



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

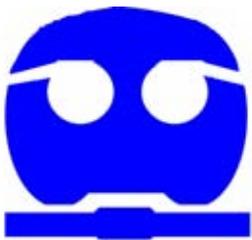
FACULTAD DE QUÍMICA

VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR  
MEBENDAZOL EN FORMAS FARMACEUTICAS SÓLIDAS  
POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis.

T É S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:  
SAÚL JIMÉNEZ JIMÉNEZ



MÉXICO, D. F.

2009



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: PROFA.: NORMA TRINIDAD GONZALEZ MONZON  
Vocal: PROFA.: MARIA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS  
Secretario: PROF.: RAUL LUGO VILLEGAS  
1er Suplente: PROF.: IVAN ALEJANDRO FRANCO MORALES  
2do Suplente: PROF.: EFREN HERNANDEZ BALTAZAR

Lugar en el cual se desarrollo el tema:

Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor de tema:

---

Dra. Norma Trinidad González Monzón

Sustentante:

---

Saúl Jiménez Jiménez

## CONTENIDO

1. Introducción.	
1.1. Objetivos.....	1
1.2. Justificación.....	1
1.3. Marco teórico.	
1.3.1. Validación de métodos analíticos.	
1.3.1.1. Concepto de Validación de Métodos Analíticos.....	2
1.3.1.2. Validación de Métodos Analíticos y orden legal.....	2
1.3.1.3. Clasificación de los métodos analíticos.....	3
1.3.1.4. Etapas de la validación de métodos analíticos. ....	4
1.3.2. Fundamentos de la espectrofotometría UV-Vis.	
1.3.2.1. Fundamento mecánico cuántico de la espectrofotometría ultravioleta-visible.....	5
1.3.2.2. Instrumentación analítica de medición. Proceso de cuantificación.....	9
1.3.3. Criterios para evaluar los parámetros de desempeño del sistema y del método..	14
1.3.4. Propiedades generales del mebendazol.....	15
1.3.5. Polimorfismo del mebendazol.....	16
1.3.6. Importancia veterinaria del mebendazol.....	16
2. Diseño experimental.	
2.1. Metodología para la cuantificación de mebendazol en formas farmacéuticas sólidas.	
2.1.1. Descripción de la metodología.....	18
2.2. Control del producto terminado.....	19
2.3. Plan de prueba experimental para la evaluación de la linealidad y precisión del sistema....	20
2.4. Plan de prueba experimental para la evaluación de la exactitud y repetibilidad.....	21
2.5. Plan de prueba experimental para la evaluación de la estabilidad en muestra.....	21
2.6. Plan de prueba experimental para la evaluación de la precisión intermedia.....	21
2.7. Plan de prueba experimental para la evaluación de la especificidad.....	22
3. Criterios de aceptación.	23

3.1. Criterios de aceptación para la precisión intermedia.....	23
3.2. Criterios de aceptación para la linealidad del sistema.....	23
3.3. Criterios de aceptación para la exactitud y repetibilidad al 100%.....	23
3.4. Criterios de aceptación para la linealidad del método.....	23
3.5. Criterios de aceptación para la precisión intermedia.....	23
3.6. Criterios de aceptación para la especificidad.....	23
4. Resultados y análisis de resultados.	
4.1. Especificidad.....	24
4.2. Precisión del sistema.....	26
4.3. Linealidad del sistema.....	27
4.4. Estabilidad analítica del estándar.....	28
4.5. Precisión del método.....	29
4.6. Exactitud y Linealidad del Método.....	30
4.7. Precisión intermedia.....	32
4.8. Estabilidad analítica de la muestra.....	33
5. Conclusiones.....	34
6. Referencias.....	35
Anexo I. Glosario.....	36

## **1. Introducción.**

### **1.1. Objetivos.**

Objetivo general:

Determinar de manera experimental la confiabilidad del método para cuantificar Mebendazol en formas farmacéuticas sólidas por espectrofotometría de Ultravioleta-Visible.

Objetivos particulares:

Demostrar experimentalmente que el método de análisis propuesto cumple con los parámetros de validación establecidos.

Analizar las posibles causas de no conformidades generadas por el método analítico como parte del proceso de validación del método analítico.

### **1.2. Justificación.**

El presente trabajo surge de la necesidad de asegurar que la metodología que se emplea para la cuantificación de mebendazol en formas farmacéuticas sólidas es apta para el fin creado. Al asegurar que dicho procedimiento es apto se cumple con un requerimiento para la implementación del sistema de calidad ISO 9000.

La determinación de mebendazol por UV-Vis es la alternativa mas rápida, eficiente y económica para la valoración de este principio activo en diversas formas farmacéuticas sólidas siempre y cuando éste cumpla con los requerimientos de validación propuestos.

### **1.3. Marco teórico.**

#### **1.3.1. Validación de métodos analíticos.**

##### **1.3.1.1. Concepto de validación de métodos analíticos.**

La validación de métodos analíticos tiene por objeto proveer de información experimental documentada y trazable de que un método analítico sirve para lo que fue creado.

##### **1.3.1.2. Validación de métodos analíticos y orden legal.**

La industria farmacéutica, al igual que en otros giros, está sometida a las reglas del mercado, que imponen unas exigencias de calidad sin las cuales un determinado producto no sería utilizado por los consumidores.

La Validación de Métodos Analíticos está justificada con base a las siguientes referencias:

Reglamento de Insumos para la Salud, en su Título Segundo, Insumos, Sección Primero, Características y Condiciones Sanitarias, Art. 15

*«Los Establecimientos que se destinen a la fabricación de Insumos, llevarán el control analítico de éstos. Dicho control deberá incluir:*

*III. La validación de las técnicas empleadas.»*

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993 Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.

*«9.11. Validación*

*9.11.3 Los métodos analíticos deben ser validados, de acuerdo con lo establecido en el apartado 9.12 " control del laboratorio analítico".*

*9.12. Control del laboratorio analítico.*

*9.12.3 Se debe contar con métodos de análisis validados para producto a granel, producto terminado y materia prima en caso de no aparecer en cualquier farmacopea internacional ni en la FEUM. »*

Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-059-SSA1-2004, Buenas Prácticas de Fabricación para el Establecimiento de la Industria Farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.

«14. Validación

14.1 Política.

*...Todas las instalaciones, equipos, sistemas críticos y computacionales (que impacten en la calidad del producto) deben estar calificados y los métodos de limpieza y analíticos deben validarse al inicio de la operación y terminados antes de la liberación de un producto... »*

Entre otras regulaciones, como la Norma Oficial de Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas Prácticas de Fabricación de Fármacos.

«16. Controles de laboratorio e inspección.

*16.1.5. Validación de métodos analíticos utilizados por la empresa, no farmacopeicos o farmacopeicos que tengan desviaciones frente a la farmacopea de referencia. »*

Actualmente, existen diversas razones adicionales a aquéllas de carácter obligatorio por las cuáles se validan métodos analíticos, entre ellas está, la certificación ISO 9000, la cuál establece que los métodos analíticos deben validarse.

**1.3.1.3. Clasificación de métodos analíticos.**

De acuerdo a la ICH Q2A (*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*) existe cuatro tipos de métodos analíticos mas comunes para procedimientos analíticos que deben ser considerados para su validación.

-Métodos para pruebas de identificación. Estos métodos pretenden asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esta generalmente se determina mediante la comparación de una propiedad de la muestra con el estándar de referencia.

-Pruebas cuantitativas para contenido de impurezas y las pruebas límite para el control de impurezas. Ambas pruebas aseguran las características de pureza de la

muestra. Diferentes características de validación se requieren para un método cuantitativo de impurezas como para una prueba límite.

-Pruebas cuantitativas para la determinación del contenido de activo(s) en muestras de producto terminado. Los métodos analíticos para la determinación del contenido de activo pretenden medir el mayor componente del principio activo en el producto terminado. Las mismas características de validación pueden aplicarse también a las pruebas asociadas con otros procedimientos analíticos (Por ejemplo, pruebas de disolución).

## **1.3.2. Fundamento de espectrofotometría UV-Vis.**

### **1.3.2.1. Fundamentos mecánico – cuántico de la espectrofotometría ultravioleta– visible.**

Desde hace años se ha usado el color como ayuda para reconocer las sustancias químicas; al reemplazar el ojo humano por otros detectores de radiación se puede estudiar la absorción de sustancias, no solamente en la zona del espectro visible, sino también en ultravioleta e infrarrojo.

Se denomina espectrofotometría a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, y a las mediciones a una determinada longitud de onda.

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de cuantos de energía llamados fotones; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía.

#### **Principios generales.**

La región del espectro electromagnético que corresponde a las transiciones que involucran a electrones de la capa de valencia se extiende por longitudes de onda de 100 a 1000 nm (regiones ultravioleta-visible e infrarroja cercana).

La región por debajo de 200nm, conocida como Ultravioleta lejano, presenta características que hacen complicada su utilización:

1. – En esta zona absorben las moléculas que componen el aire, lo que hace imprescindible trabajar con equipos al vacío (de aquí el nombre alternativo de la región: Ultravioleta de vacío).
2. - Los materiales usuales para la construcción de componentes ópticos (celdas, lentes, elementos dispersivos), el cuarzo y el vidrio, absorben fuertemente en esta zona. Se requiere trabajar con otros materiales, menos versátiles y más costosos (LiF, CaF<sub>2</sub>, zafiro, utilizables hasta 115, 125 y 140 nm respectivamente).
3. -Los solventes absorben fuertemente en esta región. Los hidrocarburos saturados pueden usarse hasta 170 nm, los hidrocarburos perfluorados hasta 150nm.
4. - La sensibilidad de los detectores es generalmente baja.

5. - La absorción en esta zona es poco selectiva. Casi todos los compuestos presentan absorción en esta región.

La región entre 200 y 400nm, llamada Ultravioleta cercana, es de gran utilidad en la determinación estructural de insaturación conjugada, aromaticidad o de ciertos grupos insaturados con pares electrónicos libres (carbonilo, nitro, etc.), sin presentar los serios inconvenientes del Ultravioleta de vacío. Se requieren materiales ópticos de cuarzo si se quiere acceder a la zona de longitudes de onda inferiores a 350nm, mientras que el vidrio es utilizable en el resto de la región Ultravioleta cercana y toda la región visible.

La región Visible, de 400 hasta cerca de 800nm, es la única del espectro electromagnético detectable por el ojo humano. Las transiciones que se presentan en esta zona corresponden a transiciones electrónicas de muy baja energía. Todos los compuestos coloreados absorben selectivamente en esta región. Los compuestos fuertemente conjugados y ciertos complejos de metales de transición absorben significativamente en la región. Ciertas transiciones electrónicas pueden presentarse a longitudes de onda superiores a 800nm pero estas no son comunes en los compuestos orgánicos.

### **Características de las bandas de absorción en la región Ultravioleta-Visible.**

Las transiciones electrónicas en moléculas se presentan en forma de bandas, con modificación simultánea de los niveles de energía vibracionales y rotacionales. En moléculas pequeñas en fase gaseosa es posible observar la estructura fina vibracional de las bandas electrónicas con estructura rotacional no bien resuelta. En moléculas más complejas la multiplicidad de los niveles vibracionales hace que el gran número de transiciones de similar energía produzca bandas de absorción continuas sin estructura fina vibracional evidente. Esto es también lo usual cuando se registran los espectros de absorción UV en fases condensadas (soluciones, sólidos).

Las principales características de una banda de absorción son: posición del máximo, intensidad y anchura.

La posición de una banda, dada por el máximo de absorción, depende de la energía de la transición (relación de Bohr) y se reporta usualmente como  $\lambda_{\max}$  /nm o número de onda  $\text{maxv}/\text{cm}^{-1}$ .

La intensidad de una banda de absorción puede expresarse como absorptividad molar en el máximo o más correctamente como intensidad integrada. Esta intensidad depende del cuadrado del momento dipolo de la transición (cambio en la distribución de cargas eléctricas durante la transición). Se producen absorciones intensas cuando

una transición es acompañada por un gran cambio en la distribución de cargas (máx del orden de  $10^4$ ), por otra parte las transiciones con pequeño cambio en la distribución de cargas producen débiles bandas de absorción (máx del orden de  $10^2$  o inferiores). Dados los valores típicos de las absorptividades molares en el UV, es común trabajar con soluciones de concentraciones  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

La anchura de una banda de absorción electrónica depende del número e intensidad de los componentes vibracionales de la transición correspondiente. La distribución de intensidades entre los componentes vibracionales de una transición electrónica depende de los cambios en la geometría de equilibrio del Principio de Franck.

## Terminología

Resulta conveniente definir algunos términos usuales en espectroscopia UV-Vis que tienen en parte origen en antiguas teorías sobre el origen del color de las sustancias, éstas son de gran utilidad para comprender la técnica analítica en la cual se basa dicho escrito.

Grupo cromóforo: grupo covalente insaturado que origina bandas de absorción electrónicas ( $\pi$ - $\pi^*$ ). Ejemplos típicos son los grupos vinilo, carbonilo, fenilo, nitro.

Grupo auxócromo: grupo saturado (generalmente conteniendo pares electrónicos libres) que unido a un cromóforo altera tanto la posición como la intensidad de la banda de absorción de éste. Auxócromos típicos son los grupos -OH, -NH<sub>2</sub>, -Cl, -Br, -CH<sub>3</sub>.

Efectos batocrómico e hipsocrómico: desplazamientos del máximo de absorción de una banda a mayores o menores longitudes de onda respectivamente, debido a la introducción de un sustituyente, cambio de solvente o pH o cualquier otra causa.

Efectos hiperocrómico e hipocrómico: incremento o decremento de la intensidad de una banda de absorción debido a la introducción de un sustituyente, cambio de solvente o pH o cualquier otra causa.

## Aspectos Cuantitativos de las Mediciones de Absorción

### Ley de Beer.

Consideremos un bloque de materia absorbente (sólido, líquido o gas). Un haz de radiación monocromática paralelo con intensidad  $I_0$  <sup>[Ver abreviaturas]</sup> llega al bloque perpendicular a la superficie; luego pasa a través de la longitud  $b$  del material, que contiene  $n$  partículas absorbentes (átomos, iones o moléculas), la intensidad del haz disminuye a  $I_x$  como resultado de la absorción.

Consideremos ahora una sección transversal del bloque que tiene un área  $S$  ( $X \times Y$ ) y un espesor infinitesimal  $dx$ . Dentro de esta sección hay  $dn$  partículas absorbentes; asociada a cada partícula podemos imaginar una superficie en que ocurrirá la captura del fotón. Esto es, si un fotón alcanza una de esas áreas por casualidad, ocurrirá inmediatamente la absorción. El área total de esas superficies de captura dentro de la sección se designa  $ds$ ; la relación del área de captura al área total es  $ds/S$ .

En un promedio estadístico, esta relación representa la probabilidad para la captura de fotones dentro de la sección.

La intensidad del haz que entra en la sección,  $I_x$  es proporcional al número de fotones por  $cm^2$  y por segundo, y  $dI_x$  representa la cantidad removida por segundo dentro de la sección, la fracción absorbida es entonces  $-dI_x/I_x$  y esta relación también es la probabilidad promedio por captura. El término tiene signo negativo para indicar que la intensidad del haz disminuye.

$$-\frac{dI_x}{I_x} = \frac{ds}{S}$$

Recordemos que  $ds$  es la suma de las áreas de captura para cada partícula dentro de la sección; puede ser por eso proporcional al número de partículas  $ds = \alpha \cdot dn$ ; siendo  $dn$  el número de partículas dentro de la sección y  $\alpha$  una constante de proporcionalidad, que se puede llamar sección transversal de captura. Considerando las ecuaciones e integrando de 0 a  $n$

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI_x}{I_x} = \int_0^n \frac{\alpha \cdot dn}{S}$$

Queda como,

$$-\ln \frac{I}{I_0} = \frac{\alpha \cdot n}{S}$$

Luego de convertir los logaritmos a base 10 e invirtiendo la fracción para cambiar de signo, se obtiene:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{\alpha \cdot n}{2,303 \cdot S}$$

Siendo  $n$  el número total de partículas dentro del bloque.

La sección transversal  $S$  se puede expresar en términos del volumen del bloque en  $\text{cm}^3$  y su longitud  $b$  en  $\text{cm}$ , entonces  $S = V/b$

Sustituyendo en la ecuación anterior, da:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{\alpha \cdot n \cdot b}{2,303 \cdot V}$$

Se nota que  $n/V$  tiene las unidades de concentración (esto es número de partículas por  $\text{cm}^3$ ), se puede convertir a moles por litro.

El número de moles es

$$\frac{n \text{ partículas}}{6,02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}}$$

y  $c$  expresado en  $\text{mol/l}$ :

$$c = \frac{n}{6,02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{l}}{V[\text{cm}^3]}$$

Combinando:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{6,02 \times 10^{23} \cdot a \cdot b \cdot c}{2,303 \cdot 1000}$$

Finalmente, las constantes de esta ecuación se pueden reunir en una única constante:  $\varepsilon$

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot b \cdot c = A$$

### **Absortividad y Absortividad Molar.**

La absorbancia es directamente proporcional a la longitud del camino  $b$  a través de la solución y la concentración  $c$  de la especie absorbente. Estas relaciones se dan como:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Siendo  $a$  una constante de proporcionalidad llamada absortividad. La magnitud de  $a$  dependerá de las unidades empleadas para  $b$  y  $c$ . A menudo  $b$  es dada en términos de cm y  $c$  en gramos por litro, entonces la absortividad tiene unidades de  $\text{l} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Cuando la concentración se expresa en moles por litro y la longitud de la celda en centímetros, la absortividad se llama absortividad molar, se designa como  $\varepsilon$  y tiene unidades de  $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , entonces la absorbancia es:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

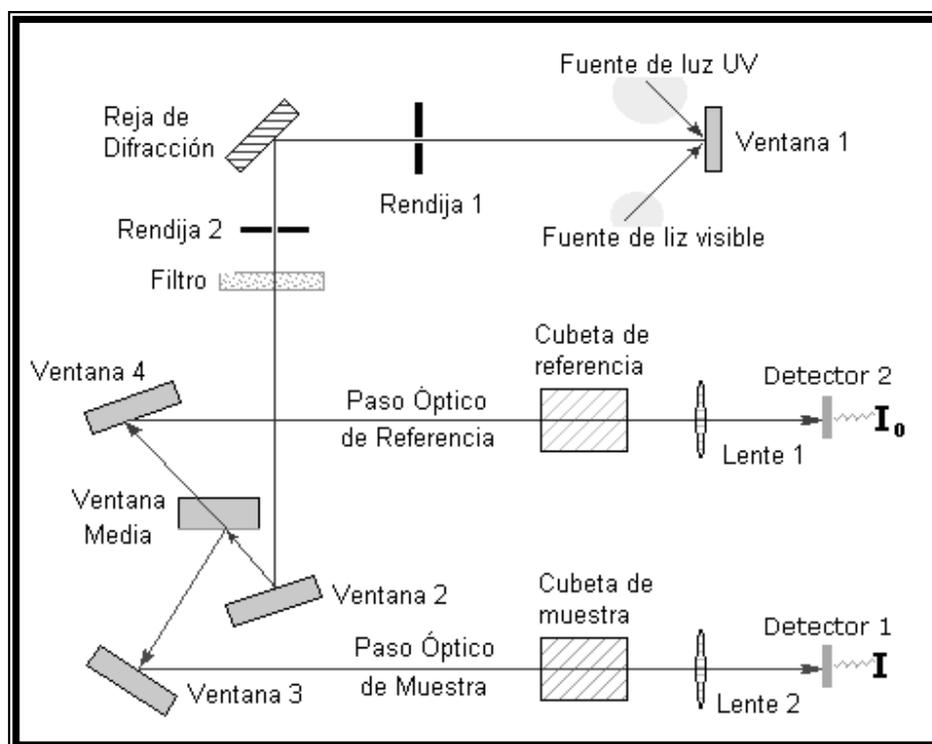
Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (**A**) en función de longitud de onda ( **$\lambda$** ), éste gráfico presenta ondulaciones con máximos y mínimos. Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima. Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer, se debe realizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (c), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.

### **1.3.2.2. Instrumentación analítica de medición. Proceso de cuantificación.**

Los instrumentos utilizados para el estudio de la absorción o emisión de la radiación electromagnética como función de la longitud de onda, son llamados Espectrómetros o más frecuentemente Espectrofotómetros. Los principios ópticos y electrónicos empleados en los instrumentos son los mismos para espectroscopía UV, Visible o IR, sin embargo hay ligeras diferencias en componentes específicos del instrumento para cada región del espectro electromagnético.

Los componentes esenciales de un espectrofotómetro son:

1. Una fuente estable de energía radiante.
2. Un sistema de lentes, espejos y aberturas (Slits), que definan, colimen (hagan paralelo) y enfoquen el haz de radiación y un monocromador que separe la radiación de bandas estrechas de longitud de onda.
3. Un componente transparente a la radiación que contenga la muestra.
4. Un detector de radiación o transductor que recibe la señal de radiación electromagnética y la convierte en una señal eléctrica de magnitud proporcional a la intensidad de la radiación recibida.
5. Un sistema amplificador que produzca o genere una señal eléctrica mucho mayor a la señal recibida.
6. Un sistema de lectura tal como: Una escala de aguja, un registrador, un sistema de dígitos o una computadora, que transforme la señal eléctrica en una señal que el operador pueda interpretar.



Esquema 1. Diagrama interno de un espectrofotómetro de UV-Vis.

### Fuentes de radiación.

Estas consisten de materiales que son excitados a niveles de mayor energía, por medio de descargas eléctricas de alto voltaje o por calentamiento. Cuando los electrones del material regresan del estado excitado al estado basal, emiten energías características correspondientes a  $\Delta E$ , la diferencia en energía entre el estado basal y el estado excitado.

Una fuente de radiación ideal, sería aquella que emitiese un espectro de igual intensidad sobre la región de interés, sin embargo la intensidad de ésta varía con la longitud de onda. Si el voltaje que suministra energía eléctrica a la fuente varía, la intensidad en la relación emitida por ésta fuente también se altera, y esto afecta las lecturas las cuales son efectuadas a intervalos. En instrumentos de doble haz la radiación que emerge de la fuente es dividida en dos:

El haz de referencia y el haz de muestra. El transductor, el cual recibe las dos señales compensa por los efectos de variación de voltaje o de intensidad en la fuente misma cancelando de ésta manera los efectos inherentes a la misma. Las fuentes de

radiación utilizadas en espectroscopía son continuas o de líneas. Las primeras tienen amplio campo de aplicación en métodos espectroscópicos basados en absorción molecular.

Fuentes de radiación ultravioleta.

Las lámparas de hidrógeno y deuterio son las fuentes más comunes de radiación UV. Estas consisten de un par de electrodos en un tubo de vidrio con ventanas de cuarzo, y que además contiene hidrógeno o deuterio gaseoso. Cuando se aplica un alto voltaje a los electrodos, ocurre una descarga de electrones, lo cual excita las moléculas de gas y éstas pasan a niveles energéticos superiores. Cuando los electrones de los átomos del gas regresan a su estado basal emiten radiación, la cual es continua en el rango de 180 a 350 nm.

Para UV es posible también utilizar la lámpara de xenón, la cual emite una radiación más intensa, sin embargo ésta no es tan estable como la lámpara de hidrógeno y de deuterio, además de que emite radiación visible lo cual interfiere en las aplicaciones en espectroscopia UV.

Monocromadores.

Como se indicó anteriormente, las fuentes de radiación emiten en forma continua sobre  $n$  determinado rango de longitudes de onda. El uso de bandas angostas de longitudes de onda de radiación tienen las siguientes ventajas:

- a) La radiación en bandas angostas permite la resolución de bandas de absorción que son muy cercanas entre sí.
- b) Con bandas angostas un pico puede ser medido a su máximo de absorción incrementando así la sensibilidad.
- c) Las bandas angostas de absorción tienden a seguir en mayor aproximación la Ley de Beer.

Con la finalidad de resolver el haz policromático en bandas angostas de longitudes de onda se emplean filtros y monocromadores.

## Filtros.

Los filtros y monocromadores son utilizados para obtener radiación de un rango angosto de longitudes de onda (radiación casi monocromática). Los filtros son materiales de un vidrio especial, el cual contiene sustancias que le dan color al vidrio y que absorben una parte de la radiación y transmiten otra. Estos filtros transmiten radiación en anchos de bandas de 20 a 50 nm aproximadamente.

Todos los monocromadores tienen:

- Una abertura de entrada.
- Unos lentes colimadores o un juego de espejos para producir un haz paralelo de radiación.
- Un prisma o rejilla como elemento de dispersión.
- Un elemento de enfoque, el cual proyecta una serie de imágenes sobre una superficie plana (el plano focal).

Adicionalmente, la mayoría de los monocromadores tienen ventanas en las aberturas de entrada y salida para proteger los componentes del monocromador del polvo y los humos corrosivos que puedan existir en el ambiente.

## Prismas.

El prisma, tal y como se ha mencionado con anterioridad separa la radiación policromática en bandas angostas y a diferentes ángulos. Para dirigir la radiación de longitud de onda seleccionada a la abertura de salida (slit) se hace girar el prisma por medio de un mecanismo acoplado para este fin.

**Materiales del Prisma.** El material del que está hecho el prisma debe ser transparente a la radiación utilizada y un excelente medio dispersor. Para el UV pueden ser utilizados prismas de sílice o de cuarzo.

## Rejillas.

Las rejillas como medio de dispersión de la luz son muy superiores a los prismas. En los instrumentos más modernos y de mejor calidad la rejilla de difracción han sustituido casi por completo el uso de los prismas como monocromadores.

Lentes y espejos.

La radiación es colimada y enfocada por lentes y espejos. El material de los lentes debe ser por supuesto transparente a la radiación utilizada.

Recipientes de muestra.

Las muestras para espectroscopia UV, Visible o IR pueden ser líquidas o gaseosas. Para UV es necesario utilizar celdas de cuarzo, ya que el vidrio absorbe radiación UV; para Visible pueden utilizarse cuarzo o vidrio común. Las celdas en UV y Visible pueden ser cilíndricas o cuadradas, y se prefieren éstas últimas por tener mejor óptica. Las celdas deben de estar marcadas para que el paso del haz de radiación sea siempre en el mismo lugar de la celda y de ésta manera compensar por imperfecciones ópticas en las paredes de la celda.

El solvente de la muestra, la cual es responsable de la absorción de la radiación, debe disolver completamente la especie y ser transparente a la región que se está estudiando.

Sistemas de detección.

Los detectores modernos general una señal como resultado de los fotones que llegan y chocan con él. Esta señal activa una aguja, envía una señal digital a un microprocesador y/o activa un graficador.

El ruido, como ya se ha mencionado anteriormente, se refiere a una señal de fondo generada por la vecindad del instrumento con otros aparatos y/o por cambios mismos en el sistema electrónico en el detector.

Un buen instrumento debe reunir los siguientes requerimientos:

- a) El ruido debe ser mínimo para que no interfiera con la señal recibida.
- b) El tiempo de respuesta debe ser corto.
- c) Debe ser estable durante un largo período de tiempo.
- d) La señal percibida debe ser fácilmente amplificada.

Los fotones con radiación de longitud de onda en visible y UV, poseen suficiente energía para causar la fotoeyección de electrones cuando chocan en superficies que han sido tratadas con compuestos específicos.

La absorción de estos fotones también puede causar que los electrones que se encuentran en la banda no conductora pasen a la banda de conducción, si el material sobre el que inciden los fotones es un semiconductor. Ambos procesos generan una corriente eléctrica que es directamente proporcional al poder radiante de los fotones absorbidos. Los detectores que utilizan este sistema se denominan detectores fotoeléctricos y son clasificados como fototubos y celdas fotovoltaicas.

Amplificación y lectura de la señal.

La señal electrónica generada por un detector de radiación, debe ser convertida a una señal que el operador del instrumento pueda leer e interpretar fácilmente.

Amplificadores.

Un amplificador toma una señal de entrada del detector y por medio de una serie de procesos electrónicos produce una señal de salida que es mucho mayor a la de la entrada. El factor de amplificación que es llamado "la ganancia del amplificador", es la relación entre la señal de salida y la señal de entrada.

Sistema de Lectura.

Una vez que la señal de energía radiante ha sido transformada en una señal eléctrica y amplificada posteriormente, dicha señal pasa a un sistema de lectura.

En algunos equipos, la señal eléctrica amplificada se procesa para darle movimiento proporcional a una aguja, la cual indica la absorbancia o transmitancia registrada, en una escala que contiene el aparato. En esta escala, la absorbancia tiene como límites de 0 a infinito, mientras que la transmitancia varía de 0 a 100%; la escala de absorbancia es logarítmica y la de transmitancia es lineal.

Ruido.

El factor limitante final en la precisión y sensibilidad de cualquier método analítico instrumental, es la presencia de extrañas señales no deseadas que se superponen a la señal generada por la sustancia determinada analíticamente estas extrañas señales son llamadas RUIDO, siendo derivada la terminología de la radioingeniería, donde la presencia de dichas señales es reconocible en forma audible (estática).

Fuentes de ruido.

El ruido está asociado con cada componente de un instrumento, esto es: la fuente, el transductor, el procesador de señal, y el sistema de lectura.

Adicionalmente el ruido generado por cada uno de estos componentes puede ser de diferentes tipos y generado de diferentes formas. Por lo tanto, el ruido observable es una mezcla compleja de señales indeseables, el cual no puede ser totalmente caracterizado. El ruido instrumental puede ser dividido en cuatro categorías generales: el ruido Jonson o ruido térmico; el ruido por golpeteo de electrones; el ruido Flicker y el ruido ambiental.

### 1.3.3. Criterios para evaluar los parámetros de desempeño del sistema y del método.

#### Validación de sistema.

PARÁMETRO DE FUNCIONAMIENTO	METODOLOGÍA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Precisión	A partir de una solución stock, preparar por sextuplicado el nivel del 100%.	El coeficiente de variación no debe ser mayor al 1.5% o no debe ser mayor a la amplitud de los límites de especificación entre 4.
Linealidad	A partir de una solución stock, preparar una curva con 5 niveles de concentración por triplicado.	$r^2$ = Coeficiente de determinación $\geq 0.98$ IC( $\beta_1$ )= Intervalo de confianza para la pendiente: no debe incluir el cero para la respuesta analítica.
Estabilidad de la Muestra	A partir de una solución stock, preparar por triplicado el nivel del 100%, tomar la lectura y guardar las muestras a dos condiciones de temperatura (ambiente y refrigeración) por 24 horas.	$d_i \leq 2\%$ .

#### Validación del método.

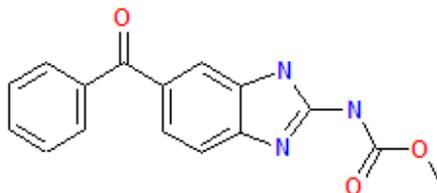
PARÁMETRO DE FUNCIONAMIENTO	METODOLOGÍA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Especificidad	Someter al placebo al método analítico.	El placebo no debe interferir en la determinación del activo Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico. Si la señal no se ve modificada por el placebo, el método es específico
Exactitud y Repetibilidad al 100%	Preparar placebo cargado al 100% por sextuplicado y someter al método analítico	Exactitud : IC debe incluir 100% ó el promedio del % de recobro debe estar incluido en el intervalo del 98.0-102.0% Para la repetibilidad del método el valor de CV $\leq 2.0\%$
Linealidad	Preparar placebo cargado al 80, 100 y 120% por triplicado	$r^2$ = Coeficiente de determinación $\geq 0.98$ IC( $\beta_1$ )= Intervalo de confianza para la pendiente: debe incluir la unidad IC( $\beta_0$ )= Intervalo de confianza para la ordenada: debe incluir el cero CV $\leq 2\%$
Precisión Intermedia	Analizar dos químicos en dos días una muestra homogénea de producto terminado por triplicado	CV $\leq 2\%$
Estabilidad Analítica de la muestra	Procesar por triplicado una muestra homogénea. Fraccionar cada una de las preparaciones de acuerdo a las condiciones de almacenaje de interés (ambiente y refrigeración). Proseguir el análisis de cada una de las fracciones al término de cada condición de almacenaje (después de 24 h)	$d_i \leq 2\%$

### 1.3.4 Propiedades generales del mebendazol

Actividad terapéutica	Mecanismo de acción	Farmacocinética
Actividad antihelmíntica de amplio espectro	Inhibe la síntesis microtubular en los nematodos, deteriorando así de manera irreversible la captación de glucosa.	El mebendazol es poco absorbido desde el tracto gastrointestinal. Es metabolizado en el hígado, eliminado por la bilis como metabolito y en parte inalterado y se excreta en las heces. Sólo alrededor del 2% de la dosis se excreta inalterada o como metabolito en la orina.

principio activo	Descripción físicas de su estado sólido	Fórmula empírica	Nombres alternativos, sinónimos	Peso Molecular (g/mol)	Punto de Fusión (°C)	Clase de compuesto	Solubilidad
Mebendazol	Polvo, blanco a amarillo.	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	Carbamato de metil-5-benzoil-2-bencimidazol	295.3	280 - 290 °C	Bencimidazol sintético	Insoluble en: agua, etanol, cloroformo, éter. Muy soluble en ácido fórmico.

Estructura química del Mebendazol.



### 1.3.5. Polimorfismo del Mebendazol.

El polimorfismo se define como la capacidad de una sustancia de existir en dos o más fases cristalinas que tienen diferentes arreglos y/o conformación de las moléculas en el cristal, lo que repercute en sus propiedades fisicoquímicas, además de requerir diferentes condiciones y parámetros de formulación, proceso y estabilidad, tanto del fármaco como de los excipientes.

Generalidades del polimorfismo.

Los polimorfos presentan las mismas propiedades en estado líquido o gaseoso, pero se comportan de forma distinta en estado sólido. Las sustancias sólidas se pueden describir por su apariencia externa (conocida como hábito cristalino) o por su estructura interna (como cristal o amorfo). En estado sólido, los átomos de una moléculas pueden arreglarse en una de siete formas cristalinas fundamentales: triclinica, monoclinica, ortorrómbica, tetragonal, trigonal, hexagonal o cúbica. El estado amorfo es característico por "cristalizar" en desorden, en un sistema aleatorio, relacionado con el estado líquido. Existen dos tipos de polimorfismo: enantiotrópico y monotrópico; en el caso de los polimorfos monotrópicos, la transición exotérmica sólido – sólido de la forma metaestable a la estable solo ocurre en una dirección y no es reversible; sin embargo en los polimorfos enantiotrópicos esta transición es reversible. Se presenta pseudopolimorfismo cuando, al cristalizar la sustancia, incluye de manera estequiométrica el disolvente con el que entro en contacto (llamado solvato), siendo el agua el disolvente mas usado en los productos farmacéuticos, formándose normalmente hidratos. El disolvente se puede incorporar en el cristal durante el proceso de cristalización, liofilización, granulación recubrimiento, secado o durante el almacenamiento. La incorporación de la (s) molécula(s) del disolvente en la red cristalina modifica la celda unitaria del cristal con respecto al cristal anhidro, generando un solvato con propiedades químicas diferentes

La nomenclatura de los polimorfos no existe un sistema internacional convencional, sin embargo, una manera de denotar la forma polimorfita de mas alto punto de fusión es utilizando el numero romano I, esta es generalmente la mas estable y la menos soluble, y las diferentes formas menos estables en el orden decreciente de su temperatura de fusión se denominan con los numeros II, III, etc. otra clasificación es de acuerdo con el orden de descubrimiento de la forma cristalina empleando también letras griegas (alfa, beta, etc) denotando alfa a la primera forma descubierta. Este último sistema se ha utilizado particularmente para ácidos grasos, alcoholes y ésteres.

Debido a que las diferentes formas polimórficas presentan propiedades diferentes, éstas pueden afectar en gran medida los análisis rutinarios, tales como pruebas de disolución y desintegración, que están fuertemente asociadas a las propiedades intrínsecas de los activos en las diversas formas farmacéuticas sólidas orales.

### **1.3.6. Importancia veterinaria del Mebendazol.**

Los parásitos en general son el principio de innumerables problemas debido a los efectos que provoca en el ganado. Existe una competencia por los nutrientes con el hospedador, una destrucción o transformación de tejidos dentro del hospedador, efectos de toxinas, venenos y secreciones, así como una interferencia mecánica. Uno de los efectos más importantes es la inmunosupresión. Ésta puede venir provocada como consecuencia de la patología provocada por el parásito, o bien como consecuencia de un sistema inmunosuprimido de una estimulación continua de distintos antígenos.

La incidencia de parasitosis pulmonares en ovinos, también llamadas bronconeumonías verminosas es medianamente alta en nuestro país y afecta mayoritariamente a animales en extensivo o semiextensivo.

El descubrimiento hecho por Brown y colaboradores (1961), de que tiabendazol poseía actividad potente contra nemátodos gastrointestinales, fue el punto de partida para obtener bencimidazoles como antihelmínticos de amplio espectro contra parásitos de importancia en la medicina veterinaria y clínica. Entre los cientos de derivados probados, los que mayor utilidad terapéutica y el que nos compete, son aquéllos que tienen modificaciones en las posiciones 2 y 5 o en ambas del anillo del bencimidazol; varios de éstos compuestos entre ellos el mebendazol han sido utilizados ampliamente en la erradicación de la helmintiasis humana.

## **Diseño experimental.**

### **2.1. Metodología.**

#### **2.1.1. Descripción del Procedimiento del Método Analítico para la cuantificación de Mebendazol en formas farmacéuticas sólidas por espectrofotometría de Ultravioleta – Visible.**

##### **Preparación de la muestra.**

(Por triplicado) Para la determinación del contenido de principio activo, tomar una tableta, pulverizar en un mortero de porcelana y pesar cuantitativamente en un vaso de precipitado el equivalente a 10mg por tableta, posteriormente agregar 5ml de ácido acético glacial, y dejar en agitación por un periodo de 10 minutos. Trasvasar cuantitativamente a un Matraz Erlenmeyer de 50ml y aforar con alcohol Isopropílico. Medir la absorbancia de la muestra a una longitud de 311nm.

##### **Preparación del estándar de Referencia.**

Pesar el equivalente a 10mg de Mebendazol, transferir cuantitativamente a un vaso de precipitado y adicionar 5mL de ácido acético glacial, y dejar en agitación por un período de 10 minutos. Trasvasar cuantitativamente a un Matraz Erlenmeyer de 50mL y aforar con alcohol Isopropílico. Medir la absorbancia de la muestra a una longitud de 311nm.

##### **Preparación del blanco de reactivo.**

Tomar 0.6ml de ácido acético glacial y adicionar a 50ml aforando con alcohol Isopropílico. Leer al igual que la muestra y estándar de referencia a una longitud de 311nm.

## **2.2. Control de Producto Terminado.**

Una vez que se tiene el producto terminado se debe realizar un control de éste para verificar que todos los parámetros están conforme a lo especificado y estar seguros que el producto que será empleado en animales se encuentra en óptimas condiciones de uso.

Si al realizar el control en éste caso, del análisis del contenido de activo en el producto terminado y se encuentra algún parámetro no conforme, es conveniente que el personal del laboratorio reúna la evidencia necesaria para justificar que el producto no cumple con los criterios de aceptación establecidos.

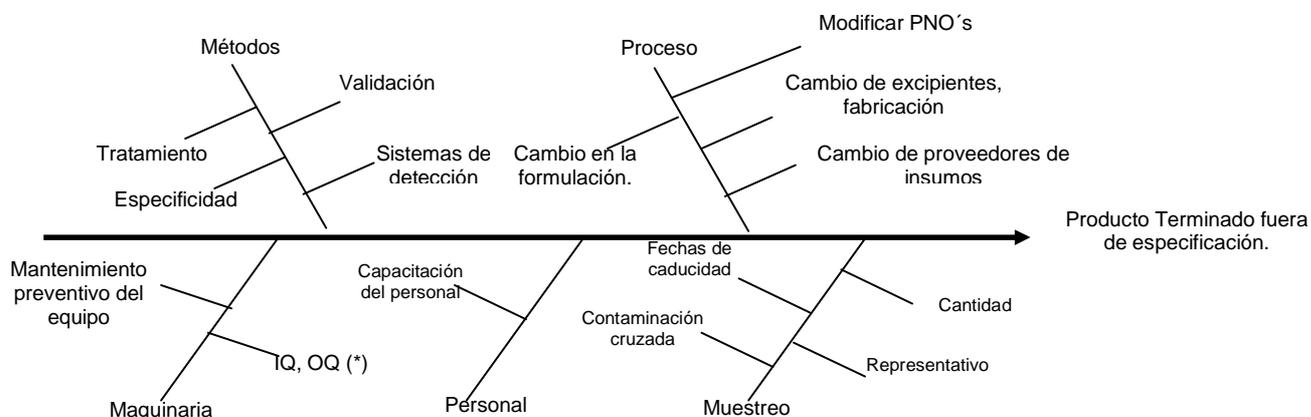
Al realizar el control se deben considerar las metodologías correctas para llevar los diversos análisis de un producto terminado y seguir el orden de adición de reactivos y manipulación del producto terminado como lo indica el procedimiento.

Si se ha presentado una no conformidad, es decir, cuando no se cumplen con los estándares y criterios de aceptación, se puede comenzar el análisis de la no conformidad con ayuda de herramientas para el control de calidad propuestas por Ishikawa en 1976.

Para el estudio de las causas de una no conformidad se toma como referencia la emisión de los resultados analíticos que son empleados como criterios de aceptación, por lo que dada su importancia y trascendencia, éstos deben ser confiables, por lo tanto, plantearse las distintas situaciones en las que el método puede perder confiabilidad, nos provee información rápida de si el proceso de análisis o el (los) proceso (s) anteriores a él, son los que presentan posibles no conformidades.

Se eligió un diagrama de Ishikawa que nos permite visualizar en forma rápida, todas las causas raíces que pueden originar una pérdida en la confiabilidad y capacidad predictiva del método analítico.

Diagrama de Ishikawa para productos fuera de especificación.



(\*) IQ Calificación de Instalación, OQ Calificación de Operación.

### 2.3. Plan de Prueba experimental para la evaluación de la Linealidad y Precisión del Sistema.

A partir de una solución estándar de referencia prepara una curva con 5 niveles de concentración por triplicado.

Nivel (%)	Concentración (µg/mL)	Volumen a preparar (mL)	µg de estándar en cada matraz	Alícuota (mL)	Concentración obtenida	Concentración de la solución Estándar de Referencia (µg/mL)	No. de replicas	Volumen requerido
50	5,0	50	250	1	7,0	250µg/mL	3	3
75	7,5	100	750	3	7,5		3	9
100	10,0	50	500	2	10,0		6	12
125	12,5	100	1250	5	12,5		3	15
150	15,0	50	750	3	15,0		3	9

Volumen total de Solución Estándar de Referencia necesario (mL) :	48 mL
Por duplicado:	96 mL
Redondeado.	200 mL
Estándar a pesar.	250mg
 Volumen del diluyente requerido:	 1500mL

Estándar de Mebendazol  
 Lote: 440102-OW  
 Pureza: 99,56%

Esquema de dilución para la Solución Estándar de Referencia.

50 mg Mebendazol → 200 mL [250 µg/mL]

NOTA: El nivel al 100% se prepara por sextuplicado ya que se emplearan tres de ellos para la linealidad del sistema y los 6 para la precisión del sistema.

## 2.4 Plan de Prueba Experimental para la Evaluación de la Exactitud y repetibilidad.

Linealidad del método, exactitud y repetibilidad al 100%.

Nivel (%)	Concentración (mg / mg Tableta)	Cantidad a preparar (mg)	Principio Activo por adicionar (mg)	No. de replicas	
80	0.266	75	20	3	
100	0.333	75	25	6	
120	0.400	75	30	3	Unidad
Cantidad necesaria de principio activo:				300	mg
Cantidad necesaria de placebo				900	mg

## **2.5. Plan de Prueba experimental para la Estabilidad de la muestra.**

A partir de una Solución Estándar de Referencia, preparar por triplicado el nivel del 100%, tomar la lectura y guardar las muestras a dos condiciones de temperatura: ambiente y refrigeración por 24 hrs.

Temperatura ambiente:	19° C por 24 hrs.
Temperatura de refrigeración:	7° C por 24 hrs.

Para la exactitud y repetibilidad al 100% se utilizaran los seis placebos cargados al 100%.

## **2.6. Plan de Prueba experimental para la evaluación de la Precisión Intermedia.**

Con un producto terminado aprobado dos químicos analizarán en dos días una muestra homogénea por triplicado.

## **2.7. Plan de Prueba experimental para la evaluación de la Especificidad.**

Se someterá el placebo, el estándar y producto terminado a condiciones variadas de temperatura (Temperatura ambiente, a 19°C y 7°C) por 24 horas y se reanalizarán para determinar que el placebo, las impurezas y productos de degradación, si existieran, no deberán interferir en la determinación del activo.

### **3. Criterios de Aceptación.**

#### **3.1. Precisión del sistema**

El coeficiente de variación no debe ser mayor al 1.5% o no debe ser mayor a la amplitud de los límites de especificación entre 4

#### **3.2. Linealidad del Sistema**

El coeficiente  $r^2$  debe ser por lo menos de 0.98

El intervalo de confianza para la pendiente, no debe incluir el cero.

El intervalo de confianza para la ordenada al origen determina solo para sistemas en los cuales la respuesta: es directamente proporcional a la concentración o cuando a concentración cero, la respuesta es cero.

El intervalo de confianza para la ordenada al origen, debe incluir el cero.

#### **3.3. Exactitud y Repetibilidad al 100%**

IC debe incluir 100% ó el promedio aritmético del porcentaje de recobro debe estar incluido en el intervalo del 98.0% - 102.0 %

La repetibilidad del método el valor de C.V. debe ser  $\leq 2.0$  %

#### **3.4. Linealidad del Método**

El coeficiente  $r^2$  debe ser mayor a 0.98

La pendiente de la recta debe ser estadísticamente igual a uno

La ordenada al origen debe ser estadísticamente igual a cero

#### **3.5. Precisión Intermedia**

El CV  $\leq 3\%$

No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra.

#### **3.6. Especificidad**

Si el método es exacto y lineal, el método es específico

Si la señal analítica no se ve modificada por el placebo, el método es específico.

Un análisis espectral en un intervalo de longitud de onda adecuado, no debe presentar ninguna impureza traslapada con el principio activo.

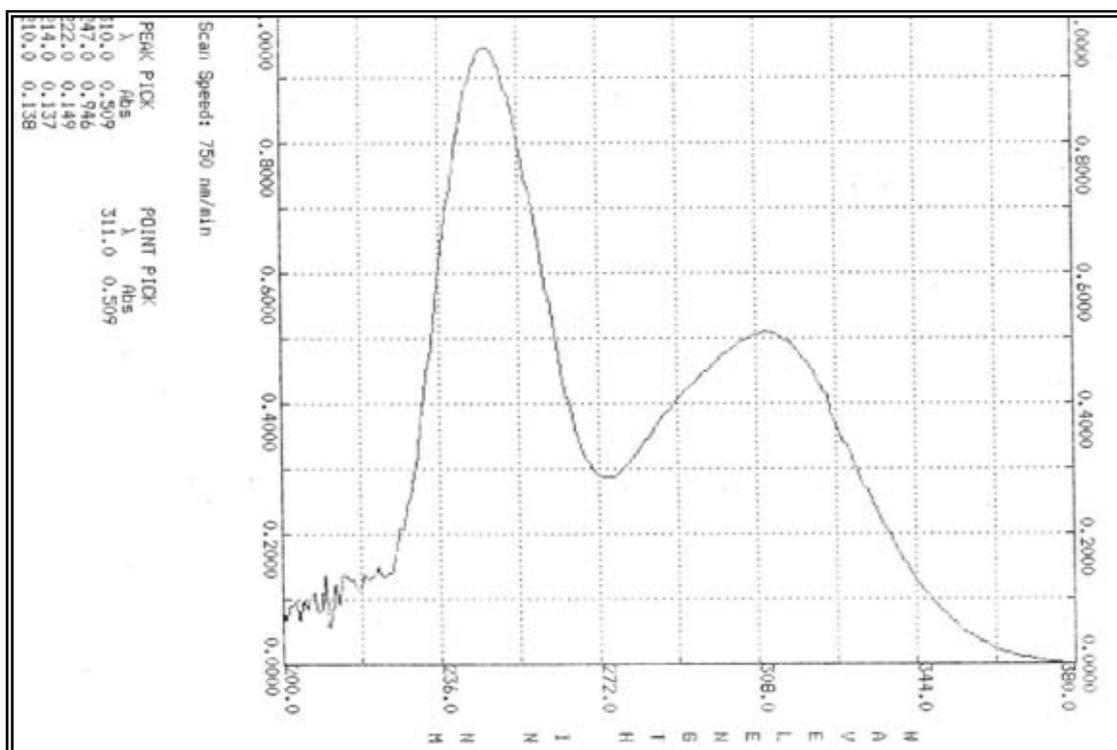
## 4. Resultados.

### 4.1. Especificidad.

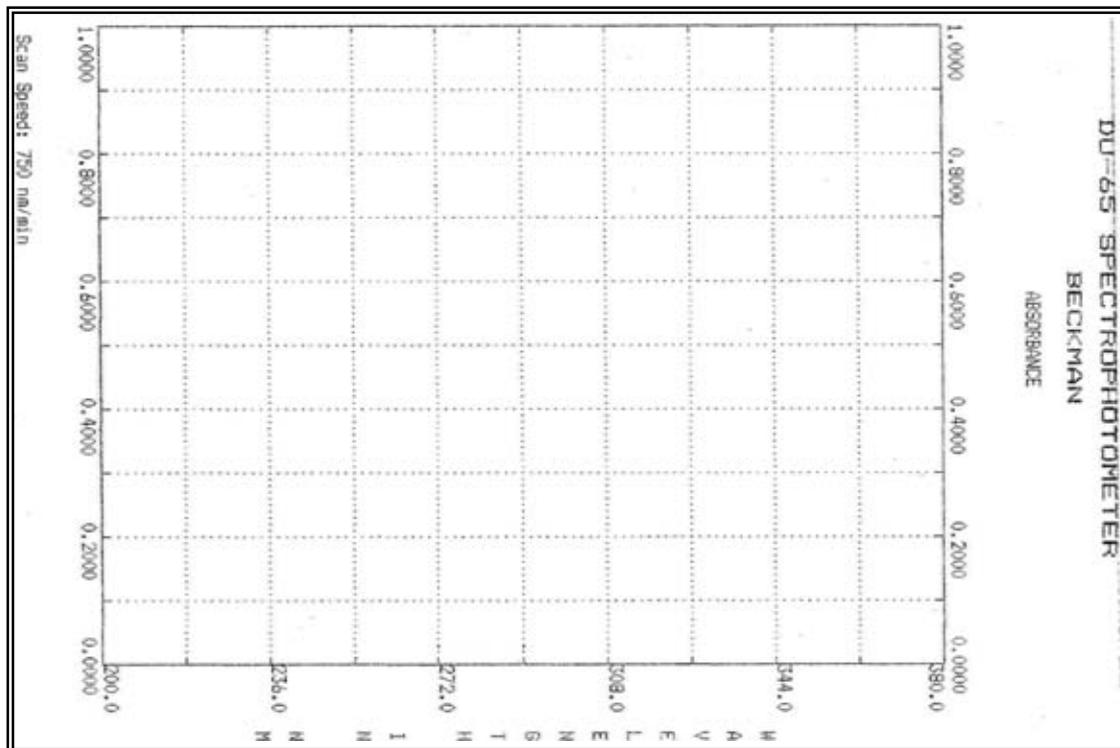
Se realizó un barrido en el rango de 200 a 400nm, para observar los máximos de absorción correspondientes al Mebendazol.

Placebo: No presenta interferencias analíticas en el rango de estudio.  
Estándar de Mebendazol: Presenta una  $\lambda_{\text{máx}}$  311nm.

Muestra	Resultados.
Placebo del producto terminado.	El placebo no presenta señal analítica
Estándar de Mebendazol.	Presenta un máximo de absorción a 311nm.



Espectro 1. Barrido en la región Ultravioleta del estándar de Mebendazol de una longitud de 200 a 400nm, en un Espectrofotómetro UV-Vis DU-65, Marca Beckman. Absorbancia vs longitud de onda (nm).



Espectro 2. Barrido en la región Ultravioleta del placebo analítico del producto terminado de Mebendazol de una longitud de 200 a 400nm, en un Espectrofotómetro UV-Vis DU-65, Marca Beckman. Absorbancia vs longitud de onda (nm).

#### 4.2. Precisión del Sistema.

CANTIDAD ADICIONADA [mcg/mL]	RESPUESTA DE LA SOLUCION DE REFERENCIA (ABSORBANCIA 311nm )
9,96	0.4960
9,96	0.4970
9,96	0.4890
9,96	0.4900
9,96	0.4880
9,96	0.4890

$\sum y =$	2.9490
$\sum y^2 =$	1.4495
$n =$	6
<i>Media =</i>	0.4915
<i>S =</i>	0.003937
<i>CV =</i>	0.80%
<b><i>El CV. No excede el 1.5%</i></b>	

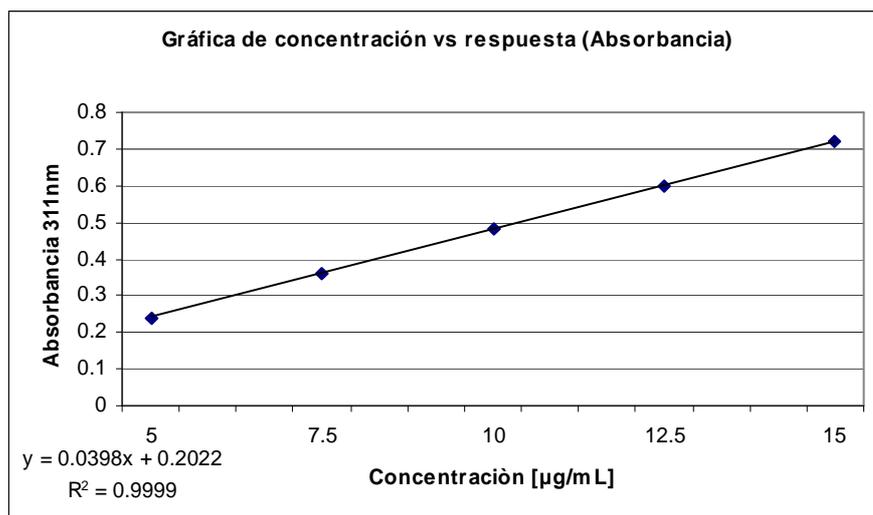
### 4.3. Linealidad de Sistema.

		CONCENTRACIÓN <b>TEORICA</b> (MG/ ML)	ABSORBANCIA (RESPUESTA)
Nivel 1. 50%	Cantidad teórica adicionada	5,0	0,2440
		5,0	0,2400
		5,0	0,2380
Nivel 2. 75%		7,5	0,3640
		7,5	0,3640
		7,5	0,3550
Nivel 3. 100%		10,0	0,4900
		10,0	0,4740
		10,0	0,4890
Nivel 4. 125%		12,5	0,6080
		12,5	0,6000
		12,5	0,5880
Nivel 5. 150%		15,0	0,7260
		15,0	0,7160
		15,0	0,7130

$$\begin{aligned} \sum x &= 150 \\ \sum y &= 7.209 \\ \sum x^2 &= 1563.75 \\ \sum y^2 &= 3.892203 \\ \sum xy &= 77.9845 \\ n &= 15 \\ b_1 &= -0.1518 \\ b_0 &= -1.95306 \\ \text{COEFICIENTE DE DETERMINACION } r^2 &= 0.996296 \end{aligned}$$

INTERVALO DE CONFIANZA  
PARA LA PENDIENTE:

$$\begin{aligned} S_{y/x} &= 0.35633179 \\ Sb_1 &= 0.0288643 \\ t_{0.975,13} &= 2.160 \\ IC (b_1) &= -0.08945 \\ &= -0.21414 \end{aligned}$$



#### 4.4. Estabilidad analítica del estándar.

Contenido del analito en %			
Muestra	Inicial ( $\hat{y}_0$ )	Tiempo de almacenamiento	
		24 hrs a Temperatura Ambiente ( $\hat{y}_1$ )	24 horas a Temperatura de Refrigeración ( $\hat{y}_2$ )
1	103,63	100,47	100,89
2	103,83	101,52	101,52
3	102,15	102,78	102,78

$\Sigma y_0$	309.6
$\Sigma y_1$	304.77
$\Sigma y_2$	305.19
$n_0$	3
$n_1$	3
$n_2$	3
$\hat{y}_0$	103.2
$\hat{y}_1$	101.59
$\hat{y}_2$	101.73

$ d_1 $	1.61	<b><u>El valor no excede el 2.0%</u></b>
$ d_2 $	1.47	<b><u>El valor no excede el 2.0%</u></b>

#### 4.5. Precisión del Método.

PLACEBO ADICIONADO	CANTIDAD ADICIONADA (mg)	CANTIDAD RECUPERADA (mg)	% DE RECOBRO
1	25,2	25,64	101,74
2	24,9	25,59	102,77
3	25,1	25,01	99,64
4	24,8	25,01	101,85
5	25,7	25,74	100,15
6	25,5	25,43	99,72

$\Sigma y$  605,682  
 $n$  6  
 $\bar{y}$  100,94  
 $S$  1,31  
 $CV$  1,29 **El CV no es mayor del 2,0%**

$t_{0,975,13} =$  2,571  
 $IC (\mu)$  101.125 **El intervalo incluye el valor del 100%**  
 98,31

#### 4.6. Exactitud, repetibilidad y linealidad de método.

	CANTIDAD ADICIONADA	CANTIDAD RECUPERADA	% RECUPERACION
1	20,3	20,69	101,92
2	20,3	20,69	101,92
3	20,6	20,33	98,69
4	25,5	26,01	102,0
5	25,8	26,27	101,84
6	26,5	26,17	98,75
7	31,5	31,63	100,41
8	31,5	31,37	99,60
9	30,1	31,11	103,35

n	9
$\Sigma x$	232,1
$\Sigma y$	234,281
$\Sigma xy$	6214,5561
$\Sigma x^2$	6157,19
$\Sigma y^2$	6273,94
$b_1$	1.0065
$b_0$	0,07392

#### INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE

$t_{0,975,7}$	2.365
$S_{b_1}$	0,0387
$S_{x/y}$	0,4144
IC ( $\beta_1$ )	1.0446
	0,8617

**El intervalo incluye la unidad.**

COEFICIENTE DE DETERMINACION $r^2$	0,9915
---------------------------------------	--------

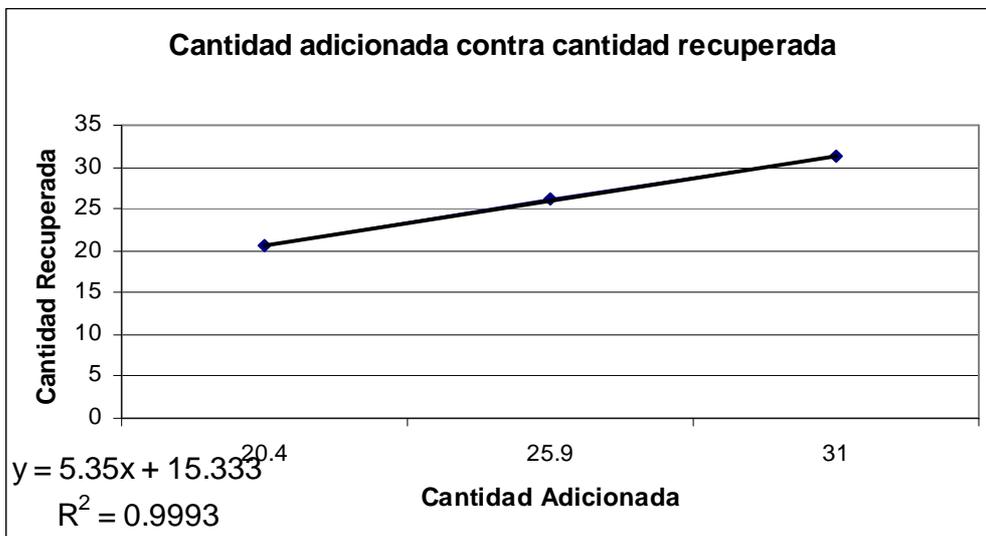
#### INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA

<b><u>MEDIA x</u></b>	25.788
$S_{b_0}$	0.9774
IC ( $\beta_0$ )	2.838471
	-2.237631

**El intervalo incluye al cero.**

<b><u>Media y</u></b>	26.03
<b><u>CV y/x</u></b>	1.8804

**El valor no excede el 2,0%**



#### 4.7 Precisión Intermedia.

Producto terminado

Fecha de Elaboración: 01 JUNIO 2006

Fecha de Caducidad: 30 JUNIO 2010

FECHA	DIA	ANALISTA 1	ANALISTA 2
		QFB Saúl Jiménez Jiménez	QFB José Luis Reza Navidad
VALORACION			
30 Agosto del 2006	1	10,089	10,215
		10,089	10,594
		10,278	10,236
31 de Agosto del 2006	2	10,825	9,8364
		10,636	10,110
		10,846	10,236

$\Sigma y$  123,99

n 12

$\hat{y}$  10,332

$\Sigma y^2$  1282,25

S 0,3185

CV 3,0%

**El CV ≤ 3,0%**

#### 4.8. Estabilidad analítica de la muestra

Muestra	Inicial ( $y_0$ )	24 hrs a T ambiente ( $y_1$ )	24 hrs a T ambiente ( $y_2$ )
1	108,04	108,25	110,14
2	107,83	106,36	107,62
3	109,09	108,46	109,72

$\Sigma y_0$  324,96

$\Sigma y_1$  323,07

$\Sigma y_2$  327,48

$n_0$  3

$n_1$  3

$n_2$  3

$\hat{y}_0$  108,32

$\hat{y}_1$  107,69

$\hat{y}_2$  109,16

$|d_1|$  0,63

$|d_2|$  0,84

**El valor no excede el 2,0%**

## **5. Conclusiones.**

Se validó el método analítico para la determinación del contenido de Mebendazol en tabletas de 500mg por Espectrofotometría UV-Vis.

El método analítico para la cuantificación de Mebendazol en formas farmacéuticas sólidas por espectrofotometría de Ultravioleta – Visible es específico, ya que no existe interferencia de los excipientes y reactivos analíticos a una longitud de 311nm.

El método analítico es lineal en un intervalo de concentración de 80 al 120% de la concentración de activo.

El método analítico es exacto en un intervalo de concentración de 80 a 120 % de la concentración teórica.

El método analítico es preciso, ya que presenta un CV menor a 2.0% de acuerdo a las especificaciones propuestas.

El método analítico es reproducible, ya que al realizarse la determinación por dos analistas químicos, el método presenta un coeficiente de variación menor o igual al 3.0%.

La solución de referencia de mebendazol es estable por lo menos 24hrs en refrigeración y 24 hrs a temperatura ambiente.

El método Analítico validado puede utilizarse en el laboratorio de Control de Calidad, para la cuantificación de mebendazol en formas farmacéuticas sólidas.

El método espectrofotométrico empleado para la valoración de Mebendazol en Tabletas está validado debido a que cumple con las especificaciones para cada uno de sus parámetros.

De acuerdo a los objetivos planteados se demostró de manera experimental que el método propuesto para cuantificar mebendazol en formas farmacéuticas sólidas orales cumple con los requerimientos de validación y es apto para el fin creado.

## 6. Referencias.

Bravo Hernández, Violeta Luz María, Desarrollo y Validación de un Métodos Analítico para control de calidad, en el cual se cuantifiquen mebendazol, niclosamida y tinidazol en tabletas mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, 1992.

Castillo Marin Ruíz, Ma. De Lourdes, Evaluación de la función hepática en perros tratados con mebendazol .Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1993.

González Carrillo, Leticia, Estudio monográfico del mebendazol, Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Química, 1980.

High-performance liquid chromatographic assay for the anthelmintic agent mebendazole in human plasma, Alton K. B. et. al. Journal of Pharmaceuticals Sciences, USA, **68**, 880-882, (2006).

High performance liquid chromatography method for determination of methyl-5-benzoyl-2-benzimidazole carbamate (mebendazole) and its main degradation product in pharmaceutical dosage forms, Z.-Al Kurdi et. al., Talanta, **50**, 1089-1097, (1999).

Handbook of drugs for tropical parasitic infections, Yakoub Aden Abdi, Taylor & Francis, 2<sup>nd</sup> Edition, Pp 78-81, 1995.

ICH Q2A, Guideline for Industry Text on Validation of Analytical Procedures, 1995, March.

ICH Q2B, Guideline Validation of Analytical Procedures Methodology Comments for its application, 1996.

López Marín, Luz María, Determinación de Mebendazol en suspensiones Tesis de Licenciatura, UNAM , Facultad de Química, 1988.

Medina Morales Sandra Rocío, Desarrollo y Validación de un método analítico para la determinación de albendazol, en una presentación farmacéutica. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, 2006.

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993 Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PROY-NOM-059-SSA1-2004, BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN PARA ESTABLECIMIENTOS DE LA INDUSTRIA QUÍMICO FARMACÉUTICA DEDICADOS A LA FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS (MODIFICA A LA NOM-059-SSA1-1993, PUBLICADA EL 31 DE JULIO DE 1998).

Norma Oficial de Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas Prácticas de Fabricación de Fármacos.

Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993 Estabilidad de Medicamentos

Norma Oficial Mexicana NOM-012-ZOO-1993 Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos

The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit, EMEA, Mebendazol, Summary Report, July, 1999.

Radonvancich, Débora, et. al., Cuantificación de Mebendazol por Kjeldahl, Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2005, Resumen E-060.

Reglamento de Insumos para la Salud. Título Segundo, Insumos, Sección Primero, Características y Condiciones Sanitarias, Art. 15)

Reglamento de Insumos para la Salud. Título Segundo, Insumos, Sección Primero, Características y Condiciones Sanitarias, Art. 15)

Solano Coello, Dora Lilian, Efecto del nitroscanato, piperacina y mebendazol en la reducción de huevos de *Toxocara canis* y reinfestación en perros, Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1993.

The Merck Index, 10<sup>a</sup>ed. (1983).

Villa Palato, Héctor Martín, Caracterización del estado sólido de distintos recristalizados de mebendazol. Tesis licenciatura, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 1994.

## 7. Glosario.

**Análisis cuantitativo.** Análisis cuantitativo en el NIR que es ejecutado usando técnicas de regresión estadística para proveer información química acerca de la composición de una matriz en particular.

**Coefficiente de correlación.** Una medida de la relación linear entre dos variables. Un valor de uno implica que hay una relación linear entre las dos variables. Un valor de cero implica que no hay relación entre las variables.

**Especificaciones.** Descripción del material, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.

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

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

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

**Estándar de calibración.** Usado para crear el modelo de un método durante la calibración. En el TQ Analyst, los estándares de calibración son usados para calcular la curva de corrección, si son especificados para tal función.

**Intervalo.** Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.

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

**Ley de Lamber - Beer.** Ley matemática que establece que la absorbancia se incrementa en proporción a la concentración.

$$A = a \cdot b \cdot c$$

A = Absorbancia

a = Absortividad (constante)

b = Paso óptico

c = concentración.

**Método analítico.** Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar acabo el análisis de un componente específico de la muestra.

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

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

**Muestra.** Porción de material a evaluar.

**Parámetros de desempeño.** Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.

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

**Proporcionalidad.** Relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.

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

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

**Protocolo de validación.** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.

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

**Rango de análisis.** Es el rango de concentración de un componente que se describe en un método.

**Recobro.** Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico.

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

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

**Revalidación.** Comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño cuando existen cambios en la composición del producto, en el método analítico, o cambios críticos en los procesos de fabricación.

**Robustez.** Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación.

**Sustancia de referencia.** Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas y microbiológicas en el

transcurso de las cuáles sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

### Abreviaturas

$b_1$	Pendiente
$b_{11}$	Pendiente del método 1
$b_{12}$	Pendiente del método 2
$b_0$	Ordenada al origen
BPF	Buenas Prácticas de Fabricación
CV (DER)	Coefficiente de variación o Desviación Estándar Relativa
$CV_{Y/X}$	Coefficiente de Variación de Regresión
$d_i$	Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial
g	gramos
gl	grados de libertad
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.
mg	miligramos
n	número de mediciones
$r^2$	Coefficiente de determinación
S	Desviación estándar
$S^2$	Varianza
$t_{0.975, gl}$	Valor de la distribución de t de student asociado a una confianza del 95% y a grados d libertad (gl) establecidos.