

24.22



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZARAGOZA**

**VALIDACION DEL METODO ANALITICO COMO CONTROL  
DE CALIDAD PARA LA CUANTIFICACION DE LA  
5-7-DIYODO-8-HIDROXIQUINOLEINA  
EN TABLETAS.**

**T E S I S**  
**PARA OBTENER EL TITULO DE:**  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**  
**P R E S E N T A**  
**EVA LEON FIERROS**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**1987 - 1988**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

## INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
1. Fundamentación	2
1.1 Importancia de la Espectroscopía	2
1.2 Espectroscopía de absorción	2
1.2.1 Definición	2
1.2.2 Consideraciones	2
1.3 Validación	5
1.3.1 Definición	5
1.3.2 Objetivos	5
1.3.3 Guía para la validación	6
1.4 5,7-Diyodo-8-Hidroxiquinoleina	10
1.4.1 Propiedades físicas y químicas	10
1.4.2 Propiedades farmacológicas	11
2. Planteamiento del problema	13
3. Objetivos	14
4. Hipótesis	15
5. Método Experimental	16
5.1 Material y Equipo	16
5.2 Parte experimental	17

## INDICE

	Página
6. Resultados .....	24
7. Discusión de Resultados .....	41
8. Conclusiones .....	43
BIBLIOGRAFIA .....	44
APENDICE	

## INTRODUCCION

Los problemas que presenta el análisis farmacéutico es cada día mayor debido al incremento de nuevos productos, con moléculas activas y excipientes que requieren de métodos de análisis apropiados. Es por eso que ahora se cuenta con instrumentos analíticos más sofisticados, de gran precisión y sensibilidad, que puede ayudar a resolver los problemas analíticos que se presenten siempre y cuando se elija la técnica apropiada. (13)

Una vez encontrada la técnica apropiada, se busca si está puede proporcionar resultados confiables, lo cual podrá conseguirse mediante la validación adecuada del método.

Esta validación es el proceso por el cual queda establecido la exactitud por estudios experimentales y se establece la variabilidad del método. (7)

Es por eso que el presente trabajo lleva como finalidad la validación del método analítico para cuantificar la 5,7-diyodo-8-hidroxiquinoleina en tabletas, el cual es un fármaco ambicida usado en el tratamiento de las infecciones intestinales (9,10).

La validación de dicho método demostró que éste es específico, lineal, exacto, y preciso para la cuantificación de la 5,7-diyodo-8-hidroxiquinoleina y así ser usado como un método de control de calidad.

## 1. FUNDAMENTACION

### 1.1 Importancia de la espectroscopía.

Una de las técnicas que ayuda a la química analítica es la espectroscopía que utiliza para determinar materiales desconocidos, tanto puros como impuros.

Estas medidas detectan la presencia o ausencia de diferentes elementos o grupos funcionales, o bien, proporcionan información en relación a la estructura de lo que está analizando. (3)

### 1.2 Espectroscopía de absorción.

#### 1.2.1 Definición

Es la medida de una interacción entre la radiación electromagnética de la molécula o átomo de una sustancia química. ( 16 )

#### 1.2.2 Consideraciones

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, de acuerdo con ciertas limitaciones, las cuales dependen de la estructura de la molécula. Las moléculas poseen energía debida al movimiento y a la rotación. Además poseen una configuración electrónica que se manifiesta en forma de energía electrónica. Por lo expuesto anteriormente cada molécula tiene cuantizada su

energía, si la molécula pasa desde uno de sus niveles de energía permitido hasta otro más bajo, se libera cierta energía, esta energía se puede perder como radiación y entonces se dice que se ha producido emisión de radiación. Si se permite que una molécula encuentre una radiación - electromagnética apropiada de manera que la energía de la molécula se eleve desde un nivel a otro superior, se dice que ha ocurrido una absorción de radiación. También otras características importantes en las moléculas orgánicas en las regiones de ultravioleta y visible son la posición de las bandas de absorción y su intensidad para observar la medida de la energía necesaria.

En general se eligió un método espectrofotométrico el cual la longitud de onda para un determinado análisis se selecciona de tal manera que el material de interés - absorba luz a dicha longitud de onda, por lo que la absorción sufrirá un efecto mínimo por parte de la sustancia de interferencia o las variaciones de procedimiento, en base a esto se realizó un barrido para seleccionar la - longitud de onda establecida.

Ahora si el material exhibe un color visual en la región visible entonces se observan todos los colores desde el violeta al rojo, por lo que a cada región de la longitud de onda corresponde un color visual característico, y su color complementario, en base a esto se observó que la

estructura de la 5,7-diiodo-8-hidroxiquinoleína y la ayuda del disolvente tiene una coloración amarilla la cual absorbe a esta longitud de onda seleccionada.

Durante esta técnica también se toma en cuenta la ley de Beer la cual establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración del soluto absorbente. (16)

Existiendo dos tipos de desviaciones positivas y negativas las cuales pueden ser causadas por los siguientes factores como las condiciones ambientales, las desviaciones químicas y los errores instrumentales. (16).

### 1.3 Validación

#### 1.3.1 Definición

La validación de un método analítico es el proceso de determinar la estabilidad o dar una metodología de datos analíticos útiles. ( 7 )

#### 1.3.2 Objetivos.

Uno de sus objetivos es producir los mejores resultados analíticos posibles, para obtener tales resultados se considera todas las variables del método.

Otro es establecer que con un número mínimo de datos experimentales se puede validar un método, y establecer criterios para evaluar dichos experimentos.

También dentro de la validación de un método analítico debe existir una organización como son:

- Identificación de los parámetros de validación apropiados. .
- Diseño del experimento para evaluar cada parámetro.
- Determinación de los criterios estadísticos de aceptación para cada parámetro. ( 21 )

### 1.3.3 Guía para la validación de métodos analíticos.

- Especificidad
- Precisión
- Exactitud
- Sensibilidad
- Linealidad y precisión del sistema
- Linealidad y precisión del método.
- Evaluación de la estabilidad de la muestra.

( 7, 13, 22).

#### ESPECIFICIDAD

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

La especificidad consiste en :

- Analizar placebos del producto con el método propuesto.
- Identificar las respuestas del (los) activos, excipientes ( en caso de tenerla ) , y de otras sustancias auxiliares.
- En caso de contar con los posibles productos de degradación, se preparan muestras con placebos " añadidos" de estos y la sustancia de interés y se analizan con el método propuesto.

Criterios:

- Confirmar que el método desarrollado sea capaz de se-

parar la sustancia de interés de cualquier interferencia presente.

De no ser así optimizar el método o desarrollar otro.

#### EXACTITUD

Es la concordancia absoluta entre el valor de una propiedad media experimentalmente ( Estimador ) y su valor real de referencia ( parámetro ).

Consiste en :

- Analizar 10 muestras preparadas por adición de la sustancia de interés al 100 % de la cantidad etiquetada a placebo del producto.

#### PRECISION O REPRODUCIBILIDAD

Es la concordancia relativa entre mediciones repetidas independientes, de una misma propiedad bajo las mismas condiciones (repetibilidad) o/y diferentes condiciones (reproducibilidad).

Este método consiste en:

- Analizar 12 muestras preparadas por adición de la sustancia de interés en 100 % de la cantidad etiquetada a placebo del producto.
- Se realiza por lo menos con 2 analistas, 2 días dife-

rentes y 3 determinaciones por analista.

#### LINEALIDAD DEL SISTEMA

Es la relación que se establece mediante una recta entre una propiedad física, química o biológica con la cantidad de fármaco.

Consiste en :

- Realizar análisis por duplicado de diferentes soluciones de la sustancia de interés, usualmente a 50, 80, 100, 120 y 150 % del valor esperado.

Criterios de aceptación:

DER  $\leq 0.7 \%$

R  $\geq 0.99$

M Aprox. = 1

B Aprox. = 0

El método se llamara lineal si cumple satisfactoriamente con lo anterior. ( 24 )

#### LINEALIDAD DEL METODO

Es la relación que se establece mediante una recta entre una propiedad medible (cantidad de fármaco recuperado) y el valor real de la propiedad (cantidad de fármaco adicionado)

Consiste en :

- Realizar análisis por duplicado de diferentes soluciones de la sustancia de interés, usualmente a 50 , 80, 100, 120 y 150 % del valor esperado pero con adición de placebo.

Criterios de aceptación:

$$\text{DER} \leq 0.7\%$$

$$\text{R} \geq 0.99$$

$$\text{M Aprox.} = 1$$

$$\text{B Aprox.} = 0$$

El método se llamara lineal si cumple satisfactoriamente con lo anterior. (24)

#### EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Son las condiciones en las cuales la muestra mantiene constante su propiedad medible en un lapso de tiempo.

Consiste en:

- Almacenar las muestras analizadas a temperatura ambiente o en condiciones acostumbradas, por el tiempo acostumbrado o por algunas horas.
- Después de transcurrido este tiempo, reanalizar las muestras bajo las mismas condiciones de operación.

#### 1.4 5,7-diiodo-8-hidroxiquinoleina

##### 1.4.1 Propiedades físicas y químicas

Es un polvo amarillo microcristalino con un punto de fusión de  $200^{\circ}$  a  $215^{\circ}\text{C}$  con descomposición.

Calentado con ácido sulfúrico desprende iodo.

Ligeramente soluble en agua, etanol, éter y acetona. Se extrae por disolventes orgánicos y por soluciones alcalinas acuosas.

Fundida con carbonato de sodio y disuelta con agua acidulada con ácido nítrico y añadiendo nitrato de plata precipita en color amarillo. ( 4 )

Se prepara por la iodación de la 8-hidroxiquinoleina, la cual puede obtenerse fácilmente a partir del correspondiente derivado sulfonado de la quinolina mediante hidrólisis con hidróxido de sodio, después de eliminar el exceso de ácido sulfúrico de la sulfonación mediante hidróxido de bario. La sal sódica del sulfonato se calienta a  $200^{\circ}\text{C}$ , para realizar la descomposición. ( 4,16 ).

Como es un derivado dihalogenado de la 8-hidroxiquinoleina tiene la siguiente fórmula estructural:

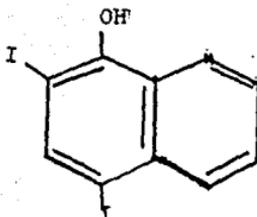


Fig. 3 Estructura química de la 5,7-diiodo-8-hidroxiquinoleína, mostrando en la posición 5 y 7 los yodos.

#### 1.4.2 Propiedades Farmacológicas

Se emplea en el tratamiento de las infecciones por el *Trichomonas hominis*<sup>1</sup> en la amebiasis intestinal o actúa principalmente a nivel del lumen y es usado como suplemento de la emetina o cloroquina.(10)

- 
1. Es una ameba flagelada, del género trichomona que se encuentra a nivel de aparato digestivo.

Son amebicidas directos. Son eficaces contra las formas móviles y quísticas, pero eficaces para eliminar quistes, probablemente dependa de la capacidad para destruir trofozoítos<sup>3</sup>. Actúa únicamente sobre las amibas en el intestino y son ineficaces en el absceso y la hepatitis amibiana<sup>4</sup>. Tiene eficacia cuando el paciente expulsa quistes, son mucho menos útiles para tratar la desinteria<sup>5</sup> amibiana aguda.

La dosis de la diyodohidroxiquinoleina es en adulto de 650mg., tres veces al día durante 20 días y los niños reciben la cuarta parte del adulto, según la edad y peso hasta los 10 años. ( 6,10 )

Puede llegar a causar fiebre, irritación, diarrea y dolor de cabeza.

- 
3. Celula vegetativa de un protozoario, etapa activa de alimentación.
  4. Enfermedad amibiana en el hígado.
  5. Son evacuaciones líquidas con sangre y moco producidas por amibas.

## 2.. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Dado que el método analítico propuesto por farmaco pea es largo ( aproximadamente 5 horas ) y laborioso ,ya que se realiza en ausencia de oxígeno y además que con el producto en estudio, los resultados obtenidos eran por debajo del límite de aceptación establecido, se diseñó un método analítico más corto en tiempo ( aproximada me nt e 4 5 mi nu tu os ) sencillo en manejo y esto representa una ventaja dado que el método se pretende usar en la evaluación del contenido del principio activo en gra nu la do y producto terminado, por todo lo anterior se re al iz ar án las pruebas experimentales y estadísticas nece s a ri as para optimizar y validar el método analítico y así determinar que su uso en pruebas de rutina ( gra nu la do y producto terminado ) es adecuado; es t ó se c um pl e s í el método resulta ser específico, exacto, preciso y lineal.

### 3. OBJETIVOS.

- Optimizar las condiciones del método analítico.
- Determinar que el método analítico sea específico, para que el principio activo y que los excipientes no interfieran.
- Determinar que el método analítico sea exacto.
- Determinar que el método analítico sea preciso.
- Determinar que el método analítico sea lineal.
- Determinar la respuesta del sistema al método.
- Determinar la estabilidad de la muestra.

#### 4. HIPOTESIS.

Sí el método resulta ser preciso, exacto, reproducible, lineal y además que los excipientes no den respuesta es decir específico entonces nuestro método analítico empleado para la cuantificación de la 5,7-diyodo 8-hidroxiquinoleina en la forma farmacéutica tabletas, se dice válido por lo que podremos afirmar que es confiable y puede ser utilizado como un método de control de calidad en pruebas de rutina.



## 5.2 METODO EXPERIMENTAL

### ESPECIFICIDAD DEL METODO

#### PLACEBO:

- Se pesó el equivalente de placebo a 0.0308g
- Se adicionó a un matraz aforado de 100 ml
- Se agregó 40 ml de solución reactivo metanol-ácido clorhídrico ( 1.0% ) (Reactivo A)
- Agitándolo durante 15 minutos
- Se aforó con el reactivo A y mezcló
- Se filtró a través de papel whatman No.41 ; descartando los primeros mililitros
- Del filtrado se tomó una alícuota de 5 ml y se diluyó con el reactivo A a 50 ml, se mezcló
- Se leyó en el espectrofotómetro a 390 nm , usando como blanco el reactivo A.

#### PLACEBO CARGADO

- Se pesó el equivalente a 0.0308g, más el equivalente de diodohidroxiquinoleína a 0.100g
- Se adicionaron a un matraz aforado de 100 ml
- Se agregó 40 ml de solución reactivo metanol-ácido clorhídrico ( 1.0 %) (reactivo A)
- Agitándolo durante 15 minutos
- Se aforó con el reactivo A y mezcló

- Filtráncolo a traves de papel whatman No.41 y descartando los primeros mililitros del filtrado
- Se tomó una alicuota de 5 ml y se diluyó con el reactivo A a 50 ml y se mezcló
- Se leyó en el espectrofotómetro a 390 nm ,usando como blanco el reactivo A.

**ESTANDAR:**

- Se pesó 0.100g de diyodohidroxiquinoleina
- Se adicionó a un matraz aforado de 100 ml
- Se agregó 40 ml del reactivo A
- Se agitó durante 15 minutos
- Se aforó con el mismo reactivo A y mezcló
- Se tomó una alicuota de 5 ml y diluyó con el mismo reactivo A a 50ml y se mezcló
- Se leyó en el espectrofotómetro a 390 nm usando como blanco el reactivo A.

## EXACTITUD DEL METODO

Se realizaron 10 pesadas independientes de 0.100g de dihidrocloruro de dihidroxiquinoleína más 0.0308g de placebo ( placebo cargado ).

- Se adicionaron a matraces aforados de 100ml
- Agregandoles 40 ml de solución reactivo metanol-ácido clorhídrico ( 1.0%) reactivo A
- Se agitaron durante 15 minutos
- Se filtraron a través de papel whatman No.41 ; descartando los primeros mililitros
- Del filtrado se tomaron alícuotas de 5ml y se adicionaron a matraces aforados de 50 ml y se diluyeron con la misma solución reactivo A . Se mezclaron
- Se leyeron a 390 nm en el espectrofotómetro, contra un blanco de la misma solución reactivo A.

## PRECISION DEL METODO

- Se pesaron los equivalentes de placebo a 0.0308g más los equivalentes de diyodohidroxiquinolefina a 0.100g
- Se adicionaron a matraces aforados de 100 ml
- Agregandoles 40 ml de solución metanol- ácido clorhídrico al 1% (Reactivo A)
- Se agitarón durante 15 minutos
- Se aforaron con el mismo reactivo A y mezclaron
- Se filtraron a traves de papel whatman No.41, descartando los primeros mililitros
- Del filtraço se tomaron alícuotas de 5 ml y se adicionaron a matraces aforados de 50ml y se diluyeron con el mismo reactivo A. Se mezclaron
- Se leyeron a 390nm en el espectrofotometro contra un blanco del mismo reactivo A.
- Esto se realizó por triplicado en dos días diferentes y por dos analistas diferentes.

## LINEALIDAD DEL SISTEMA

- Se pesaron por triplicado 80,90,100,110,120 % de dihidroxiquinoleína
- Se pasaron a matraces aforados de 100 ml
- Agregándose 40 ml de solución metanol-ácido clorhídrico (1%) (Reactivo A)
- Se agitaron durante 15 minutos
- Se aforaron con el mismo reactivo A y se mezclaron
- Se tomaron alícuotas de 5 ml y se diluyeron con el mismo reactivo A a 50 ml y se mezclaron
- Se leyeron en el espectrofotómetro a 390 nm usando el reactivo A como blanco.

## LINEALIDAD DEL METODO

- Se pesaron por triplicado 80,90,100,110,120 mg de diyodohidroxiquinoleina y se adicionaron a cada uno el equivalente a 30.8 mg de placebo
- Se transfirieron a matraces aforados de 100ml
- Se agregaron 40ml de solución metanol-ácido clorhídrico (1.0%) (Reactivo A)
- Se agitaron durante 15 minutos cada matraz
- Aforandolos con el mismo reactivo A y se mezclaron
- Se filtraron a través de papel whatman No. 41, descartando los primeros mililitros
- Del filtrado se tomarón alícuotas de 5 ml y se diluyeron con el reactivo A a 50 ml . Mezclandolos
- Se leyeron a 390 nm en el espectrofotómetro usando como blanco en reactivo A.

## ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

- Se realizaron 10 pesadas independientes de 0.100g de diyodohidroxiquinoleína
- Se adicionaron cada una en matraces aforados de 100ml
- Se les agregaron 40 ml de solución reactivo metanol-ácido clorhídrico (1%) (reactivo A) a cada matraz
- Se agitaron durante 15 minutos
- Se aforaron con el mismo reactivo A y se mezclaron
- Se tomaron alícuotas de 5ml y se aforaron con el reactivo A a 50 ml y se mezclaron
- Se leyeron en el espectrofotómetro a 390nm usando como blanco el reactivo A , a las siguientes condiciones:
- Primero se leyeron inicialmente , estas mismas muestras se leyeron al cumplir una hora, dos horas, cinco horas y 24 horas.

6. RESULTADOS

## ESPECIFICIDAD DEL METODO

	Lectura (absorbancia)
Placebo	- 0.004
Placebo cargado	0.680
Estandar	0.676

Ver la siguiente figura:

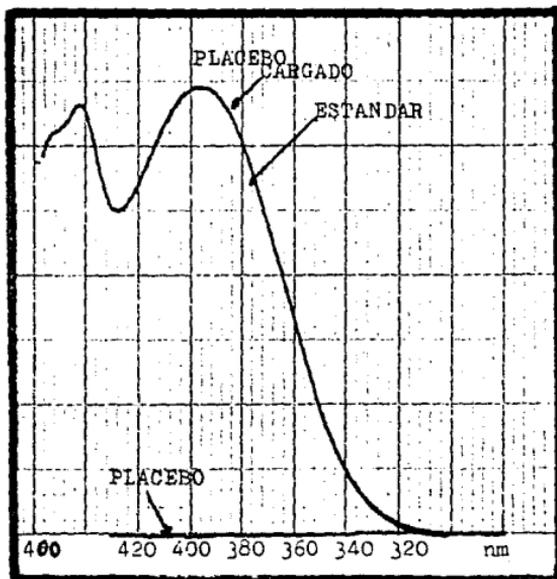


Fig.4 Gráfica de especificidad se leyó a 390nm. La línea recta representa el placebo y la curvas son el placebo cargado y el estandar.

## EXACTITUD DEL METODO

Cantidad adicionada ( mg )	Cantidad recuperada ( mg )	% Recuperación
100	98.91	98.91
100	99.11	99.11
100	99.11	99.11
100	99.26	99.26
100	99.55	99.55
100	100.73	100.73
100	99.70	99.70
100	100.73	100.73
100	100.44	100.44
100	100.88	100.88

Ver apendice para las fórmulas.

Como  $H_0 = \bar{X} = 100\%$

y

$H_a \neq \bar{X} \neq 100\%$

Con

$\bar{X} = 99.832$

$S = 0.7882$

Una

$t_{cal.} = -0.67402$

y

$t_{tablas} \alpha 0.05 \text{ gl} = 9 = 2.26$

Area de Aceptación

$$t_{\alpha/2} \leq t_{cal} \leq t_{1-\alpha/2}$$

$$- 2.26 < -0.67402 < 2.26$$

Por lo tanto el método resultó exacto.

Intervalo de confianza

$$\bar{X} \pm t_{1-\alpha/2} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$99.832 \pm 2.26 \cdot \frac{0.7882}{\sqrt{10}}$$

$$99.268 \text{ — } 99.832 \text{ — } 100.35$$

## REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

	Dia 1	Dia 2
	100.44	101.03
Analista 1	99.70	100.59
	99.70	101.03
	99.85	101.46
Analista 2	99.85	100.88
	100.29	101.32

Para las fórmulas utilizadas ver apendice

$$\frac{\sum Y_i^2}{bc} = 121231.25$$

$$\frac{\sum Y_{ij}^2}{c} = 121234.81$$

$$\frac{\sum Y^2}{abc} = 121231.14$$

$$\sum Y_{ijk}^2 = 121235.62$$

$$\frac{\sum Y_j^2}{ac} = 121234.64$$

TABLA DE ANADEV A

Fuente de error	gl	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F. de calculo.
Ai	1	0.11	0.11	1.833
Dj	1	3.5	3.5	58.33
ADij	1	0.06	0.06	0.5928
Eijk	8	0.81	0.1012	-----

## I Analista

$$F = \alpha = 0.05 - 1 = 0.95$$

$$\text{SÍ } F_{\text{cal A}} < F_{0.95}$$

$$F_{0.95} = 161.4$$

$$(1,1)$$

$$1.833 < 161.4$$

Por lo tanto no existe efecto debido al analista.

## II Día

$$\text{SÍ } F_{\text{cal D}} < F_{0.95}$$

$$58.33 < 161.4$$

Por lo tanto no existe efecto debido al día.

## III Interacción analista - día

$$\text{SÍ } F_{\text{cal AD}} < F_{0.95}$$

$$F_{0.95} (1,8) = 5.32$$

$$0.5928 < 5.3$$

Por lo tanto no existe efecto debido a la interacción analista - día

Calculos de precisión.

Tenemos una:

$$\bar{X} = 100.511$$

$$S = 0.5381$$

Como  $H_0 \leq 2 \%$

$H_a > 2 \%$

Con  $\alpha = 0.05 \%$

y grados de libertad  $n - 1 = 11$

Así tenemos una:

$$X_{i^2}^{\text{calculo}} = 1.1198$$

$$X_{i^2}^{\text{tablas}} = 21.9$$

Area de aceptación

$$X_{i^2}^{\text{cal}} \ll X_{i^2}^{\text{tablas}}$$

$$1.1198 < 21.9$$

Por lo tanto se acepta  $H_0$  y nuestro método es preciso teniendo una variación menor del 2 por ciento.

## LINEALIDAD DEL SISTEMA

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperación
80	80.32	100.40
80	80.17	100.21
80	80.32	100.40
90	89.64	99.60
90	89.64	99.60
90	89.34	99.26
100	99.85	99.85
100	99.85	99.85
100	99.85	99.85
110	110.65	100.59
110	110.50	100.45
110	110.65	100.59
120	120.56	100.46
120	120.26	100.21
120	120.56	100.46

$$\begin{aligned} \Sigma X &= 1500 & \Sigma Y &= 1502.16 \\ (\Sigma X)^2 &= 2250000 & (\Sigma Y)^2 &= 2256484.7 \\ \Sigma X^2 &= 153000 & \Sigma Y^2 &= 153521.19 \\ \bar{X} &= 100 & \bar{Y} &= 100.144 \\ S &= 14.638 & S &= 14.853 \end{aligned}$$

$$\Sigma XY = 153259.2$$

$$\Sigma (X_i - \bar{X})^2 = 3000$$

Con esto tenemos una:

$$m = 1.014$$

$$b = -1.296$$

$$r = 0.9997$$

Para las fórmulas utilizadas ver el apéndice

Inferencias para A .

Como  $H_0 = A_0 = 0$

$H_a \neq A_0 \neq 0$

Con una

$$S_{y/x} = 8.2812$$

$$\hat{S}_{y/x} = 8.8954$$

Así tenemos una

$$t_{\text{cal}} = -0.07901$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1604$$

Area de Aceptación:

$$t_{\alpha/2} \ll \mathbb{F}_{\text{cal}} \ll t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1604 < -0.0790 < 2.1604$$

Por lo tanto se acepta  
 $H_0$  y nuestra ordenada al ori-  
 gen es igual a cero.

Inferencias para B

Como  $H_0 = B = 1$

$H_a \neq B \neq 1$

Con una

$$S_{y/x} = 8.2812$$

$$\hat{s}_{y/x} = 8.8954$$

Así tenemos una:

$$t_{\text{cal}} = 0.0474$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1604$$

Area de aceptación:

$$t_{\alpha/2} \ll t_{\text{cal}} \ll t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1604 < 0.0474 < 2.1604$$

Por lo tanto aceptamos  $H_0$

y nuestra pendiente es

igual a 1

### Calculos de precisión

Tenemos una:

$$\bar{X} = 100.118$$

$$S = 0.4186$$

Como  $H_0 \leq 2\%$

$H_a > 2\%$

Con  $\alpha = 0.05$

y grados de libertad  $n-1 = 14$

Así tenemos una:

$$X_{\text{cal}}^2 = 0.61329$$

$$X_{\text{tablas}}^2 = 26.119$$

Area de Aceptación

$$X_{\text{cal}}^2 \ll X_{\text{tablas}}^2$$

$$0.61329 < 26.119$$

Por lo tanto se acepta  $H_0$  y nu  
 estro método tiene una variación me  
 nor del 2 %

### Calculos de Exactitud

Tenemos una :

$$t_{\text{cal}} = 1.09158$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1448$$

Area de aceptación

$$t_{\alpha/2} \ll t_{\text{cal}} \ll t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1448 < 1.0914 < 2.144$$

Por lo tanto aceptamos  $H_0$   
 nuestro método puede considerarse  
 exacto.

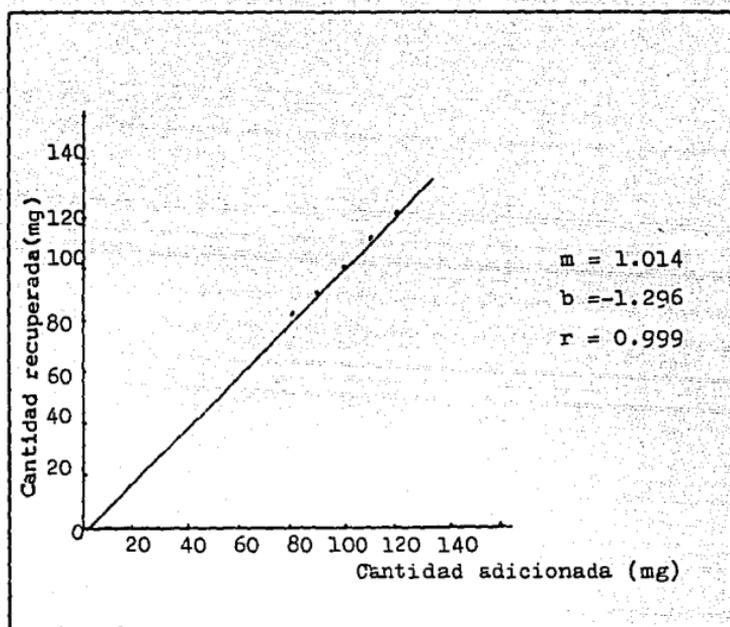


Fig. 5 Gráfica de Linealidad del sistema.

## LINEALIDAD DEL METOLO

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperación
80	79.43	99.287
80	79.88	99.85
80	79.73	99.662
90	90.08	100.088
90	89.79	99.76
90	89.79	99.76
100	99.40	99.40
100	99.85	99.85
100	99.85	99.85
110	110.35	100.318
110	109.76	99.78
110	110.59	100.53
120	120.26	100.216
120	120.11	100.091
120	119.52	99.60

Para las fórmulas utilizadas ver el apéndice

$$\begin{array}{ll}
 \Sigma X & = 1500 \\
 (\Sigma X)^2 & = 2250000 \\
 \Sigma X^2 & = 153000 \\
 \bar{X} & = 100 \\
 S & = 14.638
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{ll}
 \Sigma Y & = 1498.39 \\
 (\Sigma Y)^2 & = 2245172.6 \\
 \Sigma Y^2 & = 152734.49 \\
 \bar{Y} & = 99.89 \\
 S & = 14.775
 \end{array}$$

$$\Sigma XY = 152866.4$$

$$\Sigma (X_i - \bar{X})^2 = 3000$$

Con esto tenemos una:

$$m = 1.0091$$

$$b = -1.0206$$

$$r = 0.99978$$

Inferencias para A

$$\text{Como } H_0 = A_0 = 0$$

$$H_a \neq A_0 \neq 0$$

Con una

$$S_{y/x} = 0.65149$$

$$\hat{S}_{y/x} = 0.69981$$

Así tenemos una

$$t_{\text{cal}} = -0.7909$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1604$$

Area de aceptación:

$$t_{\alpha/2} \ll t_{\text{cal}} \ll t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1604 < -0.7909 < 2.1604$$

Por lo tanto se acepta  $H_0$  y nuestra ordenada al origen es igual a cero.

Inferencias para B

$$\text{Como } H_0 = B = 1$$

$$H_a \neq B \neq 1$$

Con una

$$S_{y/x} = 0.65149$$

$$\hat{S}_{y/x} = 0.69981$$

Así tenemos una:

$$t_{\text{cal}} = 0.7122$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1604$$

Area de aceptación:

$$t_{\alpha/2} < t_{\text{cal}} < t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1604 < 0.7122 < 2.1604$$

Por lo tanto aceptamos  $H_0$  y  
nuestra pendiente es igual a 1.

### Calculos para precisión.

Tenemos una:

$$\bar{X} = 99.869$$

$$S = 0.33411$$

Como  $H_0 \leq 2\%$

$H_a > 2\%$

Con  $\alpha = 0.05$

y  $gl = n-1 = 14$

Así tenemos una:

$$X_{\text{cal}}^2 = 0.39070$$

$$X_{\text{tablas}}^2 = 26.119$$

Area de aceptación

$$X_{\text{cal}}^2 < X_{\text{tablas}}^2$$

$$0.39070 < 26.119$$

Por lo tanto aceptamos  $H_0$   
y nuestro método tiene una variación  
menor del 2 %

Calculos de Exactitud.

Como  $H_0 = \mu = 100\%$

$H_a \neq \mu \neq 100\%$

Tenemos una:

$$t_{\text{cal}} = -1.515$$

$$t_{\text{tablas}} = 2.1448$$

Area de aceptación

$$t_{\alpha/2} < t_{\text{cal}} < t_{1-\alpha/2}$$

$$-2.1448 < -1.5128 < 2.1448$$

Por lo tanto aceptamos  $H_0$  y nu-  
tro método es exacto.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

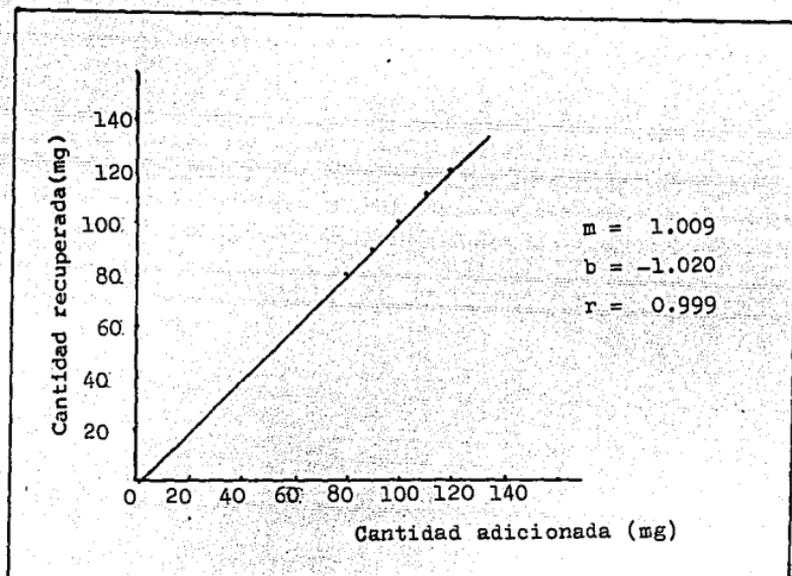


Fig. 6 Gráfica de Linealidad  
del método.

## ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

% Recuperación inicial	% Recuperación una hora	% Recuperación dos horas
100.44	100.44	100.00
99.55	99.85	99.40
99.70	99.85	99.55
99.70	100.29	100.29
100.14	100.14	99.85
99.85	99.85	99.26
99.40	99.40	99.26
100.88	100.88	100.59
100.14	100.14	100.14
100.14	100.29	100.00
$\bar{X} = 99.994$	$\bar{X} = 100.113$	$\bar{X} = 99.834$
$S = 0.4461$	$S = 0.4048$	$S = 0.4541$

% Recuperación  
24 horas

100.73
100.14
99.40
100.44
100.14
100.00
100.29
100.59
100.88
100.88
$\bar{X} = 100.349$
$S = 0.4580$

## 7. DISCUSION DE RESULTADOS

### ESPECIFICIDAD

Como se observa en la fig. 4, nos indica que nuestro método resultó ser específico para el principio activo y no para los excipientes, esto fué uno de los primeros puntos para continuar con la validación del método analítico.

### EXACTITUD

Se observa que el método fué exacto, ya que al realizar el tratamiento estadístico resultó que la "t" calculada cae dentro del área de aceptación de la "t" de tablas .

### REPRODUCIBILIDAD

En cuanto a la reproducibilidad que se llevo a cabo por dos analistas, en dos días diferentes , de acuerdo a esto al realizar las inferencias se observa que no hay efecto debido al analista , al día y tampoco debido a la interacción analista - día ya que caen dentro del área de aceptación por lo que se concluye que es reproducible el método.

### LINEALIDAD DEL SISTEMA

Observando la gráfica de linealidad del sistema - vemos que tiene una pendiente igual a 1.041, un intercepto (b) igual a -1.296 y una correlación (r) igual a

0.9997 por lo que resulta ser lineal según los criterios establecidos.

#### LINEALIDAD DEL METODO.

En la linealidad del método se tiene una pendiente ( $m$ ) igual a 1.0091, un intercepto ( $b$ ) de -1.020 y una correlación ( $r$ ) igual a 0.9997, por lo que el método resulta ser lineal, además haciendo las inferencias tanto para linealidad del sistema como del método resulta que el intercepto es igual a cero y la pendiente igual a uno con respecto a la hipótesis de trabajo utilizada.

Además resultarán ser exactos y precisos tanto el sistema como el método.

#### ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Otro parámetro de la validación fué la estabilidad de la muestra en la cual se prepararon muestras realizando lecturas inicialmente, a la hora, dos horas y 24 hrs. Como observamos las desviaciones son muy cercanas y menores del 2 % y además que esto nos demuestra que nuestra muestra no sufre degradación y es estable hasta las 24 horas.

## 8. CONCLUSIONES

Podemos decir que se cumplieron los objetivos planteados originalmente, es decir la validación del método analítico ya que el método propuesto resultó ser:

Específico porque fué capaz de detectar solo al principio activo y no hubo interferencias de los excipientes.

Exacto ya que la "t" de student cae dentro del area de aceptación además los valores se acercan al 100% , también reproducible por cualquier analista y en cualquier día ya que no existe interferencias y presenta una desviación menor del 2 %.

También cumplió con los criterios establecidos de la linealidad presentando una desviación menor del 2% .

En cuanto a la estabilidad, la muestra es estable hasta las 24 hrs. ya que no existe degradación del principio activo por lo tanto los porcentajes de recuperación son confiables.

Por lo que se concluye que el método analítico empleado, puede ser utilizado como método de rutina para control de calidad en tabletas de 5,7-diyolo-8-hidroxi-quinoleina.

BIBLIOGRAFIA

1. British Pharmaceutical Codex  
London The Pharmaceutical Press, Great Britain,  
1973.
2. Clarke, E.G.C. ISOLATION AN IDENTIFICATION OF  
DRUGS.  
1ra. Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1971  
pp 306.
3. Connors, A.K. A TEXTBOOK OF PHARMACEUTICAL ANALYSIS  
2da. Edition, John-Wiley & Sons, New York (1980) -  
pp 195-258.
4. Crespo, M.C. SINTESIS INDUSTRIAL DE MEDICAMENTOS  
1ra Edición, Dossat, Madrid, 1957, pp 516-519.
5. Dick, J.G. QUIMICA ANALITICA.  
2da. Edición, Editorial el Manual Moderno, México  
1981.
6. Drill . FARMACOLOGIA MEDICA  
2aa. Edición, Prensa Médica Mexicana, México, 1978.
7. Finkelson, J.M. "Validation of by FDA "  
Pharmaceutical Thechnology. 3/ 74-78 (1986)
8. Gessner. G.H. DICCIONARIO DE QUIMICA Y PRODUCTOS  
QUIMICOS.  
2da. Edición, Omega, México, 1975, pp 894.

9. Goldstein. BIOSTATISTICS AN INTRODUCTORY TEST.  
Cápítulo 4, 1ra edición 1967.
10. Goodman, S.L. etal. BASES FARMACOLOGICAS DE LA  
TERAPEUTICA  
5ta. edición, Interamericana, México.1978,  
pp 899-900
11. Kolthoff, E. Treatise on Analytical Chemistry,  
Cap. 5, 2da edición, Part. 1, Volúmen 1.
12. Lachman, L.etal. THE THEORY AND PRACTICE OF  
INDUSTRIAL PHARMACY.  
3ra. Edition, Philadelphia, 1986, pp 479-501.
13. Loftus, B.T. etal "process Validation Interna-  
tional Congree of Pharmaceutical Sciences of  
Fip 39 Brighton, United Kingdom, 1979.
14. Martindales. THE EXTRAPHARMACOPEIA  
21 Edition. The pharmaceutical press, London  
1982, pp 977.
15. Nash. R.A. "Process Validation of Solid Dosage  
Form Pharmacy Thechnology". 3/105-107 (1977).
16. Merck Index, 9a Edition, 1976.
17. Porro, T.J. "Double-Wavelength Spectroscopy "  
Analytical Chemistry. 55/6/600A-608A.
18. Remington, D.R. etal. ESTADISTICA BIOMETRICA Y  
SANITARIA  
1ra edición, Prentice/Hall international,

España, 1974, pp 113, 117, 138, 145-151.

19. Remington Pharmaceutical Sciences  
17 th edition, Mack Publishing Copmany, Easton  
Pennsylvania, 1985, pp 315-316.
20. Sonnessa Anthony . PRINCIPIOS DE QUIMICA  
1ra edición, editorial Limusa, México, 1982.
21. Taylo, K. "validation of Analytical Methods"  
Analytical Chemistry. 55/6/ 600A-608A.
22. Taylor.J.K. " Quality of Assurance of Analytical  
Chemistry" . 53/14/1981.
23. The United States Pharmacopeia  
21 Rev., Mack Publishing, Easton Pa. 1984,  
pp 350, 551.
24. Validation Concepts Proceedings of Management  
Conference for Pharmaceutical Industry. Purve  
University, West.Lafye Indiana, Usa, 1978.

## APENDICE

### EXACTITUD

Estadigrafo de contraste

$$t_{\text{calculo}} = \frac{\bar{X} - 100}{S / \sqrt{n}}$$

$\bar{X}$  = Media poblacional

S = Desviación estandar

n = número total de datos

### PRECISION

Estadigrafo de contraste

$$\chi^2_{\text{calculo}} = \frac{(n - 1) S^2}{\sigma^2}$$

n = número total de datos

S = desviación estandar

$\sigma^2$  = varianza poblacional

Nivel de significancia =  $\alpha$  = 0.05

Grados de libertad = gl = n-1

## REPRODUCIBILIDAD

Modelo de análisis de varianza para 2 factores aleatorios.

Notación:

$Y_{ijk}$  = Porcentaje cuantificado por el  $i$ -ésimo analista en el  $j$ -ésimo día de la  $K$ -ésima repetición.

$A_i$  =  $i$ -ésimo analista.

$D_j$  =  $j$ -ésimo día.

$K$  = repetición

$AD_{ij}$  = Efecto debido a la interacción analista-día

$E_{ijk}$  = Error experimental.

Tabla ANADEVA

Fuente de error	gl	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F.de cálculo.
$A_i$	$(a-1)$	$\frac{\sum Y_i^2 - Y^2}{bc - abc}$	$SC_{A/} / (a-1)$	$MC_A / MC_{AD}$
$D_j$	$(r-1)$	$\frac{\sum Y_j^2 - \sum Y^2}{ac - abc}$	$SC_{D/} / (b-1)$	$MC_D / MC_{AD}$
$AD_{ij}$	$(a-1).(b-1)$	$\frac{\sum Y_{ij}^2}{c} - \frac{\sum Y_i^2}{bc} - \frac{\sum Y_j^2}{ac} + \frac{\sum Y^2}{abc}$	$SC_{AD/} / ((a-1)(b-1))$	$MC_{AD} / MC_{error}$
$E_{ijk}$	$(a.b).(c-1)$	$\sum Y_{ijk} - \frac{\sum Y_{ij}^2}{c}$	$SC_{E/a.b(c-1)}$	-----

## LINEALIDAD DEL SISTEMA Y METODO.

Nos interesa que el método se acerque a una línea recta por lo que el modelo es :

$$Y = A + BX$$

Donde:

A = Ordenada al origen

B = Pendiente

Y = Cantidad recuperada

X = Cantidad adicionada

### Ordenada al origen (A)

$$A = \frac{(\Sigma Y) (\Sigma X^2) - (\Sigma X) (\Sigma XY)}{n (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

### Pendiente (B)

$$B = \frac{n (\Sigma XY) - (\Sigma X) (\Sigma Y)}{n (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

### Inferencias para A

$$t_{\text{calculo}} = \frac{A - A_0}{\hat{S}_{y/x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(\sum Y^2) - A(\sum Y) - B(\sum XY)}{n}}$$

$$\hat{S}_{y/x} = S_{y/x} \cdot \sqrt{\frac{n}{n-2}}$$

$$S_{y/x} = \text{Error típico}$$

$$\hat{S}_{y/x} = \text{Error típico modificado}$$

### Inferencias para B

$$t_{\text{calculado}} = \frac{(B - B_0) S_x \sqrt{n-1}}{\hat{S}_{y/x}}$$

$t_{\text{tablas}}$  con un nivel de significancia ( $\alpha$ )

$$\alpha = 0.05$$

con

$$\text{grados de libertad}(gl) = n - 2$$