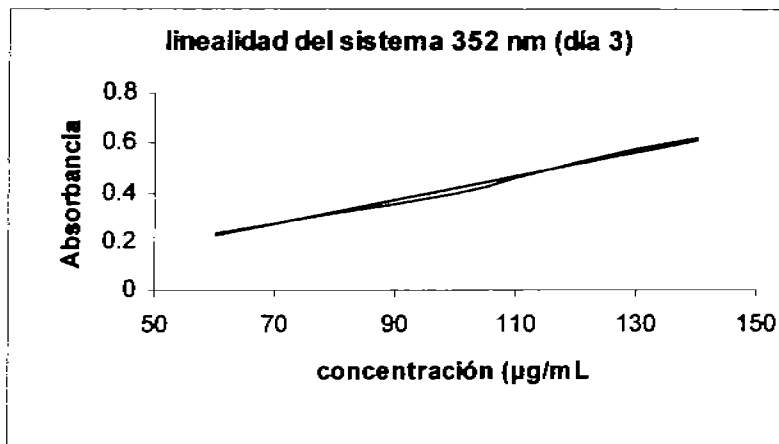
*Incluye el cero

294 nm		
concentración (µg/mL)	%	abs
6	60	0.1938
8	80	0.2676
10	100	0.3468
12	120	0.4202
14	140	0.5087
b=-0.0438		
m=0.0391		
r ² =0.9995		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9995	≥0.98
Intervalo de confianza para la pendiente IC(β ₁), no debe incluir el cero.	0.0456-0.0326	No incluye el cero

352 nm		
concentración (µg/mL)	%	abs
6	60	0.2757
8	80	0.3768
10	100	0.4815
12	120	0.6021
14	140	0.699
b=-0.0490		
m=0.0536		
$r^2=0.9995$		



	Valor experimental	Criterio de aceptación
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9995	≥ 0.98
Intervalo de confianza para la pendiente $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.	0.0576-0.0496	No incluye el cero

PRECISIÓN DEL SISTEMA.

El analista debe preparar por lo menos un sextuplicado de disoluciones a la concentración del analito que represente el 100% de la muestra procesada para su medición; pueden ser preparadas por disolución o por pesadas independientes. Se mide la respuesta analítica bajo las mismas condiciones.

Calcular, S y CV de la respuesta analítica.

Criterio de aceptación.- $CV \leq 1.5\%$ para métodos fisico-químicos.

Día número 1.

252 nm	
Número de determinación	Absorbancia(nm)
1	0.3665
2	0.3665
3	0.3565
4	0.3615
5	0.3665
6	0.3665

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	4.1833E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.1493%

294nm	
Número de determinación	Absorbancia(nm)
1	0.3280
2	0.3325
3	0.3325
4	0.3372
5	0.3372
6	0.3325

Valor obtenido

Desviación estándar (S)	3.4764E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.0430%

352 nm	
Número de determinación	Absorbancia(nm)
1	0.4949
2	0.4949
3	0.4881
4	0.5017
5	0.4949
6	0.4881

Valor obtenido

Desviación estándar (S)	5.1188E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.0367%

Día número 2.

252 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.3615
2	0.3665
3	0.3665
4	0.3665
5	0.3716
6	0.3615

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	3.7950E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.04%

294 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.2967
2	0.301
3	0.301
4	0.301
5	0.3054
6	0.2967

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	3.2680E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.09%

352 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.4437
2	0.4498
3	0.4498
4	0.456
5	0.4622
6	0.456

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	6.4741E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.43%

Día número 3.

252 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.3768
2	0.382
3	0.3768
4	0.382
5	0.3768
6	0.3768

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	2.6853E-3
Coeficiente de variación (C.V.)	0.7094%

294 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.3143
2	0.3188
3	0.3188
4	0.3143
5	0.3233
6	0.3188

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	3.3874E-3
Coeficiente de variación (C.V.)	1.0651%

352 nm	
Número de determinación	Absorbancia (nm)
1	0.4881
2	0.4948
3	0.4948
4	0.4881
5	0.5017
6	0.4948

	Valor obtenido
Desviación estándar (S)	5.1048E-3
Coefficiente de variación (C.V.)	1.0341%

LINEALIDAD DEL MÉTODO.

El analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito que corresponda al 100% de éste en la muestra. Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad de analito (intervalo) y preparar el placebo adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de placebo analítico en los tres niveles. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista y bajo las mismas condiciones.

Criterio de aceptación.-

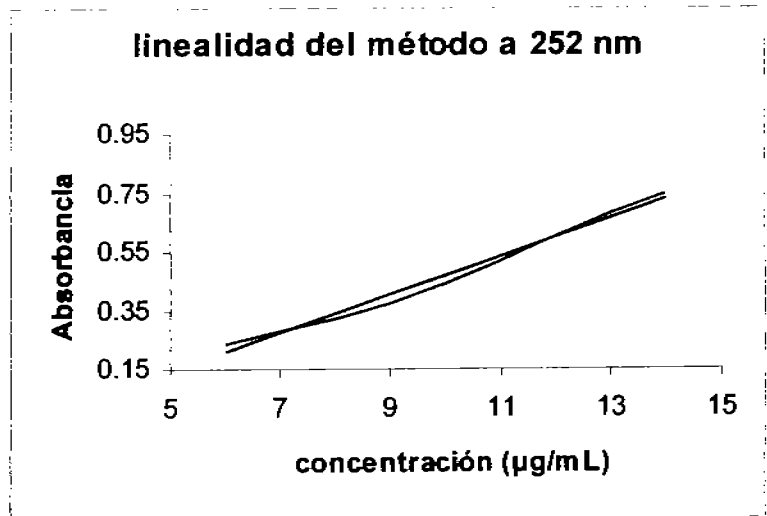
$$r^2 \geq 0.98.$$

El IC(β_1) debe incluir la unidad.

El IC(β_0) debe incluir el cero.

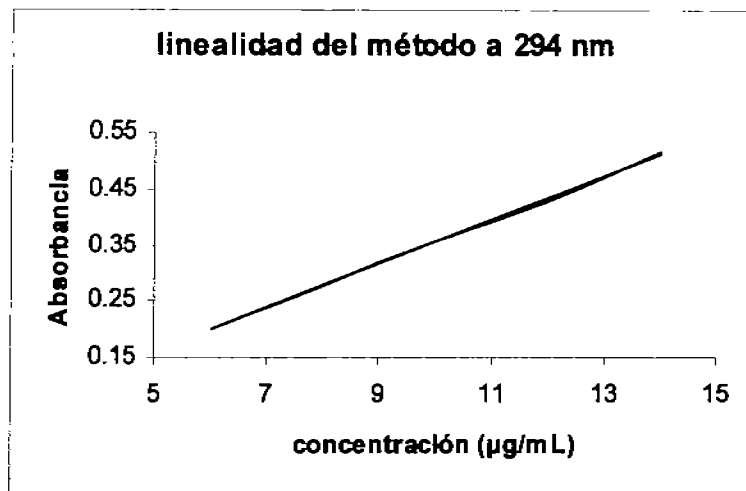
Día número 1.

252 nm	
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia (nm)
6	0.2366
8	0.3188
10	0.4377
12	0.6021
14	0.745
b= -0.1820	
m= 0.0650	
r ² = 0.9930	



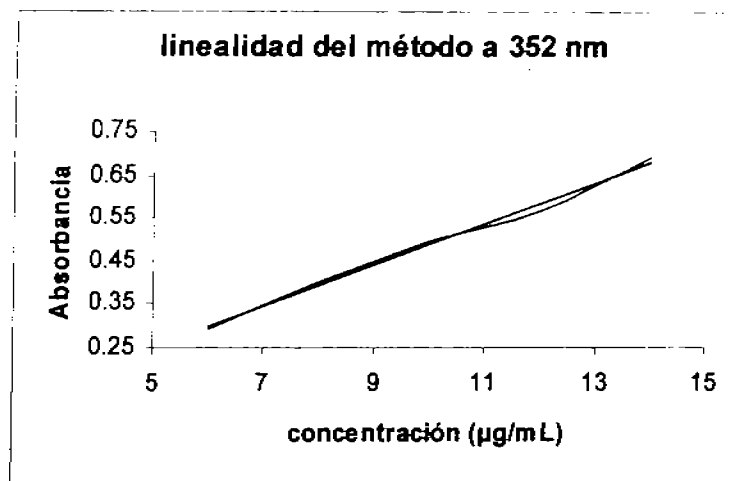
	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0650
Ordenada al origen(b)	-0.1820
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9930
Intervalo de confianza para la pendiente ($IC(\beta_1)$)	0.0780,0.0521
Intervalo de confianza de la ordenada al origen ($IC(\beta_0)$)	-0.0480,-0.3160
Coefficiente de variación de la regresión ($CV_{y/x}$)	5.4696%

294 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.2007
8	0.2757
10	0.3565
12	0.426
14	0.5157
b= -0.0352	
m= 0.0390	
r ² = 0.9994	



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0390
Ordenada al origen(b)	-0.0352
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9994
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β ₁))	0.0454,-6.401
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	0.0316,-0.1022
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	3.6056%

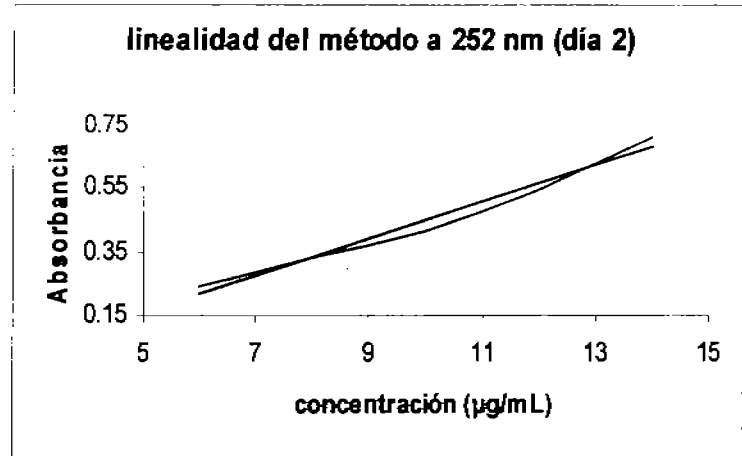
352 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.2924
8	0.398
10	0.4949
12	0.5686
14	0.6882
b= 7.32E-3	
m= 0.0481	
r ² = 0.9978	



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0481
Ordenada al origen(b)	7.32E-3
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9978
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β ₁))	0.0654,0.0310
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	0.1871,-0.1725
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	7.043%

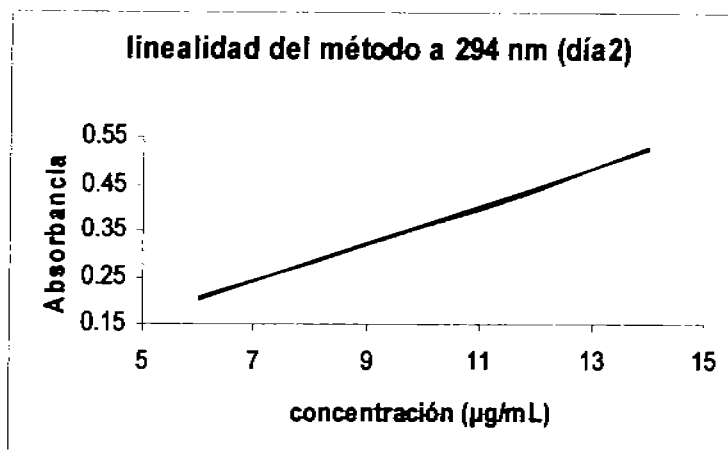
Día número 2.

252 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.2441
8	0.3325
10	0.4145
12	0.5452
14	0.7099
b= -0.1229	
m= 0.0572	
r ² = 0.9883	



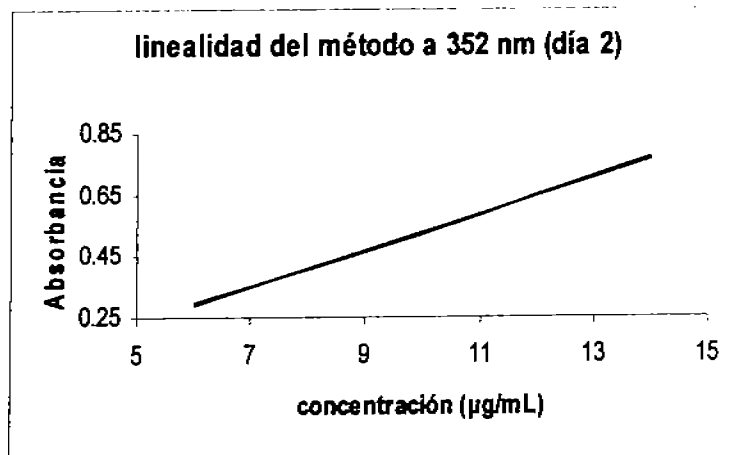
	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0572
Ordenada al origen (b)	-0.1229
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9883
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β ₁))	0.0600,0.0544
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	0.1780,-0.0424
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	7.7910%

294 nm	
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia (nm)
6	0.2041
8	0.2798
10	0.3615
12	0.4377
14	0.5302
b=	-0.0424
m=	0.0405
r ² =	0.9994



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0405
Ordenada al origen(b)	-0.0424
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9994
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β_1))	0.0444,0.0366
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β_0))	-1.024E-3,-0.0838
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	2.1318%

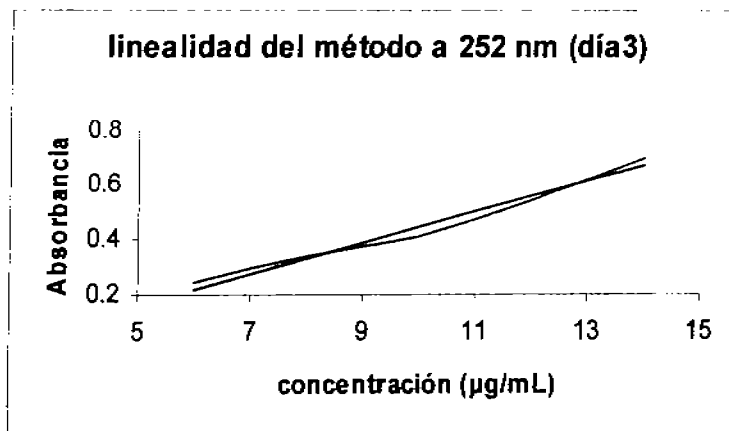
352 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.2967
8	0.4034
10	0.5229
12	0.6478
14	0.7696
b= -0.0670	
m= 0.0595	
r ² = 0.9996	



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0595
Ordenada al origen(b)	-0.0670
Coefficiente de determinación(r ²)	0.9996
Intervalo de confianza para la pendiente(IC(β ₁))	0.0650,0.0540
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	-9.426E-3,-0.1246
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	2.0830%

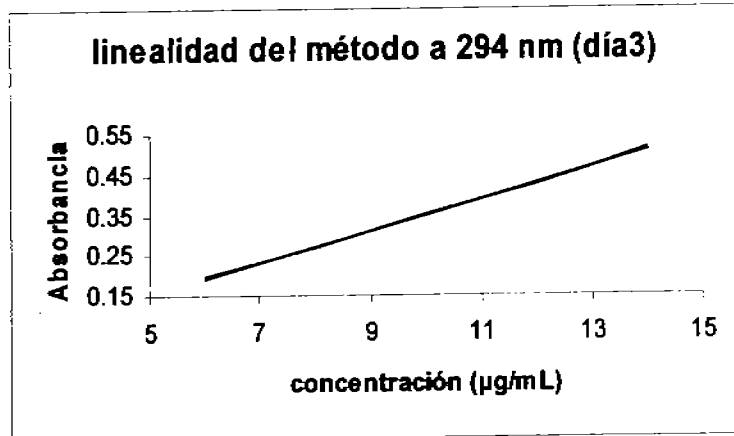
Día número 3.

252 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.2403
8	0.3372
10	0.4089
12	0.5376
14	0.699
b= -0.1143	
m= 0.0559	
r ² = 0.9883	



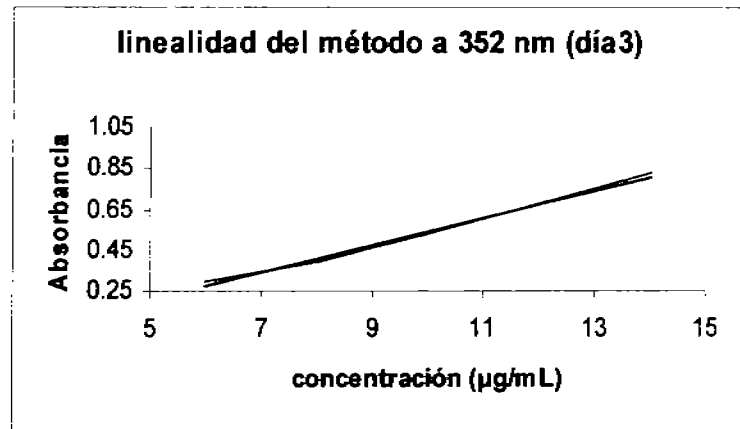
	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0559
Ordenada al origen (b)	-0.1143
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9883
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β ₁))	0.0610, 0.0510
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	-0.0630, -0.1658
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	2.2224%

294 nm	
Concentración (µg/mL)	Absorbancia (nm)
6	0.1959
8	0.2716
10	0.3516
12	0.426
14	0.5157
b=	-0.0448
m=	0.0397
r ² =	0.9995



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0397
Ordenada al origen(b)	-0.0448
Coefficiente de determinación (r ²)	0.9995
Intervalo de confianza para la pendiente (IC(β ₁))	0.0402,0.0392
Intervalo de confianza de la ordenada al origen (IC(β ₀))	-0.0400,-0.0497
Coefficiente de variación de la regresión (CV _{y/x})	2.6640%

352 nm	
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia (nm)
6	0.2924
8	0.3872
10	0.523
12	0.6778
14	0.824
b= -0.1360	
m= 0.0677	
$r^2= 0.9965$	



	Valor obtenido
Pendiente (m)	0.0677
Ordenada al origen(b)	-0.1360
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9965
Intervalo de confianza para la pendiente ($IC(\beta_1)$)	0.0765,0.0590
Intervalo de confianza de la ordenada al origen ($IC(\beta_0)$)	-0.0445,-0.2275
Coefficiente de variación de la regresión ($CV_{y/x}$)	3.2354%

PRECISIÓN DEL MÉTODO.

Analizar por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100% o una muestra homogénea cuyo contenido esté incluido en el intervalo lineal de concentración de linealidad del método, en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y/o equipos.

Calcular la media aritmética \bar{x} , desviación estándar (S) y el coeficiente de variación, empleando todos los resultados obtenidos.

Criterio de aceptación.- $CV \leq 3\%$ para métodos espectrofotométricos

Día número 1.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3768
2	0.3665
3	0.382
4	0.3768
5	0.3872
6	0.3768
$\bar{x} = 0.3777$	
DE= 6.88E-3	
C.V.= 1.8214%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3279
2	0.3233
3	0.3279
4	0.3279
5	0.3325
6	0.3279
$\bar{x} = 0.3279$	
DE= 62.9093E-3	
C.V.= 0.8873%	

352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4949
2	0.4815
3	0.4949
4	0.4949
5	0.5086
6	0.4949
$\bar{x} = 0.4950$	
DE= 8.5071E-3	
C.V.= 1.73%	

Día número 2.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3716
2	0.3768
3	0.3820
4	0.3768
5	0.3820
6	0.3716
$\chi = 0.3768$	
DE= 4.651E-3	
C.V.= 1.23%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3010
2	0.3054
3	0.3054
4	0.3098
5	0.3054
6	0.3010
$\chi = 0.3047$	
DE= 3.3122E-3	
C.V.= 1.0872%	

352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4685
2	0.4815
3	0.4815
4	0.4815
5	0.4881
6	0.4949
$\chi = 0.4827$	
DE= 8.76301E-3	
3	
C.V.= 1.8155%	

Día número 3.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3920
2	0.3716
3	0.3820
4	0.3768
5	0.3716
6	0.3768
$\chi = 0.3768$	
DE= 4.651E-3	
C.V.= 1.23%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3279
2	0.3325
3	0.3233
4	0.3279
5	0.3279
6	0.3279
$\chi = 0.3279$	
DE= 62.9093E-3	
C.V.= 0.8873%	

352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4815
2	0.4949
3	0.4815
4	0.4685
5	0.4881
6	0.4815
$\chi = 0.4827$	
DE= 8.76301E-3	
3	
C.V.= 1.8155%	

Día número 1.

Otro analista.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4089
2	0.4034
3	0.4145
4	0.4089
5	0.4145
6	0.4202
$\chi = 0.4117$	
DE= 5.8735E-3	
C.V.= 1.4265%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3054
2	0.3054
3	0.3188
4	0.3054
5	0.3188
6	0.3188
$\chi = 0.3121$	
DE= 7.3395E-3	
C.V.= 2.3516%	

352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.5086
2	0.5229
3	0.5302
4	0.5086
5	0.5229
6	0.5229
$\chi = 0.5194$	
DE= 8.7938E-3	
C.V.= 1.6932%	

Día número 2.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4145
2	0.4034
3	0.4202
4	0.4089
5	0.4089
6	0.4145
$\chi = 0.4117$	
DE= 5.8735E-3	
C.V.=1.4265%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3233
2	0.3188
3	0.3010
4	0.3188
5	0.3188
6	0.3188
$\chi = 0.3166$	
DE= 7.844E-3	
C.V.= 2.4775%	

352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.5229
2	0.5229
3	0.5302
4	0.5086
5	0.5229
6	0.5086
$\bar{x} = 0.5194$	
DE= 8.7938E-3	
C.V.= 1.6932%	

Día número 3.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3665
2	0.3925
3	0.3925
4	0.3979
5	0.3925
6	0.3979
$\bar{x} = 0.3900$	
DE= 1.18E-2	
C.V.= 3.0292%	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.301
2	0.3188
3	0.3188
4	0.3188
5	0.3233
6	0.3188
$\bar{x} = 0.3166$	
DE= 7.8436E-3	
C.V.= 2.4775%	

352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4437
2	0.4685
3	0.4685
4	0.4685
5	0.4622
6	0.4622
$\bar{x} = 0.4623$	
DE= 9.6051E-3	
C.V.= 2.0778%	

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

El analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por sextuplicado, adicionarle la cantidad de analito que corresponda al 100% de éste, en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista y bajo las mismas condiciones.

Calcular el promedio aritmético \bar{x} , la desviación estándar S, el coeficiente de variación CV y el intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ) del porcentaje de recobro.

Criterio de aceptación.- El IC(μ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo del 97%-103% para métodos espectrofotométricos.
El CV del porcentaje de recobro debe no ser mayor del 3% para métodos espectrofotométricos.

Día número1.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2366
2	0.2366
3	0.2403
4	0.2366
5	0.2403
6	0.2366
$\bar{x} =$	0.2378
DE =	1.91E-03
C.V. =	0.80%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2398,0.2358
Representación en porcentajes	100.84% ,99.01%

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.1938
2	0.1938
3	0.1938
4	0.1904
5	0.1938
6	0.1938
\bar{x} =	0.1932
DE=	1.39E-03
C.V.=	0.72%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.1947 , 0.1917
Representación en porcentajes	100.78%, 98.46%

352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.284
2	0.2798
3	0.284
4	0.2881
5	0.284
6	0.284
\bar{x}	0.284
DE=	2.62E-03
CV=	0.92%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2868, 0.2812
Representación en porcentajes	100.99%, 99.01%

Día número 2.

252 nm	
Número de análisis	Absorbancia
1	0.2366
2	0.2403
3	0.2403
4	0.2366
5	0.2366
6	0.2366
\bar{x} =	0.2378
DE=	1.91E-03
CV=	0.80%

La \bar{x} representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2398,0.2358
Representación en porcentajes	100.84% ,99.01%

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia
1	0.1904
2	0.1938
3	0.1938
4	0.1938
5	0.1938
6	0.1938
\bar{x}	0.1932
DE=	1.39E-03
CV=	0.72%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.1947 , 0.1917
Representación en porcentajes	100.78%, 98.46%

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia
1	0.2881
2	0.2798
3	0.284
4	0.284
5	0.284
6	0.284
\bar{x} =	0.284
DE=	2.62E-03
CV=	0.92%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2868, 0.2812
Representación en porcentajes	100.99%, 99.01%

Día número 3.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2403
2	0.2366
3	0.2366
4	0.2366
5	0.2403
6	0.2366
\bar{x} =	0.2378
DE=	1.91E-03
CV=	0.80%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2398,0.2358
Representación en porcentajes	100.84% ,99.01%

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.1938
2	0.1938
3	0.1938
4	0.1904
5	0.1938
6	0.1938
\bar{x} =	0.1932
DE=	1.39E-03
CV=	0.72%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.1947 , 0.1917
Representación en porcentajes	100.78%, 98.46%

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia
1	0.284
2	0.2798
3	0.284
4	0.2881
5	0.284
6	0.284
\bar{x}	0.284
DE=	2.62E-03
CV=	0.92%

La χ representa el 100%.

	Intervalo
Intervalo de confianza para la media poblacional IC(μ)	0.2868, 0.2812
Representación en porcentajes	100.99%, 99.01%

ESTABILIDAD.

Para determinar la estabilidad analítica para muestras independientes, a partir de una muestra homogénea, el analista debe analizar por triplicado, simultáneamente y de la misma muestra procesar el número de muestras necesarias para cada condición de almacenaje hasta la etapa preestablecida, preparaciones, al menos por triplicado. Proseguir el análisis de cada una de las preparaciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una disolución de referencia. Calcular la media aritmética del análisis inicial (\bar{y}_0) y de cada condición de almacenaje \bar{y}_i . Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial $[d_i]$.

Criterio de aceptación.- $[d_i] \leq 3\%$ para métodos espectrofotométricos.

CONDICIÓN..... Temperatura de 45°C

Día número 1.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2924
2	0.2967
3	0.2924
[d _i] = 0.1144	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3279
2	0.3325
3	0.3279
[d _i] = 0.1500	

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2291
2	0.2255
3	0.2291
[d _i] = 0.4860	

Día número 2.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2840
2	0.2798
3	0.2840
[d _i] = 0.1032	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2557
3	0.2596
[d _i] = 0.0790	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2291
2	0.2218
3	0.2291
[d _i] = 0.0415	

Día número 3.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.4202
2	0.426
3	0.4202
[d _i] = 0.2427	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia
1	0.2596
2	0.2557
3	0.2596
[d _i] = 0.0790	

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3468
2	0.3516
3	0.3516
[d _i] = 0.1706	

CONDICIÓN *Temperatura de <5°C*

Día número 1.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2656
2	0.2596
3	0.2656
[d _i]=0.0829	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2218
2	0.2255
3	0.2218
[d _i]=0.0440	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3143
2	0.3188
3	0.3143
[d _i]=0.1364	

Día número 2.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2636
3	0.2636
[d _i]=0.0829	

294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2147
2	0.2147
3	0.2182
[d _i]=0.0370	

352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3098
2	0.3054
3	0.3098
[d _i]=0.1290	

Día número 3.

Longitud de onda de 252 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2636
2	0.2636
3	0.2676
[d _i]=0.0855	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2147
2	0.2147
3	0.2147
[d _i]=0.0356	

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3098
2	0.3098
3	0.3054
[d _i]=0.1290	

CONDICIÓN luz

Día número 1.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2636
3	0.2596
[d _i]=0.0836	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2076
2	0.2076
3	0.2111
[d _i]=0.0294	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3325
2	0.327
3	0.3325
[d _i]=0.1513	

Día número 2.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2557
3	0.2596
[d _i]=0.0790	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2557
3	0.2596
[d _i]=0.0250	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3188
2	0.3142
3	0.3142
[d _i]=0.1363	

Día número 3.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2518
2	0.248
3	0.2518
[d _i]=0.0711	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2007
2	0.1972
3	0.1972
[d _i]=0.0190	

Longitud de onda de 352 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3054
2	0.3098
3	0.3098
[d _i]=0.1290	

CONDICIÓN *Obscuridad*

Día número 1.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2636
2	0.2596
3	0.2596
[d _i]=0.0816	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2076
2	0.2041
3	0.2076
[d _i]=0.0270	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3098
2	0.3054
3	0.3098
[d _i]=0.1290	

Día número 2.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2596
3	0.2596
[d _i]=0.0802	

Longitud de onda de 294 nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2076
2	0.2111
3	0.2076
[d _i]=0.0294	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3098
2	0.3098
3	0.3098
[d _i]=0.1304	

Día número 3.

Longitud de onda de 252nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2596
2	0.2596
3	0.2557
[d _i]=0.0790	

Longitud de onda de 294nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.2111
2	0.2147
3	0.2111
[d _i]=0.0330	

Longitud de onda de 352nm	
Número de análisis	Absorbancia (nm)
1	0.3098
2	0.3098
3	0.3098
[d _i]=0.1290	

CAPITULO V

ANÁLISIS

DE

RESULTADOS

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Al analizar los resultados para comprobar que el método es específico, los resultados permitieron evidenciar que si es específico, ya que permite obtener la señal tanto del principio activo en forma pura, como del principio activo en la formulación y que la señal que emite el placebo no interfiere con la señal del piroxicam, por lo que los máximo de absorbancia solo se deben a la presencia del analito que se está evaluando.

El valor del coeficiente de variación de la respuesta analítica de la muestra de piroxicam para determinar la precisión del sistema en las tres longitudes de onda, los valores experimentales obtenidos de los 3 días diferentes de desarrollo experimental obtenidos, indican ser menores al valor del 1.5% que es el valor de aceptación, ya que para 252 nm los valores que se obtuvieron son de 1.1493, 0.7094 y 1.0; para 294 nm los valores son de 1.0430, 1.098 y 1.0651; además de que a 352 nm son de 1.0367, 1.4340 y 1.0341, por lo que se considera que el sistema es preciso para la concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$ que representa el 100% de la muestra, y que equivalen a 5 mg de piroxicam.

Los valores obtenidos para determinar si el método es lineal indican que el coeficiente de determinación para 252 nm son de 0.9930, 0.9883 y 0.9883 para cada una de los días de experimentación y considerando que para este parámetro el criterio de aceptación muestran ser mayores o iguales a 0.98; por lo que los valores obtenidos cumplen con el criterio. Para la medición a 294 nm, los valores obtenidos de dicho coeficiente para el primer día de experimentación es 0.9994, para el segundo día de 0.9994 y para el último día de 0.9995, por lo que también cumplen para ser aceptados. Por último para 352 nm los valores son de 0.9978, 0.9996 y 0.9965, siendo todos mayores a 0.98 que indica el criterio de aceptación.

Los intervalos de confianza para la pendiente IC (β_1) para 252 nm son de 0.0780 a 0.0521 para el primer día, para el segundo de 0.0600 a 0.0544 y para el tercero de 0.0610 a 0.0510, y el criterio de aceptación indica que el intervalo debe incluir la unidad y en ninguno de estos casos la incluye, por lo que no se cumple con el criterio.

Para 294 nm los valores obtenidos para este mismo parámetro son de 0.0454 a 0.4010 por lo que el intervalo no incluye la unidad, para el segundo día los valores obtenidos del intervalo van de 0.0444 a 0.0366 que tampoco incluye la unidad y para el tercer día tiene un intervalo de 0.0402 a 0.0392, por

lo que no incluye la unidad; entonces para esta longitud de onda no se cumple tampoco con el criterio de aceptación por que ningún intervalo incluye la unidad.

A 352 nm los valores de IC (β_1) de la experimentación son de 0.0654 a 0.0310, 0.0650 a 0.0540 y 0.0765 a 0.0590, por lo que tampoco incluyen la unidad y de esta manera no se cumple con el criterio.

Los valores de los intervalos de confianza para la ordenada al origen IC (β_0) a 252 nm van de -0.0480 a 0.03160 no incluyendo el cero, de 0.1780 a -0.4237 que incluye el cero y de -0.0630 a -0.1658 en donde no se incluye la unidad por lo que en esta longitud de onda no se cumple con el criterio de aceptación.

A 294 nm los valores obtenidos de los intervalos son de 0.0316 a -0.1022 que incluye el cero, de -1.0240E-3 a -0.0838 que no incluye el cero y -0.0400 a -0.0497 que tampoco incluye el cero por lo que solo un intervalo cumple con el criterio de aceptación.

Para la longitud de onda de 352 nm el valor de los intervalos obtenidos de la experimentación van de 0.1871 a -0.1725, de -9.4260E-3 a -0.1246 y -0.0445 a -0.2245 por lo que ninguno incluyen el cero y de esta manera no cumplen con el criterio.

El coeficiente de variación de la regresión $CV_{y/x}$ para ser aceptado de acuerdo al criterio establecido en la guía de validación deben ser menores o iguales al 3% y para 252nm los valores obtenidos son de 5.4696% 7.7910% y 2.2224% por lo que dos de los tres valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptación. Para 294 nm los valores son de 3.6056%, 2.1318% y 0.2664 siendo en este caso que solo un valor fue mayor del 3% se puede decir que un error de tipo sistemático afectó nuestra experimentación. En el caso de los 352 nm los valores obtenidos son de 7.0430%, 2.0830 y 3.2354% por lo que solo un valor de los obtenidos es aceptado; al haber tanta divergencia entre valores de una misma longitud de onda no se puede establecer un buen criterio.

El método es preciso para el primer analista, ya que los valores del coeficiente de variación son menores del 3% en todas las determinaciones y a todas las longitudes de onda ya que los valores obtenidos para 252 nm son de 1.8214% y 1.23% para 294 de 0.8873% y 1.0872% y para 352 nm de 1.73% y 1.8155%. El método no es preciso en la longitud de onda de 252 nm cuando la experimentación fue efectuada por otro analista ya que se obtiene un valor de 3.0292%, pero esta diferencia sólo se observa en una de las experimentaciones lo que nos indica que muy probablemente se debió a un error también de tipo sistemático.

En general se considera que el sistema es lineal, ya que los valores obtenidos de los parámetros de los criterios de aceptación entran en los valores establecidos en la guía de validación ya que los datos obtenidos para 252 nm del coeficiente de determinación es de 0.9886 y del intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1) de 0.0674 a 0.0356 por lo que no incluye el cero para el primer día, para el segundo el valor del coeficiente es de 0.9863 y del intervalo de confianza para la pendiente de -0.0474 a -0.0282 que tampoco incluye el cero; el último día el coeficiente tiene un valor de 0.9964 y el intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1) incluye el cero ya que tiene un valor de 1.8705 a -1.7735 por lo que un error de tipo sistemático pudo afectar este dato estadístico. Para la longitud de onda de 294 nm, los valores del coeficiente de los tres días son mayores de 0.98, ya que se obtuvieron de 0.9953, 0.9980 y 0.9995 para el primer día, el segundo y el tercero respectivamente. El lo que respecta al intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1) los valores que se obtuvieron se aceptan, ya que van de 0.0544 a -0.0352 para el día primero, para los siguientes dos son de 0.0385 a 0.0281 y 0.0456 a 0.0326 por lo que ninguno incluye el cero.

En lo que concierne a 352 nm los coeficientes son de 0.9882, 0.9933 y 0.9995 por lo que entran en el criterio de aceptación y los intervalos de confianza para la pendiente IC (β_1) son de 0.0741 a 0.0520, 0.0623 a 0.0345 y por último 0.0576 a 0.0496 por lo que se acepta la evaluación de este parámetro.

Para la exactitud y la repetibilidad se consideró la media como el 100% del piroxicam y se realizaron cálculos para determinar a cuanto equivalía el rango de las IC (μ) en porcentajes, por lo que todas las mediciones que se obtuvieron se encuentran dentro del rango de aceptación de 97-103% que indica la guía de validación, ya que para la longitud de 252 nm el intervalo de confianza para la media poblacional es de 100.8410 a 99.1590%, para 294 nm el intervalo tiene un valor de 100.7764 a 98.4591 y para 352 nm va de 100.9958 a 99.0141 por lo que el método es exacto y repetible para una muestra que contiene el equivalente a 5 mg de piroxicam.

En cuanto a la estabilidad, se observa que todos los valores de la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial ((d_i)) están por debajo del 3% para correspondiente al criterio de aceptación para métodos espectroscopia, por lo que se considera que el piroxicam es estable, ya que en todos las condiciones a las que se sometió el piroxicam para probar si se modificaba la señal que emitía al analito al ser almacenado en periodos de tiempo de entre 24 y 72 horas no se vio afectada.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

Apoyándose en los resultados obtenidos experimentalmente al desarrollar un método espectrofotométrico para determinar piroxicam en la forma farmacéutica de tabletas, se concluye que:

1. La propuesta del método para determinar piroxicam a partir de tabletas de 20 mg es específico, debido a que al obtener las señales en el espectrofotómetro del principio activo piroxicam, placebo (toda la formulación excepto piroxicam) y la formulación completa demuestra que la absorbancia que se obtiene del placebo es despreciable, es decir que no afecta la señal producida por el piroxicam que se encuentra presente en la formulación, ya que el comportamiento que se observa es el mismo que el que produce el principio activo (piroxicam) únicamente.
2. El sistema es preciso, considerando que el valor de los coeficientes de variación en todas las determinaciones y en las longitudes de onda propuestas son menores de 1.5% que es el valor que especifica la guía de validación para poder ser aceptado el sistema; esto es en una muestra que tiene una concentración de 10 µg/mL que representa el 100%.
3. De acuerdo a los valores experimentales obtenidos para considerar el sistema como lineal, solo en una de las experimentaciones a la longitud de onda de 252 nm no se acepta como lineal, considerando que un error de tipo sistemático afectó esta determinación, por lo que se considera que el sistema no es lineal a la longitud de onda de 252 nm pudiéndose decir que esta una longitud de onda no es adecuada para determinar piroxicam en productos farmacéuticos en presentación tabletas.
4. Al verse involucrado el error sistemático en uno de los valores de absorbancia a la longitud de onda de 252 nm se concluye que el método no es preciso y por ende tampoco es reproducible por encontrarse que el valor del coeficiente de variación es mayor del 3%.

5. Debido a que entre valores obtenidos para longitudes de onda (λ) iguales no existe una sola determinación en la que todos los criterios para ser aceptada se cumplan, se concluye que el método no es lineal.
6. El método es exacto y repetible, ya que los valores que se obtienen de los intervalos de confianza para la medias poblacional se encuentran dentro del rango de entre 97-103% que es el límite para considerarse aceptado para los 5 mg de piroxicam que en disolución representan el 100% del principio activo.
7. Las señales obtenidas para demostrar la estabilidad del piroxicam a diferentes condiciones de almacenamiento a partir de la obtención de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial ($[d_i]$) indican que son menores del 3% que se especifica en la guía de validación, lo que demuestra que las propiedades que tiene el piroxicam no se ven afectadas a las 24 , 48 y 72 horas de ser expuestas a condiciones de almacenamiento para una muestra que equivale a 5 mg de piroxicam.

Se concluye finalmente que la longitud de onda a 252 nm no es adecuada para poder obtener una señal que sea producida por piroxicam, debido a que no satisface más de un criterio para ser considerado como aceptado, y que el método que se desarrolló para determinar piroxicam utilizando espectroscopia de ultravioleta y etanol como medio de disolución no es lineal, por lo que muy probablemente la metodología se haya visto afectada a un error de tipo sistemático en el que tanto el analista como la instrumentación provocaran esta mala determinación, por lo que sería de considerar que al ser el único criterio que no se cumple para ninguna longitud de onda según lo estipulado en la guía de validación, se pueda reexperimentar, teniendo más ahínco al momento de realizar éste parámetro.

APÉNDICE

FÓRMULAS

Fórmulas para el cálculo de la precisión del sistema.

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

Fórmulas para determinar la linealidad del sistema.

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

n = Número de mediciones

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

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

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

$t_{0.975, n-2}$ = Valor de la "t" de Student para el valor de n-2

Fórmulas para determinar la exactitud y repetibilidad del método

Media aritmética: $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$

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

Coefficiente de variación: $CV = \frac{s}{\bar{y}} * 100$

n= número de mediciones

Intervalo de confianza para la media poblacional: $IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0.975, n-1} \frac{s}{\sqrt{n}}$

$t_{0.975, n-1}$ = Valor de "t" de Student

Fórmulas para determinar 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

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 $IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b1}$

la pendiente:

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}}$$

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

$t_{0.975, n-2}$ = Valor de la "t" de Student para el valor de n-2

Intervalo de confianza para la ordenada al origen:

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b0}$$

$$S_{b0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}}$$

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

Coefficiente de variación de regresión:

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

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

Fórmulas para precisión del método.

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

Fórmulas para determinar la estabilidad analítica de la muestra.

Media aritmética del análisis inicial: $\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$

n_0 = número de muestras del análisis inicial.

Media aritmética del análisis de cada condición de almacenaje: $\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i}$

n_i = número de muestras del análisis de la i-ésima condición de almacenaje.

Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial. $|d_i| = | \bar{y}_i - \bar{y}_0 |$

BIBLIOGRAFÍA.

Cruz Garrita Diana, Chamizo J.A., Garrita A., Estructura atómica. Un enfoque químico., Ed. Addison- Wesley Iberoamericana., 1991. pp 144

Judith F. Rubinson, Kenneth A. Rubinson., Química analítica contemporánea. Ed. Pearson Educación.,pp. 330-333

David Harrey DePauw University., Química analítica moderna. Ed. Mc Graw Hill.,pp. 29-31, 36,46, 259-264, 266-271.

Robert L. Pecsok & L. Donald Shields., Métodos modernos de análisis químico., Ed. Limusa., pp.171-173, 177, 181.

Douglas A. Skoog & Donald M. West., Análisis instrumental., Ed. interamericana.,pp. 158-167, 179-190.

Howard A. Strobel., Instrumentación química. Estudio sistemático del análisis instrumental Ed. Limusa., pp. 181-182, 187.

Mc Murry John., Química orgánica., Ed. Grupo editorial Iberoamericana., p.p. 7,15,18,19,1130.

García Ma. Araceli & Co., Métodos analíticos, Guía de validación. 2002. p.p. 14, 15, 21-32.

Dr. Emilio Rosenstein Ster., Diccionario de especialidades Farmacéuticas. Thomson PLM., 2003.pp. 1213, 2199, 2200.

<http://www.farmaciasahumada.cl/stores/fasa/html/MFT/PRODUCTO/P4418.HTM>

<http://www.artritiscentral.com/html/spmedsnsaids.htm>

<http://tratado.uninet.edu/c100203.html>

<http://www.hsmq.cl/farmacia/farm013.htm>

<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/n2/revis2a.html>

<http://revista.seaic.es/febrero2004/39-40.pdf>

<http://www.sepd.org/comunica/P0000145.pdf>

http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/FG_T43.pdf

<http://publicaciones.smu.org.uy/publicaciones//rmu/2004v2/art-8.pdf>

<http://zootecnia.tripod.com.mx/espectrofotometria>