



4
209
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

**VALIDACION DEL METODO ANALITICO
PARA CUANTIFICACION DEL PRODUCTO
TERMINADO DEL BROMHIDRATO DE
DEXTROMETORFAN EN JARABE**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

HUMBERTO AYALA NARVAEZ

DIRECTOR: VALENTIN ISLAS PEREZ

MEXICO, D. F.

1990

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

I N D I C E

	Página
I. INTRODUCCION	5
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
III. OBJETIVOS	17
3.1. Objetivo General	18
3.2. Objetivos Particulares	18
3.3. Hipótesis	19
IV. CALIFICACION DE EQUIPO Y MATERIALES	
UTILIZADOS EN LA VALIDACION	20
4.1. Calificación de Material Volumétrico	21
4.1.1. Tipo de material a calificar y	
Parámetros	21
4.1.2. Método General	22
A. Limpieza	22
B. Lectura de menisco	23
C. Procedimiento para la calibración de	
pipetas	23
D. Calificación de la Calibración de	
Matraces	24
E. Procedimiento de la pesada	25
F. Cálculos	25
G. Resultados	27

4.2. Calificación de la calibración de las	
Balanzas usadas en el Proyecto	27
4.2.1. Equipo a Calificar	27
4.2.2. Metodología	27
4.2.2.1. Resultados	28
4.3. Calificación del Espectrofotómetro	29
4.3.1. Método para la Calificación del	
Espectrofotómetro	29
A. Desviación de la Línea Base	30
B. Exactitud, Repetibilidad y Resolución ...	31
C. Ensayo del Ruido	31
D. Localización del Pico	32
E. Ensayo de la Pérdida de Luz	34
F. Estabilidad de la Línea Base	35
G. Revisión del Software	35
H. Resultados	36
4.4. Calificación de la Materia Prima y	
del Estándar de Referencia	39
4.4.1. Método	39
4.4.2. Resultados	39
V. VALIDACION DEL METODO ANALITICO	40
5.1. Diagrama de Flujo del Método a Validar ..	41
5.1.1. Reactivos	43
5.2. Linealidad del Sistema	44

5.2.1.	Método Experimental	44
5.2.2.	Método Estadístico	44
5.3.	Precisión del Sistema	47
5.3.1.	Método Experimental	47
5.3.2.	Método Estadístico	47
5.4.	Linealidad del Método	49
5.4.1.	Método Experimental	49
5.4.2.	Método Estadístico	49
5.5.	Precisión del Método	50
5.5.1.	Método Experimental	50
5.5.2.	Método Estadístico	50
5.6.	Exactitud del Método	50
5.6.1.	Método Experimental	50
5.6.2.	Método Estadístico	51
5.7.	Re - evaluación de la Exactitud	52
5.7.1.	Método Experimental	52
5.8.	Reproducibilidad del Método Analítico ...	52
5.8.1.	Método Experimental	52
5.8.2.	Método Estadístico	53
5.9.	Especificidad del Método	55
5.9.1.	Método Experimental	55
5.10.	Estabilidad de la Muestra	56
5.10.1.	Método Experimental	56
5.10.2.	Método Estadístico	57

VI. RESULTADOS	60
VII. DISCUSION DE RESULTADOS	73
VIII CONCLUSIONES	84
IX. APENDICES	87
9.1. Apéndice 1	88
9.2. Apéndice 2	110
9.3. Apéndice 3	126
X. ANEXOS	128
XI. BIBLIOGRAFIA	135

Desde hace ya varias décadas, la Industria Farmacéutica ha venido enfrentando el serio problema que representa el impacto negativo de la mala calidad de los productos farmacéuticos sobre los consumidores, viéndose en la necesidad de incrementar métodos y técnicas que garanticen la calidad de sus productos en cada etapa del proceso de fabricación. Ante esta inminente demanda, la implantación de estudios de Validación en todos los laboratorios farmacéuticos, ha llegado a ser una urgente necesidad.

El concepto de Validación según la FDA, es "el

proceso para determinar la adecuabilidad de una metodología, para proveer datos útiles" (2). Otra definición dada a este concepto, es "la confianza que tiene una compañía para determinar qué tan adecuada es una metodología para proporcionar resultados analíticos dentro de un margen establecido" (8), siendo esta última la definición que, a juicio del suscrito, se apega más a la realidad que vive la Industria Farmacéutica en nuestro País.

Los principales objetivos de la Validación son:

- Obtener los mejores resultados analíticos.
- Verificar que la metodología se encuentre dentro de los principios técnicos y que éstos sean además optimizados.

Como se puede apreciar de lo anteriormente expuesto, la Industria Farmacéutica ha tenido que adecuarse a las necesidades actuales de los consumidores, quienes exigen una mejor calidad en los productos que adquieren y extreman dicha exigencia en el caso de los productos farmacéuticos, debido a que éstos repercuten directamente sobre su salud.

Otro aspecto no menos importante, involucrado en la calidad de los productos farmacéuticos, es la competitividad en costos, ya que es usual que el costo de los productos

esté directamente relacionado con la calidad; esto es, a menor costo, menor calidad. Esta problemática se visualiza de una manera por demás clara en aquéllos laboratorios farmacéuticos (principalmente nacionales) que, mediante convenio, surten de estos productos al Sector Salud y lo tienen que hacer a precios menores que aquéllos dados al Sector Privado. Prelade, S. A., es un ejemplo tipo de estos laboratorios, cuyo producto bromohidrato de dextrometorfan en jarabe se suministra al Sector Público a un precio menor que al Sector Privado, con la reducción consecuente de calidad.

Por lo tanto, el presente trabajo tiene como principio el reducir los problemas antes citados, mediante el estudio del método de cuantificación que fué modificado por el laboratorio arriba mencionado, para valorar el medicamento en jarabe señalado y comprobar si realmente es adecuado para verificar la calidad del producto y que en consecuencia, éste llegue al consumidor (derechohabientes del Sector Salud), con las especificaciones adecuadas.

Para realizar este estudio se consideran los siguientes factores técnicos y económicos:

FACTORES TECNICOS:

- Personal: Debe tener la capacidad necesaria para realizar el proyecto de Validación.
- Equipo: Es primordial que el laboratorio cuente con el equipo necesario y adecuado para llevar a cabo el proyecto de Validación, procurando que siempre esté en condiciones óptimas de trabajo.
- Reactivos: Verificar que se cuente con todos los reactivos en cantidad y calidad suficientes para llevar a cabo la Validación, además de contar con los Certificados de Control de Calidad de los mismos.

FACTORES ECONOMICOS:

- Tiempo: Su delimitación es muy importante, ya que a menor tiempo, el costo de la Validación será inferior.
- Estudio Económico: Se debe realizar un estudio sobre el costo total del proyecto, para poder optimizar la reducción del mismo.

Por otro lado, es importante tener en mente que el método a validar en el presente trabajo, es un método alternativo adecuado a las necesidades del laboratorio, ya que aunque existen otras técnicas más sofisticadas para su valoración, debido a problemas tanto tecnológicos (falta

de equipo), como económicos, los laboratorios (nacionales principalmente), tienen que recurrir a la modificación de los métodos existentes o a la implantación de métodos que deben validarse a fin de que puedan ser utilizados como rutina y se ayude a mejorar no solo la calidad de sus productos, sino también la honorabilidad de la empresa, con el consecuente beneficio tanto para la empresa como para el consumidor.

Finalmente, es de hacer notar que existen dos tipos de Validación, de acuerdo con el momento en que se realiza: Prospectiva y Retrospectiva, siendo la primera la que se efectúa cuando el método a validar no ha sido aplicado y la información se obtiene en el transcurso de la validación. El caso en cuestión es un método analítico empleado para la cuantificación de uniformidad de contenido en producto terminado y a granel y por lo tanto, es una Validación Prospectiva.

Los parámetros a evaluar de acuerdo al tipo de validación descrito, son los siguientes:

- Precisión (sistema y método). Es el grado de concordancia entre mediciones repetidas de una misma propiedad,

derivada de la desviación estándar estimada de una serie de mediciones y expresada en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

- Exactitud (sistema y método). Es la concordancia entre un valor experimental y el valor de referencia aceptado.
- Linealidad (sistema y método). Medición del grado al cual la curva de calibración analítica se aproxima a una línea recta o el grado al cual es constante la sensibilidad.
- Especificidad. Es el grado al cual la medición se debe a la sustancia de interés y no a "otras sustancias" que pueden estar presentes en el material por analizar.
- Tolerancia. Cuando se han determinado satisfactoriamente los parámetros anteriores, entonces se somete al método a condiciones extremas, para verificar de qué manera se deberá trabajar y en qué condiciones será adverso realizar el análisis.
- Estabilidad de la Muestra. Se realiza principalmente para verificar si la muestra, después de haber sido separada y antes de ser cuantificada, es estable en el medio en el que se encuentra y se puede almacenar antes de realizar la cuantificación.

Si el método cumple con los requerimientos

anteriores, se considerará como validado, de otra manera, se realizará un estudio del método para corregir anomalías, revalidándolo para así obtener un método que sea preciso, exacto, reproducible, con un tiempo de análisis corto y más económico.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Validación de métodos analíticos es el resultado de un análisis realizado entre la Industria y el Sector Salud, que surge de la necesidad de tener un mejor control de calidad de los medicamentos, además de contar con métodos que sean seguros, confiables y reproducibles, para asegurar completamente que lo fabricado cumple con lo especificado por el laboratorio.

Por otro lado, la Validación no solo beneficia al control de calidad, sino que también es un medio por el cual se reducen los costos de producción, ya que al tener una mayor confiabilidad en el trabajo y a la vez

una reducción al mínimo de errores durante la producción y el análisis, se tendrá un menor número de rechazos hasta llegar a su desaparición. Esto conlleva a un ahorro en el tiempo de la verificación del posible error cometido en la producción, con el consecuente costo que esto implica, repercutiendo directamente en la economía de la empresa y del consumidor.

Es por lo ya expuesto, que actualmente la industria se ha visto en la necesidad de crear un departamento que certifique, en forma interna, la validez de los métodos analíticos que se utilizan de manera rutinaria en el control de la calidad, cumpliendo así con uno de los requisitos más importantes tanto para la empresa como para el Sector Salud, beneficiándose por ende el consumidor.

Ahora bien, se debe hacer mención a los problemas que habrán de enfrentarse durante la realización del presente trabajo. En primer término, deberá verificarse si las modificaciones realizadas al método no le afectan, como por ejemplo, el cambio de disolvente que involucra la solubilidad del fármaco en éste y que es muy importante para la separación del principio activo de los excipientes.

Otro aspecto relevante por verificar, es si la longitud de onda a la que se realiza el estudio es lo suficientemente selectiva para hacer la determinación y no existen interferencias que puedan alterar el análisis. Finalmente, un aspecto muy importante para que los problemas anteriores puedan ser resueltos, es el número de extracciones a realizar y la manera en que se efectúen, así como la verificación de que la temperatura no afecte a la primera parte del método, ya que el primer solvente con el que se realizan las primeras extracciones, es altamente volátil y puede provocar pérdidas del principio activo, las cuales llevarían a falsos resultados y por ende a tener mala toma de decisiones.

Como se puede observar, aunque es posible que no se tengan grandes problemas con el método a validar, es muy importante que logren establecerse criterios para la mejor manera de trabajar con el método, de tal forma que a la vez se consiga el grado de confiabilidad que se requiere en este método, comprobándose si es útil para los fines establecidos en el Departamento de Control de Calidad del laboratorio en donde va a ser utilizado.

III. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo se dividen en dos grupos, a saber: Objetivo General y Objetivos Particulares.

3.1. OBJETIVO GENERAL.

Validar el método para la cuantificación del bromohidrato de dextrometorfan en jarabe.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

- 1) Comprobar la reproducibilidad del método a validar.
- 2) Demostrar que el método a validar es confiable para utilizarse en Control de Calidad.

3.3 HIPOTESIS.

Debido a que el método de cuantificación del dextrometorfan se basa en sus propiedades espectrofotométricas y la extracción a partir de la forma farmacéutica se realiza con un solvente en el que el principio activo es altamente soluble, como lo es el eter de petróleo, la determinación del dextrometorfan en jarabe será específica, reproducible y confiable, siguiendo los criterios establecidos por la Validación.

**IV. CALIFICACION DE EQUIPO Y MATERIALES
UTILIZADOS EN LA VALIDACION**

En la calificación del equipo y los materiales empleados en la Validación, los puntos a considerar son: La Calificación del Material Volumétrico, la Calificación de la Calibración de las Balanzas utilizadas en el proyecto, la Calificación del Espectrofotómetro y la Calificación de la Materia Prima.

4.1. CALIFICACION DEL MATERIAL VOLUMETRICO

4.1.1. TIPO DE MATERIAL A CALIFICAR Y PARAMETROS

En el desarrollo del presente trabajo se calibran dos pipetas de 5 ml. de borosilicato Marca Pyrex, con un

límite de error de ± 0.01 ml.; tres pipetas de 2 ml. de borosilicato Marca Pyrex, con un margen de error de ± 0.006 ml; cinco matraces clase A, de borosilicato, Marca Pyrex, con un límite de error de ± 0.03 ml.; cuatro matraces clase A de borosilicato, Marca Pyrex, de 50 ml., con un margen de error que oscile entre ± 0.05 ml. y; cinco matraces clase A de 100 ml., de borosilicato, Marca Pyrex, siendo el límite de error de ± 0.08 ml.

4.1.2. METODO GENERAL

En el método general, los puntos a considerar son los siguientes:

A. LIMPIEZA.

Es necesario que el material volumétrico esté completamente limpio antes de realizar el ensayo. El material de vidrio debe estar perfectamente limpio para permitir una perfecta humectación de la superficie, ya que cuando las paredes del material están limpias, la humectación es uniforme y el agua se adhiere a la superficie de vidrio en una película continua. Los líquidos utilizados para la limpieza del material de vidrio, constituyen una solución limpiadora de dicromato de sodio y ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico fumante, alcohol y agua.

Es de hacer notar que la falta de limpieza causa irregularidades en la capacidad, por la distorsión de la superficie del agua. Después de la limpieza con la solución limpiadora, se procede a un enjuague con bastante agua destilada.

Después de la limpieza, el material se enjuaga con alcohol etílico y se seca con aire limpio a temperatura ambiente. No es necesario secar el material marcado con "To deliver". Cuando se limpian pequeños artículos como pipetas, es fácil limpiarlos llenándolos con la solución limpiadora por succión, empleando una línea de vacío, si se dispone de ella o bien, por un bulbo de plástico, pero nunca con la boca. La solución se pasa varias veces a través de la pipeta, hasta que la superficie se bañe completamente. Para los frascos, se pone una pequeña cantidad de la solución dentro del mismo y se rota hasta que la película cubre completamente la pared interna.

B. LECTURA DEL MEÑISCO

Para todos los aparatos calibrados por este procedimiento, la lectura del menisco se realiza en el punto más bajo del mismo.

C. PROCEDIMIENTO PARA LA CALIBRACION DE PIPETAS

Para llevar a cabo la calibración de pipetas, se llenan con agua destilada hasta la marca, por succión, se limpia con papel filtro el exceso de agua que se quede en la punta, se colocan las pipetas en posición vertical y se vierte su contenido en un recipiente previamente seco, limpio y con tapa. Se tapa y pesa el recipiente para obtener la diferencia de pesos y por lo tanto el volúmen.

D. CALIFICACION DE LA CALIBRACION DE MATRACES

Después de limpiarlos y secarlos, se pesa el matrás incluyendo el tapón, se coloca un embudo apropiado para descargar el agua a través del cuello, se llena el frasco dejando el embudo hasta que el agua de sus paredes se seque. Se retira el embudo y se esperan aproximadamente 2 minutos, hasta que el agua de las paredes del cuello del matrás bajó completamente, colocándose sobre el matrás una bureta recientemente calibrada y completándose el llenado hasta el menisco, teniendo cuidado de no salpicar las paredes. Posteriormente, se coloca el tapón para evitar la evaporación. Se ajusta el menisco con un cuenta gotas o una pipeta, determinándose el peso del matrás tanto sin agua como con ella. Asimismo, se determina la temperatura del agua, colocando un termómetro directamente dentro del

matríz después de pesar.

E. PROCEDIMIENTO DE LA PESADA

Se requieren dos pesadas, la primera en la que se pesa el recipiente seco y limpio, denominada I_2 y la segunda, denominada I_E , correspondiente al peso del recipiente con el agua. Las dos pesadas deben realizarse bajo las mismas condiciones y en la misma balanza. Debe tenerse cuidado en el manejo de la pesada de los recipientes, ya que es importante no tocarlos con la mano directamente, debido a que la grasa o el vapor que se desprende altera la pesada. Asimismo, es importante el control de la temperatura del aire, así como el conocimiento de la presión atmosférica para cálculos subsiguientes.

F. CALCULOS

El volúmen se determina mediante el peso del agua, de la siguiente manera:

$$V_{20} = (I_2 - I_E) \left(\frac{1}{P_w - P_A} \right) (1 - \alpha(T - 20)) \left(1 - \frac{P_A}{P_B} \right)$$

en donde:

$(I_2 - I_E)$ = La diferencia, en gramos, obtenida por la

substracción de lo indicado en la balanza, por el peso del matr az con agua y su peso cuando est a limpio y seco.

Q = Factor de conversión de la masa aparente para la balanza de un solo plato de lectura directa que equivale a 1.000013 como valor máximo, dependiendo de las indicaciones del fabricante, aunque regularmente equivale a 1.

P_w = densidad del agua 1

P_A = densidad del aire 1.29×10^{-3}

P_B = densidad de la balanza

$1 - (T-20)\alpha$ = Es el factor de expansión térmico para convertir la temperatura medida en grados Celcius, a la temperatura estándar de 20  C. El símbolo alfa representa el coeficiente de expansión térmico cúbico del material de vidrio y equivale a $0.9 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ para el vidrio tipo Pyrex.

Debido a que en la fórmula anterior los valores

de:

$$Q = \left(\frac{1}{P_w - P_A} \right) \left(1 - \frac{P_A}{P_B} \right) 1 - \alpha(T - 20)$$

son constantes, tendrán un valor igual a 2, que para fines de cálculo, será igual a 1.0011. Por lo tanto, la fórmula quedará:

$$V_{20} = (I_2 - I_E) 1.0011$$

G. RESULTADOS

Los resultados que se presentan en la Tabla 1 del Apéndice 1, corresponden a la medida de una serie de determinaciones que se realizaron para cada pipeta y matríz. El resultado negativo, indica que la medida del material es menor a la indicada y en el caso en el que no aparece signo alguno, es que es mayor a la medida indicada.

4.2. CALIFICACION DE LA CALIBRACION DE LAS BALANZAS USADAS EN EL PROYECTO

4.2.1. EQUIPO A CALIFICAR

Balanza Analítica Bosch - modelo S 2000, serie 12174.

Balanza Analítica Sartorius - modelo 2403, serie 21613.

Balanza Analítica Bosch - modelo S 2000, serie 24850.

4.2.2. METODOLOGIA

En este caso, se utilizan pesas patrón con medidas específicas desde el peso máximo aceptado por la balanza,

hasta el mínimo aceptado. Las pesas se colocan en el plato de la balanza, tomándose con guantes, ya que la grasa o la humedad de las manos puede alterar la pesada y se verifica que en la pantalla aparezca el peso indicado en la pesa patrón. Si no se encuentra dentro de las especificaciones marcadas por la balanza, se requiere de la atención del técnico especializado. Es necesario aclarar que la balanza debe estar completamente limpia y en un lugar en donde las variaciones de la humedad y la temperatura no sean muy grandes. Además, debe estar montada en un sitio especial para evitar las vibraciones.

4.2.2.1. RESULTADOS

Debido a que en el laboratorio en cuestión no se cuenta con un equipo de pesas patrón, esta metodología fué realizada por un servicio externo que proporcionó un Certificado de la calibración, cuyo resultado se muestra en la Tabla 2 del Apéndice 1.

La Tabla 2 del Apéndice 1, indica la precisión de cada una de las balanzas. Es importante aclarar que, para fines de este estudio y con el propósito de tener un estricto control de todos los parámetros que se estudian,

se utiliza la balanza analítica - Bosch - S - 2000, serie 14850, con una precisión de 0.3 mg.

4.3. CALIFICACION DEL ESPECTROFOTOMETRO

4.3.1. METODO PARA LA CALIFICACION DEL ESPECTROFOTOMETRO

En el presente estudio, se emplea el procedimiento para el uso del paquete de validación del espectrofotómetro DU serie 60, Marca Beckman, consistente en los siguientes pasos:

- Conectar el instrumento dos horas antes del ensayo. Encender las dos fuentes de luz y dejarlas estabilizar por lo menos 1 hora.
- Colocar el disco de validación "Soft Pack" en el acceso situado a mano derecha del aparato.
- Presionar el botón "Prog" para entrar al directorio.
- Presionar el botón "Step" para cambiar el programa de las áreas 6 a 12, en donde se encuentra el directorio de la validación en el siguiente orden:
Programa 6 Desviación de la línea base.
Programa 7 Exactitud, repetibilidad de longitud de onda y resolución.
Programa 8 Ensayo del ruido.

Programa 9 Localización del Pico.

Programa 10 Ensayo de la pérdida de luz.

Programa 11 Estabilidad de la línea base.

Programa 12 Revisión del Software.

- Cuando aparece en la pantalla el programa deseado, se presiona "R/5" para "correr" el programa.

A. DESVIACION DE LA LINEA BASE

- Usar el botón "Step" para colocar el programa 6. En la pantalla se lee "Prog. 6 : Base Line".
- Verificar que no exista muestra en el compartimiento de muestra.
- Presionar "R/5". El instrumento inicia el barrido de la línea base inmediatamente. En la pantalla se muestran los parámetros del barrido: "A 900 to 200 @ 500". (El barrido se lee en absorbancia desde 900 a 200 nm a 500 nm/min).
- Cuando se completa el barrido, se lee en la pantalla "End of base line test" durante dos segundos y entonces se sale para el Modo de USO normal.
- El tiempo de ensayo es de aproximadamente 8 minutos.
- La especificación para la desviación de la línea base es de ± 0.003 A.

B. EXACTITUD, REPETIBILIDAD Y RESOLUCION

- Usar el botón "Step" para cambiar al programa 7. En la pantalla se lee "Prog 7 W. 2. Tests".
- Verificar que no exista muestra en el compartimiento de muestras.
- Presionar "R/5" para que el instrumento inicie el ensayo inmediatamente. Aparece una serie de números en forma intermitente en la pantalla, entre la región de longitudes de onda de 660 nm y 481 nm.
- Cuando se completa el ensayo, se escriben los datos y se lee en la pantalla "End of W2 Tests" durante 2 segundos y se sale al modo de USO.
- El tiempo de ensayo es de aproximadamente 4 minutos.
- La especificación para exactitud de la longitud de onda es de ± 2 nm.
- La especificación para repetibilidad de la longitud de onda es de ± 1 nm.
- La especificación para resolución es de 0 - 2 nm.

C. ENSAYO DEL RUIDO

- Usar el botón "Step" para cambiar al programa 8. En la pantalla se lee "Prog 8 : OA Noise".

- Verificar que no exista muestra en el compartimiento de muestras.
- Presionar "R/5" y en la pantalla aparece "OA Noise Test". La longitud de onda se mueve a 500 nm/mn, calibrándose entonces el instrumento y colectándose automáticamente los datos.
- Después de coleccionar los datos, se imprimen y aparece en la pantalla "End of Noise Test" durante 2 segundos y se sale al modo de USO.
- El tiempo de ensayo es de 1 minuto.
- La especificación del ruido es $< 0.0005 A$

D. LOCALIZACION DEL PICO

- Utilizar el botón "Step" para cambiar al programa 9 y se leerá en la pantalla "Prog. 9 : Find Peack".
- Presionar "R/5" y contestar las siguientes cuatro preguntas para determinar los parámetros de ensayo. Para responder, emplear los botones numéricos seguidos por el "ENTER".
- Aparece "Expected Peack wr?", se coloca la longitud de onda de pico deseada.
- Aparece "Starting wl?", se coloca una longitud de onda mayor que la esperada, para que el instrumento inicie

el ensayo a partir de ésta.

- Aparece "Ending w1? y se coloca la longitud de onda menor que la esperada, para que el instrumento finalice el ensayo en esta longitud, misma que no debe ser mayor a 50 nm de la longitud mayor con respecto a la longitud de onda deseada.
- Mode XT = 1 Abs = 2?.
- Presionar (1), "enter" para determinar que se desea que el instrumento dé lecturas en transmitancia. Presionar (2), "enter", para que el instrumento dé los valores en absorbancia. (Nota: la lectura de transmitancia no es un "pico", pero es el grado del "valle" en absorbancia).
- El instrumento se mueve a la longitud de onda mayor y se lee en la pantalla "Ins Blanck : R/5 to call". Colocar la solución "blanco" y presionar "R/5" para calibrar el instrumento. Si no existe "blanco", calibrar con aire.
- En la pantalla aparece "Ins Blanck R/5 to Run". Presionar "R/5" si es que se tiene insertado el "blanco" colocado anteriormente.
- En la pantalla aparece "Ins Ms. : R/5 to Run". Colocar la muestra y presionar "R/5".
- Cuando se localiza el pico, se imprimen los datos y en la pantalla aparece "End find Peak" durante 2 segundos

y se sale al modo de USO.

- Tiempo aproximado de ensayo: 2 minutos.

Nota: Como "blanco" se utiliza ácido sulfúrico 0.101N y para la muestra (ms), Bromohidrato de dextrometorfán al 1% en ácido sulfúrico 0.101 N.

E. ENSAYO DE LA PERDIDA DE LUZ

- Usar el botón "Step" para cambiar al programa 10. En la pantalla se lee "Prog. 10 ASTM".
- Verificar que no exista muestra en el compartimiento de muestras.
- Presionar R/5 y colocar el título que se imprime en la pantalla.
- En la pantalla se lee "Wavelength 340.0". Colocar 220 ó 340, dependiendo del ensayo deseado, utilizando los botones numéricos seguidos por el botón "enter". El instrumento va a la longitud de onda buscada y se calibra.
- Cuando se lee en la pantalla "Inst S_pL : R/5 to start", colocar "R/5"; las soluciones pueden ser:

Longitud de Onda	Solución	Región
220	10 g/L de Na I acuoso	UV
340	50 g/L de NaNO ₂ acuoso	VIS

- Cuando aparece el valor de la pérdida de luz, se imprime. En la pantalla aparece "End of stray test" durante 2 segundos y se sale al modo de USO.
- Tiempo de ensayo aproximado: 1 minuto.
- Especificación de pérdida de luz a 220 nm $< 0.05\%$
- Especificación de pérdida de luz a 340 nm $< 0.05\%$

F. ESTABILIDAD DE LA LINEA BASE.

- Usar el botón "Step" para cambiar al programa 11. En la pantalla aparece "Prog. 11 : DRIFT".
- Verificar que no exista muestra en el compartimiento de muestras.
- Presionar "R/5". En la pantalla se lee "Base Line Stability". La longitud de onda se mueve a 500 nm/min. y se calibra, tomándose las lecturas durante 1 hora.
- Cuando se completa el ensayo, se imprimen los datos. En la pantalla aparece "End of Drift" durante 2 segundos y se sale al modo de USO.
- El tiempo para este ensayo es de 1 hora.
- La especificación es $< .003A$

G. REVISION DE SOFTWARE

- Usar el botón "Step" para cambiar al programa 12. En

la pantalla aparece "Prog 12 : 596716A". El "596716", es el número de pasos que contiene el Software para la ejecución de la validación en el módulo soft-pac. La letra "A" o cualquier otra, indica la revisión software que se realiza.

Cuando exista una variación en el número, es necesario enviar el paquete a verificación.

Nota: Dado que los cálculos para todos los parámetros anteriores fueron realizados por el software, no se presentan los cálculos ni los modelos estadísticos utilizados.

H. RESULTADOS

En la Gráfica 1 del Apéndice 2, se muestra el barrido realizado para comprobar la desviación de la línea base. Se indican las variaciones de las lecturas del instrumento y, como se observa, en el rango 200 a 340 que, para fines de este estudio es más importante, la variación no excede a ± 0.003 A.

En cuanto a la exactitud de la longitud de onda, se tienen los siguientes resultados:

D_2 línea 656.1 nm	Pico = 656.3	Error = 0.150 nm.
486.0 nm	Pico = 486.6	Error = 0.636 nm.

En estos resultados, el instrumento muestra el error que se tiene al realizar un barrido a las dos longitudes de onda marcadas.

En relación a la Repetibilidad, los resultados obtenidos son:

Barrido # 1 = 656.3	Barrido # 2 = 656.3	Diferencia 0.000
Barrido # 2 = 486.6	Barrido # 2 = 486.6	Diferencia 0.000

De estos resultados, se aprecia la diferencia existente al comparar dos barridos a las mismas longitudes de onda.

Por lo que respecta a la Resolución, la longitud de onda 656.1 nm D_2 línea es de 1.671 nm. Con este resultado el instrumento indica cual es el poder de resolución que tiene en una sola longitud de onda al realizar el barrido.

Los resultados del Ensayo de Ruido realizado a una velocidad de 500 nm/min., se muestran en la Tabla 3 del Apéndice 1 y corresponden a una serie de lecturas que realizó el instrumento para obtener la desviación estándar en cada una de las revisiones, calculándose

posteriormente, la media de la desviación estándar para obtenerse el ruido que tiene dicho instrumento.

En relación a la Localización del Pico, el resultado obtenido muestra la verdadera longitud de onda a la cual se deberá leer en este instrumento para realizar el estudio, siendo:

Pico deseado = 278 nm. Pico obtenido = 276.5 nm. Error = 1.51 nm.

El resultado de la pérdida de luz ($A_{220} = 0.04\%T$), revela la vida que tiene la lámpara y si está en condiciones de uso para la validación del método.

Con el dato obtenido para la Estabilidad de la línea base (Desviación = 0.00240 abs.), el instrumento indica la variación que tiene con respecto a la línea base en una duración de una hora de uso del equipo.

Con el dato de Revisión de Software (D 596716), se comprueba que el paquete está correcto y sirve para comprobar que el instrumento está listo para que se trabaje con él.

4.4. CALIFICACION DE LA MATERIA PRIMA Y DEL ESTANDAR DE REFERENCIA.

4.4.1. METODO

Debido a que el método de cuantificación y las pruebas especiales que se llevaron a cabo para la calificación, son datos confidenciales, sólo se presentan los resultados y las pruebas realizadas tanto a la Materia Prima, como al Estándar.

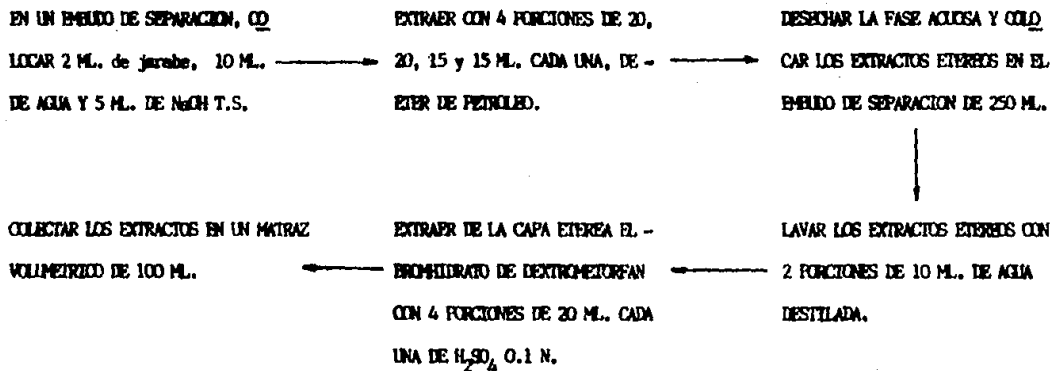
4.4.2. RESULTADOS

Los resultados del análisis del estándar se muestran en la Tabla 4 del Apéndice 1, mientras que los resultados obtenidos por el distribuidor para el análisis de la materia prima, se ilustran en la Tabla 5 del Apéndice 1. Los valores obtenidos en el análisis de la materia prima realizado en el laboratorio, se enlistan en la Tabla 6 del Apéndice 1 y el barrido del estándar de referencia para la localización del máximo de absorbancia se aprecia en la Gráfica 2 del Apéndice 2.

V. VALIDACION DEL
METODO ANALITICO

5.1. DIAGRAMA DE FLUJO DEL METODO A VALIDAR.

MUESTRA.



ESTANDAR

PESAR APROXIMADAMENTE 60 MG. DE FENOHIDRATO DE
DEXTROMETORFAN Y DISOLVER EN 50 ML. DE $\frac{1}{2}$ H_2SO_4 0.1 N.
Y AFORAR A 100 ML. EN UN MATRAZ VOLUMETRICO.



TOMAR UNA ALICUOTA DE 5 ML. Y TRANSFERIRLA A
UN MATRAZ DE 5 ML. AFORAR HASTA LA MARCA.

Usar ácido sulfúrico 0.101 N como blanco para calibrar y leer a 276,5.

5.1.1. REACTIVOS

Bromhidrato de dextrometorfan estándar primario,
de referencia, lote 19 B6.

Bromhidrato de dextrometorfan, materia prima,
Nº de lote 15967.

Acido sulfúrico valorado 0.101 N, lote 247.

Hidróxido de sodio T.S., lote B - 23834.

Placebo elaborado para la validación, compuesto
por los siguientes excipientes:

- Acido cítrico	Lote 15163
- Azucar granulada	Lote 15978
- Nigagin	Lote 15795
- Nipasol	Lote 15583
- Citrato de sodio	Lote 15965
- Color amarillo Nº 6	Lote 14931
- Sabor manzana	Lote 15701
- Sorbitol al 70%	Lote 15817
- Alcohol etílico	Lote 15970

5.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA

5.2.1. METODO EXPERIMENTAL. (16)

Se realiza el análisis por triplicado con la técnica expuesta en la Sección 5.1., a cinco soluciones, utilizando estándares de referencia de bromhidrato de dextrometorfan, a 50%, 80%, 100%, 120% y 150% con respecto al nivel central (300 mg/100 ml.), teniéndose un total de 15 pruebas.

5.2.2. METODO ESTADISTICO. (16), (7), (13).

La linealidad del sistema se evalúa por el comportamiento que tiene el sistema con respecto a la función lineal, en donde la ordenada al origen debe ser aproximadamente igual a cero y la pendiente igual a uno, para así obtener la relación lineal que describa que la cantidad adicionada (x), es igual a la cantidad recuperada (y). Esto se puede lograr mediante cuatro pruebas que se describen a continuación.

Para el valor de la ordenada al origen y la pendiente, se utiliza una prueba estadística conocida como

"t de student", que se calcula como sigue:

Para la pendiente l

$$t_{cal} = \frac{(b - b_0) S_x \sqrt{n - 1}}{S_{y/x}}$$

Para la ordenada al origen

$$t_{cal} = \frac{a - a_0}{S_{y/x} \sqrt{\frac{S_x^2}{n} (x_1 - X)^2}}$$

X = Media de la cantidad adicionada.

X₁ = Cantidad adicionada.

b₀ = l

b = Cálculo de pendiente experimental.

a₀ = 0

a = Cálculo de ordenada experimental.

S_{y/x} = Error típico de estimación.

n = Número de pruebas.

Los valores anteriores se comparan con los valores teóricos obtenidos de las Tablas del Anexo, en el que se tiene que definir primero el nivel de significancia conocido como alfa (α), que en este caso será de 0.01 y con n-2 grados de libertad; el criterio de aceptación para los dos casos es que la t_{cal} sea menor a la t_{tab} .

Otra prueba importante que ayuda a evaluar la variación existente entre las respuestas, es el coeficiente de variación, que a criterio del laboratorio se colocó en 3%, debido a que en el método se utilizan dos pasos en la extracción antes de evaluar la muestra con el espectrofotómetro.

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

Por último, se realiza un estudio de análisis de varianza, para evaluar la regresión lineal. Este análisis de varianza será de un factor y, la prueba estadística con la cual se evalúa en este análisis, es la F_{cal} con un nivel de significancia de 0.01, en donde se evalúa la regresión y la falta de ajuste, siendo el criterio de aceptación que F_{cal} de la regresión deba ser mayor a la de tablas, para que sea considerada lineal y que la F_{cal}

de la falta de ajuste, sea menor a la F_{tab} , para concluir que la recta describe la relación entre la cantidad adicionada (x) y la cantidad recuperada (y). Los valores de la F_{tab} se obtienen del Anexo 2.

Nota: Debido a que las fórmulas de cálculo de la Tabla de anadeva para evaluar la regresión lineal, fueron obtenidas de documentos del laboratorio, no se permitió su empleo para este trabajo.

5.3. PRECISION DEL SISTEMA

5.3.1. METODO EXPERIMENTAL

Para este parámetro se toman los mismos datos, debido a que se cuenta con un amplio número de muestras provenientes de una misma población, además de que la evaluación de la precisión se realiza dentro de un rango amplio de concentraciones, lo que permite evaluar estos parámetros con una mayor confiabilidad.

5.3.2. METODO ESTADISTICO

En este caso, la precisión va a definir la

concordancia que existe entre mediciones repetidas de una misma propiedad, determinadas por un solo analista y usando tanto el mismo aparato como la misma técnica.

El parámetro se evalúa con una prueba estadística conocida como χ^2 cuadrada (X^2), que realiza el estudio de la comparación de la varianza propuesta con la experimental y que se evalúa con la siguiente fórmula:

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

S^2 = La varianza experimental de la respuesta.

σ^2 = La varianza propuesta, que en este caso es = 3.

El valor obtenido del cálculo, se compara con el valor obtenido de la X^2 de tablas del Anexo 3, con un valor del nivel de significancia del 0.01 y con un área de aceptación en la que X^2_{cal} sea menor que X^2_{tab} .

Asimismo, en este caso se establece un coeficiente de variación del 3%, debiendo ser menor el coeficiente de variación experimental.

5.4. LINEALIDAD DEL METODO

5.4.1. METODO EXPERIMENTAL

Se elabora un placebo con los excipientes citados en la Sección 5.1.1. y se cargan con concentraciones de 80%, 90%, 100% y 120% del nivel central (300 mg/dl), preparado por triplicado para cada concentración. Posteriormente, se realizan análisis por duplicado de cada placebo cargado, con el método descrito en la Sección 5.1., teniendo un total de 30 pruebas.

5.4.2. METODO ESTADISTICO

El método estadístico mediante el cual se evalúa la linealidad del método, es el mismo descrito para la linealidad del sistema, Sección 5.2.2., con la diferencia de que el número de muestras evaluadas se duplicó, debido a que en este caso es necesario tener mayor confiabilidad en los resultados, porque se evalúan las interferencias por parte del placebo.

5.5. PRECISION DEL METODO

5.5.1. METODO EXPERIMENTAL

La evaluación de la precisión se realiza con los datos de la Tabla 9 del Apéndice 1, en donde se presentan los resultados obtenidos para la evaluación de los placebos y las concentraciones adicionadas, ya que así se podrá obtener una mayor confiabilidad del estudio que se realiza para la precisión, debido a que se realiza en un rango amplio de concentraciones y con una población muy grande que permite conocer si existe o no, una gran variación.

5.5.2. METODO ESTADISTICO

La evaluación de la precisión del método se efectúa de la misma manera que la evaluación de la precisión del sistema, siendo el mismo procedimiento pero un número de pruebas mayor.

5.6. EXACTITUD DEL METODO

5.6.1. METODO EXPERIMENTAL

La evaluación de la exactitud se realiza con los datos de la Tabla 9 del Apéndice 1, ya que de esta manera se podrá obtener una mayor confiabilidad para evaluar este importante parámetro de la validación, debido a que evalúa la concentración de la recuperación obtenida de los resultados y describe si el método es confiable o no.

5.6.2. METODO ESTADISTICO

La exactitud es la concordancia entre un valor experimental y el valor aceptado de referencia, el cual se evalúa mediante la "t de student" que representa la variación que existe entre la media de un valor propuesto y el valor experimental. La fórmula para evaluar este parámetro es:

$$t_{cal} = \frac{\bar{X} - M}{S/\sqrt{n}}$$

donde:

- \bar{X} = Media experimental de la respuesta.
- M = Media teórica propuesta.
- S = Desviación estándar de muestra, experimental.
- n = Número de determinaciones.

El valor obtenido en el cálculo, se compara con

la "t de student" de las tablas del Anexo 1, con un nivel de significancia de 0.01, debiendo quedar como sigue:

$$t_{cal} \leq t_{tab}$$

Esto representa el criterio a seguir para evaluar la exactitud y proporciona la información de si el método es válido para utilizarse en el Control de Calidad.

5.7. RE-EVALUACION DE LA EXACTITUD

5.7.1. METODO EXPERIMENTAL

Para la re-evaluación de la exactitud, se usaron los placebos cargados con la concentración al 100% (300 mg/dl), utilizados en la linealidad, a los cuales se les aplica el examen expuesto en la Sección 5.1.

5.8. REPRODUCIBILIDAD DEL METODO ANALITICO

5.8.1. METODO EXPERIMENTAL

Se determinará por medio de un análisis de varianza de dos factores, en el que se evalúan dos días/dos

analistas/tres análisis. Para tal efecto, se elaboran seis placebos cargados con el nivel central al 100% (300 mg/ml) y cada analista realiza el análisis con el método expuesto en la Sección 5.1., en dos días diferentes cada quien.

5.8.2. METODO ESTADISTICO

En este caso, se avalúa al método en diferentes condiciones que pueden alterar los resultados, tales como son el analista y el día en que cada quien lo realice, para conocer en qué puede afectar a cada uno de los analistas; es decir, el estado de ánimo que presente cada analista en los diferentes días de la semana. Para llevar a cabo este estudio, es necesario recurrir a una prueba especial de la estadística, conocida como "análisis de varianza", que efectúa un estudio de los datos, comparando las varianzas de cada una de las poblaciones estudiadas, para así dar a conocer si es que existe una verdadera variación que pueda alterar el buen juicio del analista dando falsos resultados. En esta prueba, se utiliza también un nuevo estadígrafo conocido como F, el cual auxilia en la manera de determinar si el método es o no preciso.

En el Apéndice 1, se encuentra a Tabla 12 como

auxilio para lograr la realización del presente estudio, así como los parámetros que se evalúan.

Para todos los casos citados en la Tabla 12 mencionada, el nivel de confianza será de 0.05 y los grados de libertad se determinan de la siguiente manera:

$$\text{Para } F_{0.95} A = \frac{a-1}{(a-1)(b-1)} \quad \text{Para el analista.}$$

$$F_{0.95} = \frac{b-1}{(a-1)(b-1)} \quad \text{Para el día.}$$

$$F_{0.95} A-D = \frac{(a-1)(b-1)}{ab(c-1)} \quad \text{Para la interacción.}$$

La F de tablas se obtendrá del Anexo 2. En todos los casos anteriores, la F de cálculo debe ser menor a la F de tablas, para considerar que el método es reproducible.

La explicación de los cálculos no se dará en este proyecto, ya que en la bibliografía consultada se mencionan muy ampliamente, al igual que en las Tesis que se han realizado con ese propósito, además de que la finalidad del proyecto es validar el método y no la de redundar en explicaciones estadísticas.

5.9. ESPECIFICIDAD DEL METODO

5.9.1. METODO EXPERIMENTAL

Se analizan dos placebos cargados al 100% (300 mg/100 ml.), dos placebos y dos estándares de la siguiente manera:

- a) A un placebo, al estándar y al placebo cargado, se les someterá al método para verificar si existe alguna interferencia entre el placebo y el principio activo.

- b) El otro placebo, al estándar y al placebo cargado, se someterán durante 15 días a una degradación con peróxido de hidrógeno al 30%, ácido clorhídrico 10N e hidróxido de sodio 10N, a una temperatura de 60°C, verificando si existió o no degradación, mediante cromatografía de capa fina, utilizando como sistema de detección la cámara de Iodo. Además, se efectuará un barrido espectrofotométrico, para conocer si los productos de degradación del placebo y la interacción del placebo con el principio activo, exhiben algun pico* después de haber sido sometidos al método de análisis.

Dado que en la bibliografía no se reportan posibles productos de degradación, se realizarán hidrólisis tanto ácida como básica, para saber si se producen los compuestos desmetilados o algún producto oxidado como le ocurre a la morfina. Esto se deduce debido a que en la bibliografía se reportan productos de oxidación de la morfina y, por ser moléculas parecidas, extrapolando puede pensarse que también el dextrometorfan los tenga. (1)

* Se refiere a la respuesta del producto degradado y éste se arrastra en el análisis.

5.10. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

5.10.1. METODO EXPERIMENTAL

Se utilizan los mismos placebos que para la linealidad del método, a la concentración central y se analizan las muestras hasta el paso en el que se añoran a 100 ml. con ácido sulfúrico 0.101 N, para evaluar la estabilidad a las 3, 6 y 24 horas, a temperatura ambiente, luz blanca, la obscuridad y a 4 °C.

5.10.2. METODO ESTADISTICO. (20), (13).

Cuando varias comparaciones no son independientes entre sí, no se puede utilizar la prueba típica de t o F para juzgar, una a una, su significación por separado. La obtención de una expresión de probabilidad conjunta relativa a una serie de comparaciones, no se define con las pruebas ya conocidas. También ocurre con frecuencia, que después de examinar los datos, el experimentador desea probar algunos contrastes particulares, sugeridos por los mismos datos. En este caso, no son válidas ninguna de las pruebas corrientes de t o de F . No obstante, estos datos son de interés para que sugieran o proporcionen pistas en cuanto a la naturaleza de los tratamientos.

Probablemente, la situación se presenta con más frecuencia en la comparación de un control con varios tratamientos, tanto en medicamentos como en nuevos procesos y en la comparación de cada uno de ellos con un medicamento o proceso típico. Para este caso, se utiliza la prueba de t de Dunnet, que involucra los tratamientos y el estimador de la variante del error, S^2 .

Para obtener los valores para esta prueba

estadística, se utilizan las siguientes fórmulas:

$$d_1 = \bar{Y}_1 - \bar{Y}_0$$

$$d_2 = \bar{Y}_2 - \bar{Y}_0$$

$$d_3 = \bar{Y}_3 - \bar{Y}_0$$

$$d_4 = \bar{Y} - \bar{Y}_0$$

En donde \bar{Y}_0 son las medidas por tratamiento.

\bar{Y} es la medida del control.

Sd es la variabilidad de la media (diferencial).

S' es la variabilidad obtenida del tratamiento.

$$Sd = \frac{\sqrt{2S^2}}{n}$$

y para obtener la comparación se realiza lo siguiente:

$$\frac{d_1}{Sd} = t_d \text{ Dunnett de cálculo}$$

$$\frac{d_2}{Sd} = t_d \text{ Dunnett de cálculo.}$$

$$\frac{d_3}{Sd} = T_d \text{ Dunnett de cálculo.}$$

$$\frac{d_4}{Sd} = t_d \text{ Dunnett de cálculo.}$$

Una aclaración importante, es que el estudio del error se debe realizar como si se estuviera en un análisis de varianza y los grados de libertad fueran iguales a los grados de libertad del error entre dos.

El criterio de aceptación es que la t de Dunnett de cálculo, sea menor que la t de tablas, en todos los casos.

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la linealidad del sistema se resumen en la Tabla 7 del Apéndice 1 y se ilustran en la Gráfica 3 del Apéndice 2.

A continuación, se proporcionan los valores del cálculo para la evaluación de la pendiente y la ordenada al origen.

Nivel de significancia = 0.01
Coeficiente de correlación = 0.9994
Ordenada al origen = 0.4920
Pendiente = 1.0236

Inferencia de A

Inferencia de B

$t_{\text{de cálculo}} = 0.6183$

$t_{\text{de cálculo}} = 2.2128$

$t_{\text{de tablas}} = 3.0123$

$t_{\text{de tablas}} = 3.0123$

Area de aceptación = $0.6183 < 3.0123$

Area de aceptación = $2.2128 < 3.0123$

Intervalo de confianza = 2.8889

Intervalo de confianza = 0.9915

a 1.9049

Coefficiente de variación establecido = 3%

Media de la respuesta $\bar{R} = 101.5931$

D.E. de la respuesta $DE_R = 1.2386$

C.V. exp. = 1.2192

Criterio de aceptación $1.2192 < 3\%$

Por otro lado, en la Tabla 8 del Apéndice 1, se muestran los valores obtenidos para evaluar si la recta describe una relación lineal, así como la relación entre el valor adicionado con el recuperado.

En cuanto a la precisión del sistema, de la Tabla 7 del Apéndice 1 se obtienen los siguientes resultados para la evaluación de la precisión.

Desviación estándar de la respuesta

S = 1.2192

Desviación estándar propuesta

= 3

$$n = 15$$

$$x^2_{cal} = 2.3122$$

$$x^2_{tab} = 31.319$$

$$\text{Area de aceptación} = 2.3864 < 31.319$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.8281 \text{ a } 2.2958$$

Media de la D.E. de la repuesta

$$R = 101.5931$$

$$D.E. = 1.2386$$

$$C.V. EXP. = 1.2192$$

En la Tabla 9 del Apéndice I, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de los placebos y las concentraciones adicionadas, con relación a la linealidad del método.

A continuación se muestran los resultados que se obtuvieron para la evaluación de la pendiente y la ordenada al origen:

$$\text{Nivel de significancia} = 0.01$$

$$\text{Coeficiente de correlación} = 0.9961$$

$$\text{Ordenada al origen} = - 0.3373$$

$$\text{Pendiente} = 0.9900$$

Inferencia de A

$$t_{\text{de cálculo}} = -0.0676$$

$$t_{\text{de tablas}} = 2.7633$$

$$\text{Area de aceptación} = 0.0676 < 2.7633$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 15.372 \text{ a } 14.6924$$

Inferencia de B

$$t_{\text{de cálculo}} = -0.6053$$

$$t_{\text{de tablas}} = 2.7633$$

$$\text{Area de aceptación} = 0.6053 < 2.7633$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.9763 \text{ a } 1.0037$$

En la Gráfica 4 del Apéndice 2, se representan los resultados de la Tabla 9, mientras que los resultados para el coeficiente de variación son:

$$\text{Media de la Respuesta} \quad \bar{R} = 98.8576$$

$$\text{D. E. de la respuesta} \quad DE = 1.3353$$

C.V. exp. = 1.3507, que es menor al 3% establecido.

El análisis de varianza para evaluar si la recta describe la relación de la cantidad adicionada con la recuperada, se muestra en la Tabla 10 del Apéndice 1.

Ahora bien, de la Tabla 9 del Apéndice 1, se obtienen los siguientes resultados con relación a la precisión del método.

$$\text{Desviación estándar de la respuesta} \quad S = 1.3507$$

$$\text{Desviación estándar propuesta} \quad = 3$$

	$n = 30$
	$X'_{cal} = 5.8785$
	$X'_{tab} = 52.336$
Area de aceptación	$= 5.7453 < 5.2336$
Intervalo de confianza	$= 0.9910 \text{ a } 1.9792$

Para la evaluación de la exactitud del método, se toman de la Tabla 9 del Apéndice 1, los siguientes valores "calculados" en el rango de 90 - 120%

Media de la respuesta	$\bar{R} = 98.8576$
D.E. de la respuesta	$DE = 1.3353$
	$t_{cal} = 4.6860$
	$t_{tab} = 2.7564$
Area de aceptación	$= 4.6860 > 2.7654$
Intervalo de confianza	$= 98.1856 \text{ a } 99.1014$

Los siguientes resultados se obtuvieron de la misma Tabla 9, debido a la necesidad de hacer su estudio porque el rango anterior se encontró que el método no era exacto. En el rango 90 - 110% se obtuvo lo siguiente:

Media de la respuesta	$\bar{R} = 99.2772$
D.E. de la respuesta	$S = 1.2724$

Nivel de confianza	= 0.01
t de cálculo	= 2.4100
t de tablas	= 2.8982
Area de aceptación	= 2.4100 < 2.8982
Intervalo de confianza	= 98.3829% a 100.1713%

Para comprobar si el método es o no exacto con estos nuevos datos, se realizó una re-evaluación de la exactitud a un solo nivel de concentración, teniéndose los resultados de la Tabla 11 del Apéndice 1, así como los mencionados abajo, obtenidos a partir de los cálculos de la Tabla 11 citada.

Media de la respuesta	\bar{R} = 99.3660
D.E. de la respuesta	S = 0.8215
Nivel de significancia	= 0.01
t de cálculo	= 2.3153
t de tablas	= 3.3554
Intervalo de confianza	= 98.4472 a 100.2848
Area de aceptación	= 2.3553 < 3.3554

En cuanto a la reproducibilidad del método, los resultados se muestran en la Tabla 13 del Apéndice 1, mientras que en la Tabla 14 del mismo Apéndice, se presentan

los datos de la respuesta únicamente, debido a que se utilizan en los siguientes cálculos:

Nivel de significancia = 0.05

$$\sum y_{ij} = 362749.5595$$

$$\sum y_i = 725497.3022$$

$$\sum y = 1450985.030$$

$$\sum y_j = 725494.0171$$

$$y_{ijk} = 120925.6354$$

Los resultados de la reproducibilidad del método, se presentan en forma resumida en la Tabla 15 del Apéndice 1. Para realizar los cálculos, se utilizó la Tabla 12 del Apéndice 1 y, como se puede observar, la $F_{de\ cálculo}$ es menor a la $F_{de\ tablas}$.

El Cuadro 1 del Apéndice 3, corresponde a la Especificidad del método y representa las cromatografías realizadas a los placebos, placebos cargados y estándar, encontrándose degradación muy poco significativa, ya que no es completa en la oxidación. La letra A, señala al punto de aplicación, mientras que la B el punto de recorrido del principio activo, C al producto oxidado y D, al

desplazamiento del placebo.

Asimismo, las Gráficas 5 a 15, representan el barrido espectrofotométrico de cada prueba, con excepción de la correspondiente al barrido del estándar sometido a degradación con NaOH 10N, el cuál queda representado por el resultado del placebo cargado, sometido a la misma prueba.

La Gráfica 5 del Apéndice 2, corresponde al placebo sin degradar sometido al método y no muestra ninguna respuesta significativa, mientras que la Gráfica 6 representa al estándar sin degradar, sometido al método, mostrando una respuesta normal con un porcentaje de recuperación de 100.8%.

El barrido del placebo cargado sin degradar, sometido al método, se ilustra en la Gráfica 7, apreciándose una respuesta normal con un porcentaje de recuperación de 100.3% y, el barrido del placebo degradado con NaOH 10N, sometido al método, sin mostrar respuesta significativa, se observa en la Gráfica 8.

La Gráfica 9 se refiere al placebo degradado

con H_2O al 30%, sin que muestre respuesta significativa; la Gráfica 10 muestra el barrido del placebo degradado con HCl 10N, sometido al método sin que muestre respuesta significativa; la Gráfica 11 ilustra el barrido del estándar degradado con HCl 10N, mostrando una respuesta aunque normal, menor, debido a la dilución por la adición de la solución de HCl 10N, de tal manera que no se dá porcentaje de recuperación y; la Gráfica 12 está relacionada con el estándar degradado con H_2O_2 al 30%, sometido al método y revelando una respuesta normal, solo que mucho menor tanto a la anterior como al resto de las pruebas, lo cual se debe a la posible degradación.

Por lo que respecta a las Gráficas 13, 14 y 15, se ilustra, respectivamente, el barrido del placebo cargado degradado con HCl, del placebo cargado degradado con H_2O y del placebo cargado degradado con NaOH, los tres sometidos al método mostrando una respuesta normal. En el primero de estos tres casos, la respuesta fué menor a las anteriores debido a la cantidad de solución adicionada para diluir la muestra, mientras que en el segundo caso la respuesta fué menor debido a la posible degradación, siendo menor también en el tercero, debido a la cantidad de solución adicionada de NaOH 10N.

Con relación a la estabilidad de la muestra, en la Tabla 16 del Apéndice 1 se muestran únicamente los porcentajes de recuperación, toda vez que tanto la concentración adicionada como la recuperada, ya se expusieron con anterioridad en este mismo Capítulo.

Ahora bien, debido a que el laboratorio de referencia no autorizó la publicación de los cálculos, a continuación sólo se dan los valores de la t de Dunnet y algunos otros; sin embargo, puede hacerse referencia a la bibliografía (20) para conocer la manera en que se realizan.

Para la oscuridad:

- Suma de cuadrados del error = 8.2668
- Media de cuadrados del error = 1.3778
- Media del control = 99.2358
- Nivel de confianza = 95%
- Grados de libertad = 6

Tratamiento:

	t de Dunnett de cálculo	t de Dunnett de tablas
3h	1.0213	3.10
6h	0.4693	3.10
24h	0.9891	3.10

Para la refrigeración:

Suma de cuadrados del error	= 8.6305
Media de cuadrados del error	= 1.4384
Nivel de confianza	= 95%
Grados de libertad	= 6

Tratamiento	t Dunnett de cálculo	t Dunnett de tablas
3 h	- 0.1954	3.10
6 h	0.0037	3.10
24 h	0.7317	3.10

Para Luz Blanca:

Suma de cuadrados del error	= 23.5313
Media de cuadrados del error	= 3.9219
Nivel de confianza	= 95%
Grados de libertad	= 6

Tratamiento	t Dunnett de cálculo	t Dunnett de tablas
3 h	- 0.1805	3.10
6 h	- 0.0602	3.10
24 h	- 0.2809	3.10

Como se puede observar, en todos los casos la t de Dunnett de cálculo es menor a la t de Dunnett de tablas.

VII. DISCUSION DE
RESULTADOS

De los resultados obtenidos con relación a la calibración del material de vidrio, puede desprenderse que las pipetas se consideran dentro del rango de aceptación, ya que solo una de las pipetas de 2 ml. y una de las pipetas de 5 ml. se desviaron únicamente 0.001 ml., considerándose que esta desviación además de no ser alta, no influye fundamentalmente en el desarrollo del proyecto y por lo tanto, pueden considerarse como pipetas de 2 y 5 ml. respectivamente. Esta desviación puede atribuirse a que durante los días en que se realizaron las pruebas, la temperatura ambiental fué elevada y pudo alterar la buena resolución de las pipetas.

En el caso de los matraces, el problema fué mayor, debido a que se evaluaron tres marcas diferentes y ninguno cumplió con la especificación. Por lo tanto, se decidió el uso de los matraces Marca Pyrex, los cuales se dejaron con el aforo con el que se recibieron para evitar confusión al efectuarse un remarcado; sin embargo, los matraces de 25 ml. quedaron con un error de 0.06 ml en lugar de 0.03 ml., utilizándose en consecuencia el valor de 24.94 ml.

Como aforo para los matraces de 50 ml., quedó un error de 0.21 ml. en lugar de 0.05 ml., por lo que el aforo utilizado fué de 49.79 ml., mientras que para los matraces de 100 ml. fué de 99.61 ml. al encontrarse un error de 0.39 ml. en lugar de 0.08 ml.

En consecuencia, el material de vidrio no es fuente de error en la evaluación de la Validación del método.

Por lo que respecta a la calibración de la balanza, se utilizó la de valor inferior en la pesada, ya que su valor es exacto hasta la cuarta cifra significativa y por lo tanto es más precisa y tampoco representa una fuente de error en el proyecto.

En la calificación del espectrofotómetro, se encontró que la desviación de la línea base fué de 0.003A a - 0.003 A, cumpliendo con la especificación de ± 0.003 A. La exactitud obtenida a 656.1 nm y 486.6 nm, fué de 0.150 nm y 0.636 nm respectivamente, siendo menores estos valores al de 2 nm propuesto por el fabricante. Asimismo, la repetibilidad de las longitudes de onda anteriores es de 0, lo cual cumple con la especificación que señala que no debe ser mayor a 1.

La resolución obtenida a 656.1 nm es de 1.671 nm, cumpliendo con la especificación de no ser mayor a 2 nm. Por otro lado, el ensayo de ruido reporta un valor de 1.9367×10^{-5} A, que es mucho menor al propuesto de 5×10^{-4} A. Asimismo, el aparato reporta un error en la localización del pico de 1.51, lo cual lleva a decidir que no se leerá a 278 nm, sino a 276.5 nm. Este error pudo deberse a que el medio en el que se reporta el máximo a 278 nm es agua y a la influencia del tipo de lámpara usada para leer; por lo tanto, para evitar algún problema en el desarrollo del proyecto, se hará uso de la longitud de onda localizada por el espectrofotómetro, para tener el control total de todas las fuentes de error; esto es, del equipo de vidrio, de la balanza analítica y del espectrofotómetro.

Por lo que respecta a la calificación de la materia prima y el estándar de referencia, no se encontró ninguna diferencia significativa que lograra afectar el buen desarrollo del proyecto y sólo cabe hacer notar, que se verificó nuevamente la longitud de onda del bromhidrato de dextrometorfan en un barrido espectrofotométrico, encontrándose la variación de 1.5 nm en el estándar de referencia.

En consecuencia, ninguno de los compuestos citados en el párrafo precedente, afectará el buen desarrollo de la validación, teniéndose un control sobre todas las posibles fuentes de error.

Asimismo, se realizó el estudio de control de calidad a los reactivos y materias primas utilizadas en el método para la cuantificación y la elaboración del placebo, sin que ninguno presentara diferencia significativa en el estudio y encontrándose todos dentro de los límites aceptados para pasar el control de calidad.

Como se puede apreciar en los párrafos anteriores, se trató de controlar toda fuente que pudiera causar un error en la validación, de tal manera que los resultados

que se expondrán a continuación, corresponderán a las condiciones óptimas de trabajo y por lo tanto, servirán para saber si el método es válido o no para utilizarse en la cuantificación del principio activo, como producto terminado y a granel.

Se iniciará con la linealidad y precisión del método. En la linealidad y durante el transcurso de casi todo el proyecto, se utilizó un nivel de significancia de 0.01, debido a que antes de realizar la lectura en el espectro, se efectúan dos extracciones que pueden afectar el análisis por pérdida del principio activo. Así, los resultados obtenidos para conocer si el sistema describe una buena linealidad, son:

En la inferencia de la ordenada al origen, el estadígrafo de contraste obtenido fué de - 0.6183, que es menor al de 3.0123 obtenido de tablas, por lo que la ordenada al origen se considera como cero.

El estadígrafo de contraste calculado para evaluar la pendiente, fué de 2.2128, valor menor al obtenido de tablas (3.0123), de tal manera que la pendiente se considera como 1.

El coeficiente de variación obtenido fué de 1.2192, que es menor al 3% establecido para el proyecto. Asimismo, en el análisis de la regresión se encontró que la F de cálculo de la regresión (9209.5363), es mucho mayor a la F de tablas (9.07), mientras que la F de cálculo de la falta de ajuste (5.3340), es menor a la F de tablas (6.55), pudiéndose inferir con esto, que el sistema describe tanto un modelo lineal, como la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

Con relación a la precisión del estadígrafo de contraste, el valor de χ^2 cuadrada calculado (2.3864) es mucho menor al obtenido de tablas (31.319), por lo que se desprende que el sistema es preciso.

Como se puede observar, en el estudio se encontró que el sistema cumple satisfactoriamente con todos los parámetros establecidos y no existe falla alguna en el mismo, pudiéndose visualizar con ello, que se controlaron perfectamente todas las posibles fuentes de error y que se puede continuar el estudio para verificar si el método es válido o existe alguna interferencia por los excipientes o algún otro factor externo.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

En la linealidad del método, se obtuvo que en la inferencia de la ordenada al origen, el estadígrafo de contraste calculado (- 0.0676) es mucho menor al obtenido de tablas (2.7633), lo cual significa que la ordenada al origen se considera como cero. El estadígrafo de contraste calculado para la pendiente (- 0.6053), también es menor al obtenido de tablas (2.7633), deduciéndose así que la pendiente puede considerarse como 1. El coeficiente de variación calculado fué de 1.3507%, siendo menor al propuesto de 3%, mientras que en la evaluación del coeficiente de correlación se encontró que la F de cálculo de la regresión (32.81), es mucho mayor al valor de 9.07 y la F de cálculo de falta de ajuste (- 1.1533) es menor al valor de 6.55. Esto lleva a deducir que el método describe una relación lineal y que además existe una buena relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

En cuanto a la precisión del método, se encontró que la X^2 de cálculo (5.7453) es mucho menor que la de tablas, 52.336, lo que significa que el método es preciso.

La evaluación de la exactitud del método fué más problemática, debido a que se encontró que en el rango de concentración de 80 - 120%, la t de student de cálculo,

4.686, es mayor a la t de tablas, 2.7564, con un intervalo de confianza de 98 a 102%, lo cual llevó a la realización de un estudio de los datos, para localizar el problema, encontrándose que el método era más exacto en el rango de concentraciones de 90 - 110%, ya que la t de student de cálculo fué de 2.4100, siendo menor a la de tablas (2.8982) y el rango fué de 98.3829 a 100.1713, de tal manera que puede desprenderse que el método se vuelve inexacto a concentraciones altas y bajas con respecto al valor central. Para verificar si esta suposición era verdadera, se realizó otro estudio de la exactitud del método, usando solo el nivel central (100%) y se encontró que la t de student experimental (2.3153), es menor a la de tablas (3.3554) y el intervalo de confianza es de 98.4472 a 100.2848, de tal manera que al comparar estos valores con los del rango del primer experimento del 90 - 110%, se puede observar que son semejantes y por lo tanto, puede deducirse que el método es exacto únicamente bajo estos parámetros.

Por otro lado, el estadígrafo de contraste F de cálculo para el analista Día/interacción, fué de 15.2252, 3.7615 y 0.0460 respectivamente, que son valores bastante menores a la F de tablas (161.21, 161.21 y 5.32, respectiva

mente), por lo cual se deduce que el método es preciso al cumplir con los dos parámetros importantes, a saber: repetibilidad (precisión del método) y reproducibilidad.

En la especificidad del método, se encontró que no existe interferencia por parte del placebo, como puede observarse en las Gráficas 5, 6 y 7 del Apéndice 2, ya que el placebo no muestra respuesta significativa al ser sometido al método de análisis, siendo la misma la respuesta del placebo cargado y el estándar. También se comprobó que el principio activo es relativamente estable, toda vez que a pesar de colocarse en condiciones extremas para lograr su degradación, ésta no se consiguió en todos los casos, alcanzándose sólo en la oxidación. Esto se puede comprobar tanto en la cromatografía como en el barrido espectrofotométrico, observándose en la primera, una pequeña separación de otro compuesto que en la realidad, no logró aumentar la respuesta, existiendo una disminución muy significativa apreciable en los barridos del estándar, pudiéndose pensar que se debe a la oxidación del principio activo. Asimismo, cabe aclarar que en la hidrólisis, tanto básica como ácida, no se obtuvieron los productos desmetilados del dextrometorfan, lo cual significa que el principio activo es estable en estos medios.

De igual manera, se debe aclarar que la longitud de onda a la que se presenta la máxima absorbancia, es la misma en casi todos estos productos, razón por la cual es preciso que se tenga un método completamente específico para el control de calidad de la materia prima y este método quede exclusivamente para la evaluación del jarabe de bromhidrato de dextrometorfan.

Finalmente y haciendo referencia a la estabilidad de la muestra, en donde se realizó el experimento para observar si en realidad el principio activo es estable en el medio en el que se lee el espectro, se vió que en todos los casos, el estadígrafo de contraste es mucho menor que el de tablas, lo cual lleva a suponer que el principio activo es muy estable en el ácido sulfúrico 0.1 N y que, si por algun problema ajeno al analista, no se puede realizar la lectura, se podrá guardar la solución para leerla posteriormente. El almacenamiento dependerá de la forma de trabajo del analista y no de algún factor en especial.

VIII. CONCLUSIONES

De lo anteriormente expuesto, puede concluirse que el método cumple con todos los parámetros establecidos para la validación y puede utilizarse para evaluar la concentración del principio activo en producto terminado y a granel. Además, también se comprobó que las extracciones realizadas para separar el principio activo de los excipientes, cumplen con lo requerido.

Por otro lado, es necesario hacer notar que la temperatura ambiental del laboratorio afectó al método, ya que al elevarse la temperatura, el éter de petróleo, por su volatilidad, se empieza a evaporar y a escapar por

rendijas del embudo o a botar el tapón, por lo que se recomienda que se coloque un sistema de ventilación o bien, se trabaje durante horas del día en las que el calor no sea muy elevado.

Finalmente, se hace resaltar que se cumplió con el objetivo primordial del presente proyecto; esto es, validar el método analítico del Bromhidrato de Dextrometorfan para que sea confiable en la valoración del mismo y se pueda asegurar así la calidad del medicamento al tener controlado el método.

IX. A P E N D I C E S

9.1. APENDICE 1

T A B L A 1

PIPETAS DE 2 ML.	PIPETA DE 5 ML.	MATRACES DE 25 ML.	matraces de 50 ML.	MATRACES DE 100 ML.
Error (ml.)	Error (ml.)	Error (ml.)	Error (ml.)	Error (ml.)
0.0074	- 0.0073	- 0.0621	- 0.2519	- 0.393
- 0.0046	- 0.0117	- 0.06	- 0.2845	- 0.393
- 0.0037		- 0.0586	- 0.2683	- 0.393
		- 0.0655	- 0.2544	- 0.393
		- 0.0546		- 0.393

T A B L A 2

DATOS DE CALIBRACION DE BALANZAS
REPORTADOS POR "SERVICIO GÖTTINGEN"

Balanza Bosch - Modelo S 2000, Serie 12174:	0.4 mg.
Balanza Bosch - Modelo S 2000, Serie 14850:	0.3 mg.
Balanza Sartorius - Modelo 2403, Serie 121613:	0.5 mg.

Las balanzas fueron calibradas con pesas patrón,
verificadas por la Dirección General de Normas.

T A B L A 3

RESULTADOS DE ENSAYO DE RUIDO

1	Desviación Estándar = 0.000	A
2	Desviación Estándar = 0.000	A
3	Desviación Estándar = 0.000	A
4	Desviación Estándar = 0.000	A
5	Desviación Estándar = 0.000	A
6	Desviación Estándar = 3.9233 E-05	A
7	Desviación Estándar = 3.6323 E-05	A
8	Desviación Estándar = 3.3977 E-05	A
9	Desviación Estándar = 3.2034 E-05	A
10	Desviación Estándar = 5.2102 E-05	A

Media = 1.9367 E-05 Abs.

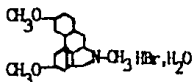
T A B L A 4
ANALISIS DEL ESTANDAR

EN EL LABORATORIO

Sustancia de referencia

Bromhidrato de dextrometorfan, Lote 19-B 6

Descripción



Fórmula desarrollada

$C_{18}H_{25}N, HBr, H_2O = 370.33$

Fórmula condensada

d1-Cis-1,3,4,9,10a-hexa hidro-6-metoxi-11-metil-
-2H10,2a-imino etano fenantreno.

Nombre químico

Precauciones para uso y conservación

Conservar protegido de la luz,
calor y humedad

%Zona de fusión

Determinada por el método

general de tubo capilar

Espectro de absorción al infrarrojo

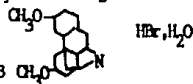
Determinado en tableta de

bromuro de potasio.

CASA COMERCIAL

Bromhidrato de dextrometorfan, Lote 19-B 6

Polvo blanco cristalino y sabor amargo



$C_{18}H_{25}N, HBr, H_2O = 370.33$

d1-Cis-1,3,4,9,10a-hexa hidro-6-metoxi-11-metil-
-2H10,2a-imino etano fenantreno.

Conservar protegido de la luz, calor y humedad.

123.80 a 127.6 °C

Mostró un máximo a la misma longitud de onda
que una preparación estándar.

T A B L A 4
(CONTINUACION)

Pérdida al secado

Determinado por el método de

Karl Fisher

4,99%

4,86%

pH

Determinado potenciométricamente

con una solución al 2%

5,9

5,69

Absorción U.V.

Con una solución de 100 mcg 1 ml.

en ácido sulfúrico 0.101 N

Gráfica 2, Apéndice 2

Máxima ab. E 1% - 1 cm. a 278 nm 53.9

*Rotación óptica específica

Determinada a 20 °C en un tubo

de 1 dm. de longitud

+ 27.63°

Valoración química

Titulación con ácido perclórico

T A B L A 4
(CONTINUACION)

0.1 N en medio de ácido acético

glacial/acetato de mercurio

99.91%

99.76%

* Datos proporcionados por la Casa Comercial. El resto de los datos fueron verificados en el laboratorio, con los resultados que se presentan.

T A B L A 5

ANALISIS DE BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFAN REALIZADO POR
BULK MEDICINES & PHARMACEUTICALS GmbH.

Lote Nº:	240-019
Cantidad:	100 Kgs.
Peso de la Molécula:	370,33 monohidrato 352,31 anhídrido
Descripción:	Pólvo cristalino blanco o prácticamente blanco con poco odor.
Solubilidad:	Soluble en alcohol y en cloroforno. Ligeramente soluble en agua; insoluble en eter.
Identificación:	
Absorción infrarrojo:	positivo.
Absorción ultravioleta:	positivo.
Dev. max. absorbancia (278 nm) < de 3,0%:	1,34%
Bronuro:	Positivo

T A B L A 5
(CONTINUACION)

Rotación específica:	Dev. = 0.30%
Valor de p_i (1 en 100):	5.69
Agua:	5.02%
Residuo de ignición:	0.05%
Dimetilaminas:	Nada
Compuesto de Fenol:	Conforme.
Contenido:	99.20%

Producto conforme a las especificaciones de USP XXI/BP.

T A B L A 6

ANALISIS DE LA MATERIA PRIMA, REALIZADO EN EL LABORATORIO

DETERMINACION	ESPECIFICACION	RESULTADO
Descripción	Cristales prácticamente blancos o polvo cristalino de color cremoso, con olor ligero	Cristales prácticamente blancos con ligero olor característico.
Solubilidad	Parcialmente soluble en alcohol y en cloroformo; insoluble en éter.	Facilmente soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol; insoluble en éter.
Identificación	a) El espectro de absorción U.V. muestra máximas a 278 nm. b) Se forma un precipitado amarillo blanqueco.	a) Conforme al patrón de referencia, la longitud de onda es 276 nm. b) Forma precipitado amarillo en AgNO_3 0.1 N
Rotación específica	Determinada fotoeléctricamente a 325 nm (180 mg/110 ml), no más de 1.0%	
pH	Entre 5.2 y 6.5 (1 mg en 100 ml)	6.13
Humedad	Entre 3.5% y 5.5% (método)	5.3%

T A B L A 6
(CONTINUACION)

Determinación de residuo de ignición	No más de 0.10%	0.06%
N,N, Dimetilalanina	No más de 0.001%	Menos de 0.001%
Compuesto fébrico	No aparece color azul verdoso en presencia de ferrocianuro de potasio	No desarrolló color azul
Ensayo	No menos de 98% y no más de 101% B.S	95.19% B.H. 100.49% B.S.

T A B L A 7

ANALISIS PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA

Cantidad Adicionada (mg)	Cantidad Recuperada (mg)	Respuesta (%)
35.3028	36.5613	103.5648
35.3028	35.1902	99.6811
35.3028	56.4415	100.9757
86.1808	56.4415	100.4640
56.1808	57.3555	102.0909
56.1808	56.6700	100.8707
70.6056	72.2203	102.2869
70.6056	71.9988	101.9731
70.6056	72.8849	103.2282
85.1253	86.1770	101.2354
85.1253	85.2908	100.1945
85.1253	85.2908	100.1945
105.8135	109.4646	103.4552
105.8135	108.3340	102.3820
105.8135	107.1484	101.3088

T A B L A 8
TABLA DE ANADEVIA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F _{de cálculo}	F _{tab}
Regresión	1	9128,4958	9128,4958	9209,5363	9,0
Error de la regresión	13	12,8851	0,9912		
Falta de Ajuste	3	7,9297	2,6432	5,3340	6,5
Error Puro	10	4,9554	0,4955		

T A B L A 9
EVALUACION DE PLACEBOS

CANTIDAD ADICIONADA (mg.)	CANTIDAD RECUPERADA (mg.)	RESPUESTA (%)
229.2175	225.3811	98.3263
229.2175	228.7325	99.7884
230.5502	224.5433	97.3945
230.5502	225.3811	97.7579
230.2646	223.7054	97.1515
230.2646	221.1919	96.0599
256.6322	260.5662	101.5329
256.6322	259.7147	101.2011
256.2515	255.4571	99.6900
256.2515	251.1995	98.0285
258.0601	260.5663	100.9711
258.0601	257.1601	99.6513
286.2363	279.9368	97.3163
286.2363	282.4684	98.6836
285.8556	284.1598	99.4050
285.8556	280.7820	98.2251
285.8556	284.1548	99.4050
286.8556	285.8412	99.9949

T A B L A 9
(CONTINUACION)

314.7933	308.6073	98.0349
314.7933	317.0392	100.7134
314.2222	308.6073	98.2131
314.2222	311.1368	99.0181
315.1741	306.0777	97.1138
315.1741	314.5096	99.7892
342.3984	341.1469	99.6345
342.3984	339.4577	97.6809
343.0648	342.8191	99.9284
343.0648	338.6384	98.7098
342.8749	336.1300	98.0330
342.8744	336.9661	98.2768

T A B L A 10
EVALUACION DE LA REGRESION

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F _{de cálculo}	F _{tab}
Regresión	1	47172,2562	47172,2562	3281,2515 >	9,07
Error de regresión	28	402,5354	14,3763		
Falta de ajuste	13	-815887,2506	-62760,5577	1,1533 <	6,55
Error puro	15	816289,7860	54419,3191		

T A B L A 11

EVALUACION DE EXCATITUD

CANTIDAD ADICIONADA (mg.)	CANTIDAD RECUPERADA (mg.)	RESPUESTA (\bar{R}) (%)
286.5185	282.5185	98.7011
286.5185	285.0785	99.5850
286.5185	280.8318	98.1190
285.8556	286.7352	100.3077
285.8556	285.8919	100.0127
285.8556	286.7352	100.3077
285.8556	285.4846	99.8702
285.8556	282.1358	98.6987
285.8556	282.1358	98.6987

T A B L A 12

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F _{cálculo}	F _{tablas}
Efecto A _i analista	A - 1	$\frac{\sum y_i^2}{bc} - \frac{y^2}{abc}$	SCA/a-1	MEA/MC AF	F 0,95
Efecto D _j día	b - 1	$\frac{\sum y_j^2}{ac} - \frac{y^2}{abc}$	SCD/b-1	MCD/MCAD	F 0,95
Efecto Interacción día-analista A/D	(a-1)(b-1)	$\frac{\sum y_{ij}^2}{c} - \frac{\sum y_i^2}{bc} - \frac{\sum y_j^2}{ac} + \frac{\sum y^2}{abc}$	SCAD/(a-1)(b-1)		F 0,95
Error	ab(c-1)	$\sum y_{ijk}^2 - \frac{\sum y_{ij}^2}{c}$	SCE/ab(c-1)		

T A B L A 13

	CONCENTRACION ADICIONADA (mg.)	CONCENTRACION RECUPERADA (mg.)	RESPUESTA (%)
	286.3315	285.4826	99.6034
A ₁ -D ₁	276.4318	283.6467	102.5070
-	286.4267	285.4826	99.5703
	285.7604	285.1143	99.7831
A ₂ -D ₂	286.4867	287.8383	100.6807
-	286.6171	286.0223	101.6868
	286.3315	285.9976	99.6737
A ₁ -D ₂	276.4318	278.5931	100.3709
-	286.4267	291.5510	99.6923
	285.7604	287.8326	100.6240
A ₂ -D ₂	286.4867	285.1172	99.4220
	286.6171	289.6428	100.9542

T A B L A 14
DATOS DE RESPUESTA

	D I A 1	D I A 2
	99.6034	99.7831
Anal 1	102.5070	100.6807
	<u>99.5703</u>	<u>101.6868</u>
	301.6831	302.1506

	99.6737	100.624
Anal 2	100.3709	99.4220
	<u>99.6927</u>	<u>100.9942</u>
	299.7369	301.0002

T A B L A 15
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

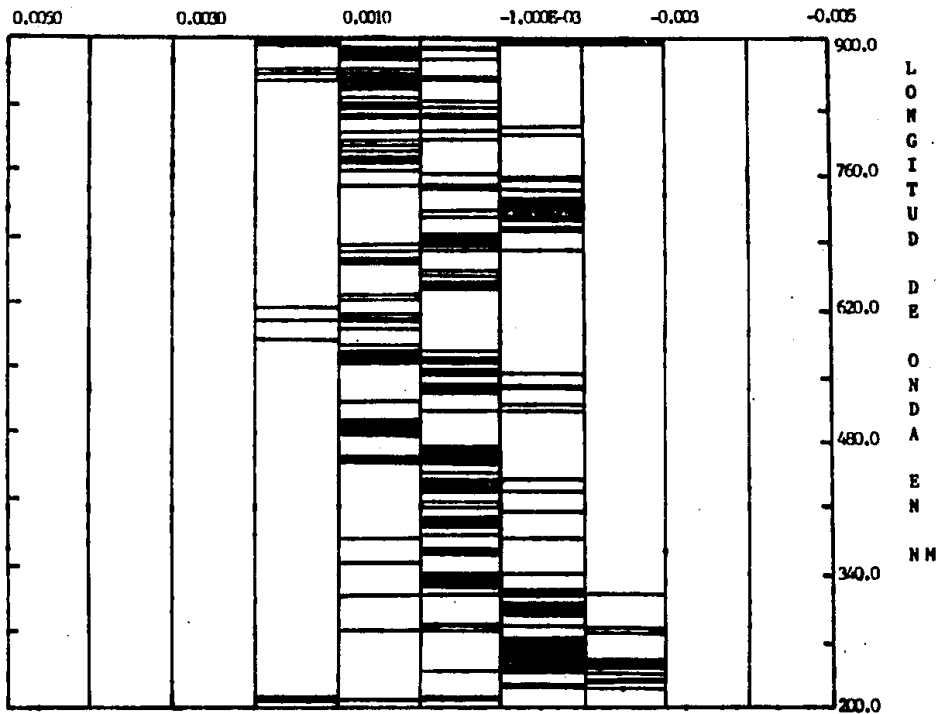
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F _{de cálculo}	F _{tab}
Analista	1	0.7978	0.7978	15.2262	< 161.4
Día	1	0.1971	0.1971	3.7615	< 161.4
Interacción	1	0.0524	0.0524	0.0460	< 5.32
Error	8	9.1156	1.1395		

T A B L A 16

	OSCURIDAD	REFRIGERACION	LUZ BLANCA
	99.585	98.7011	98.1119
0h	100.0127	100.3077	100.3077
	<u>88.8202</u>	<u>98.6987</u>	<u>98.6897</u>
	299.4679	297.7075	297.1093
	99.585	98.9958	97.228
3h	100.6027	99.7177	100.6027
	<u>100.4560</u>	<u>98.4598</u>	<u>98.4118</u>
	300.6437	297.1333	296.2425
	98.585	99.1529	97.5226
6h	100.3077	101.3346	100.8978
	<u>100.1639</u>	<u>99.3698</u>	<u>98.4058</u>
	299.0566	297.7183	296.8262
	97.9824	99.1524	96.5200
24h	101.3346	101.3346	100.7488
	<u>100.0843</u>	<u>99.3698</u>	<u>98.4869</u>
	299.4013	299.7183	295.7567

9.2. APENDICE 2

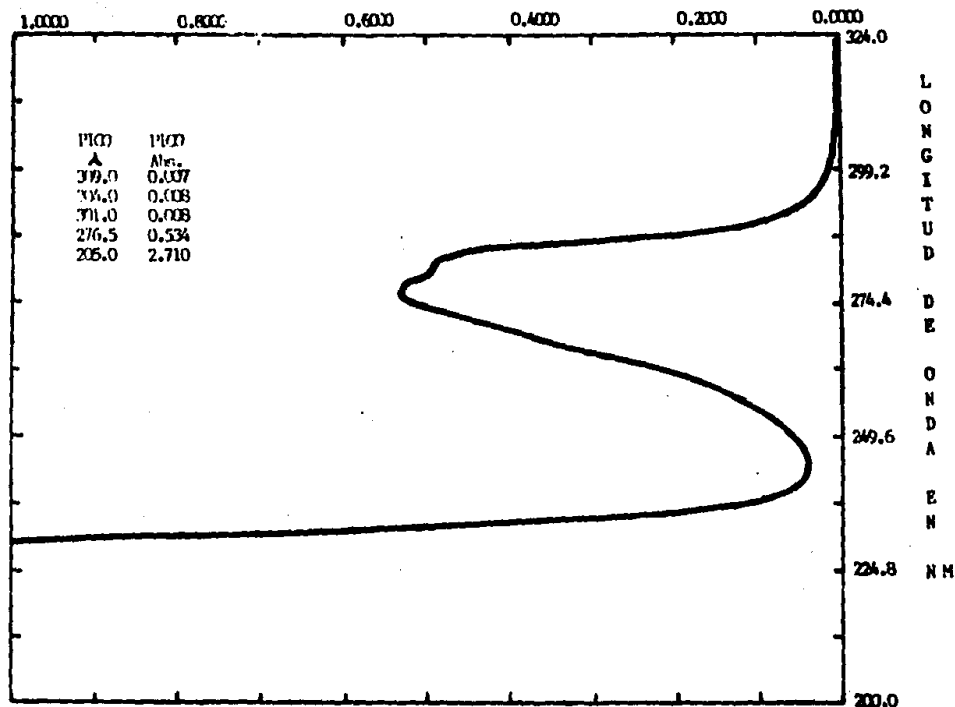
GRAFICA 1
 ABSORBANCIA



111

EN LA GRAFICA SE MUESTRA LA DESVIACION DE LA LINEA BASE, MISMA QUE NO ES MAYOR A ± 0.003 A, PRINCIPALMENTE EN EL RANGO DE 340NM A 200NM.

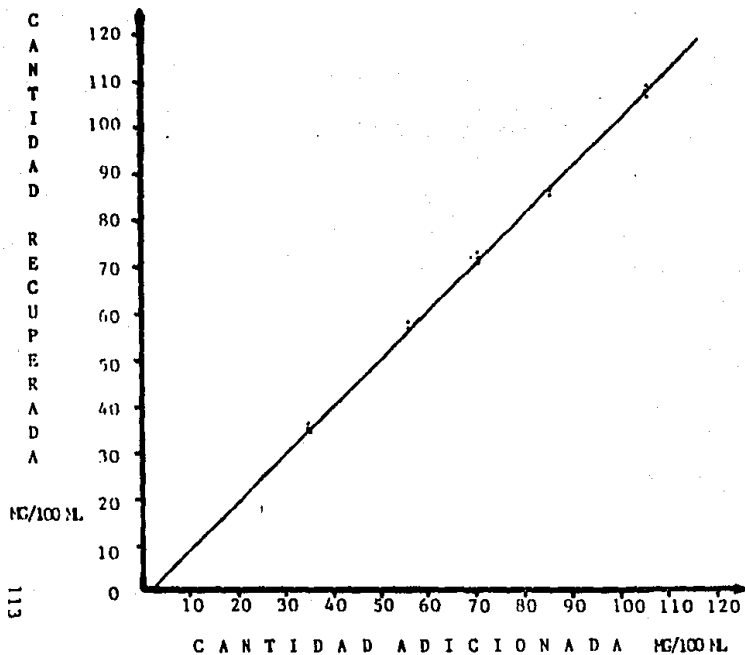
GRAFICA 2
 ABSORBANCIA



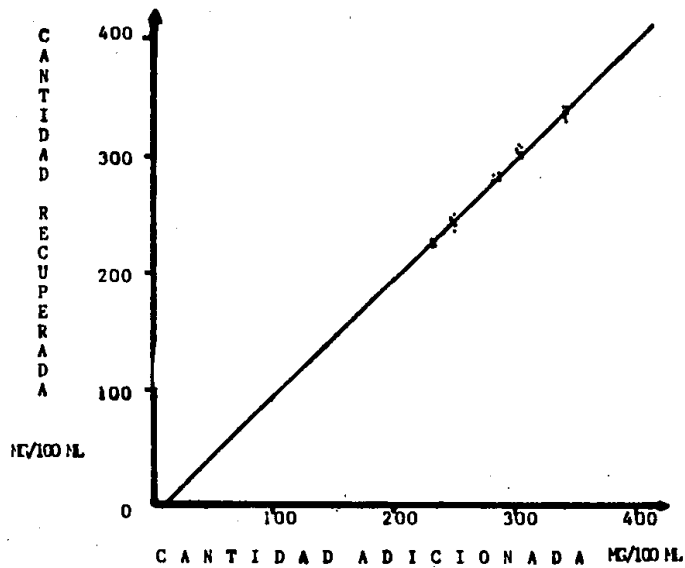
LA GRAFICA MUESTRA EL BARRIDO DEL ESTANDAR DE REFERENCIA PARA LOCALIZAR EL MAXIMO DE ABSORBANCIA DETECTADO, SIENDO A 276.5 N M.

GRAFICA 3

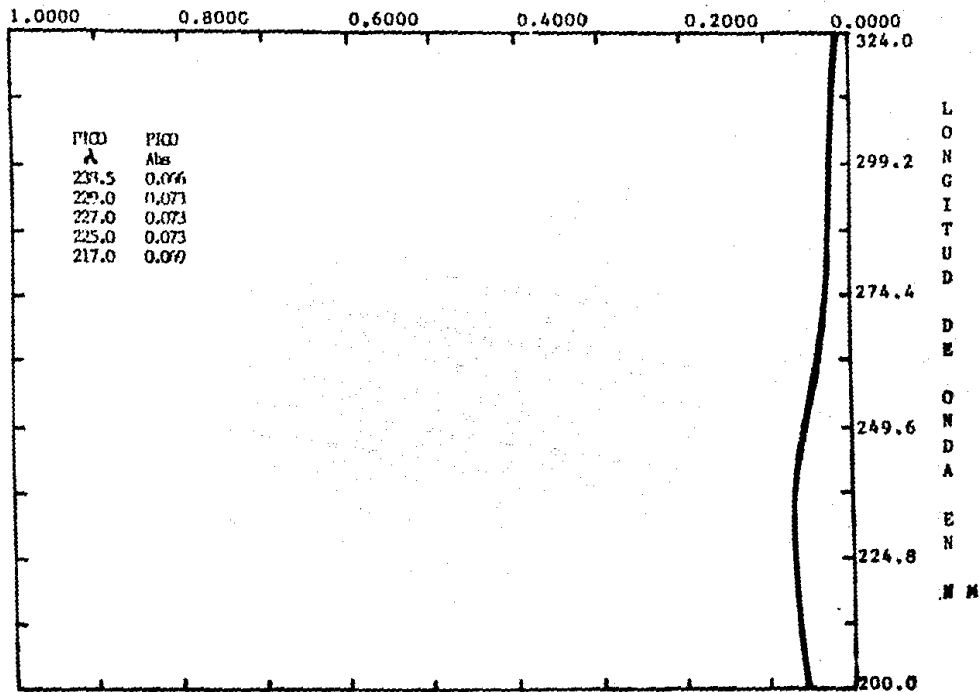
REPRESENTACION GRAFICA DE LA LINEALIDAD DEL SISTEMA



GRAFICA 4
REPRESENTACION GRAFICA DE LA LINEALIDAD DEL METODO

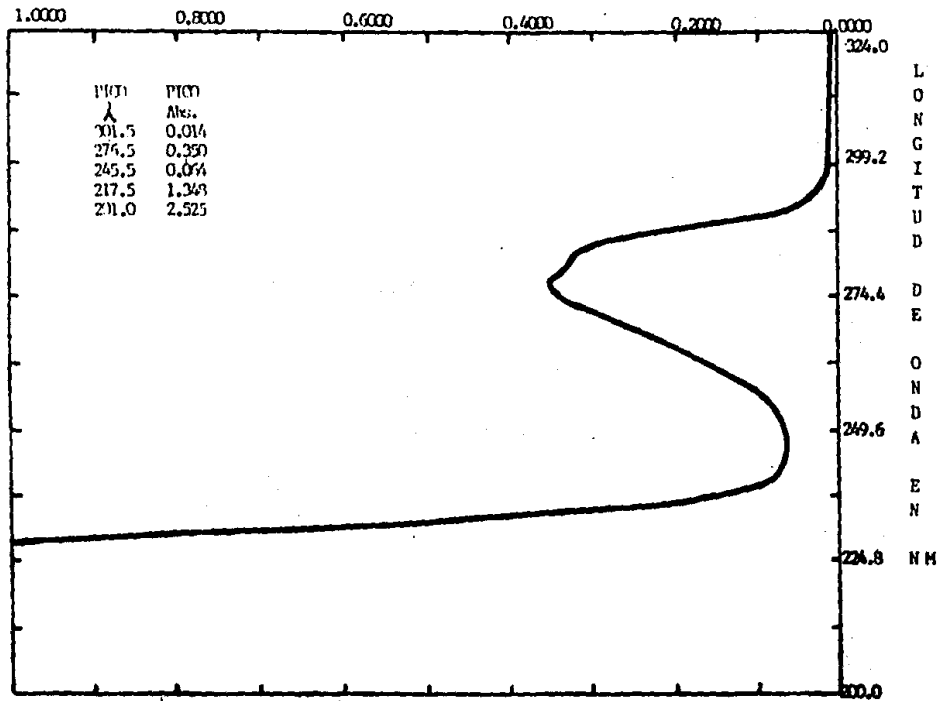


GRAFICA 5
 ABSORBANCIA



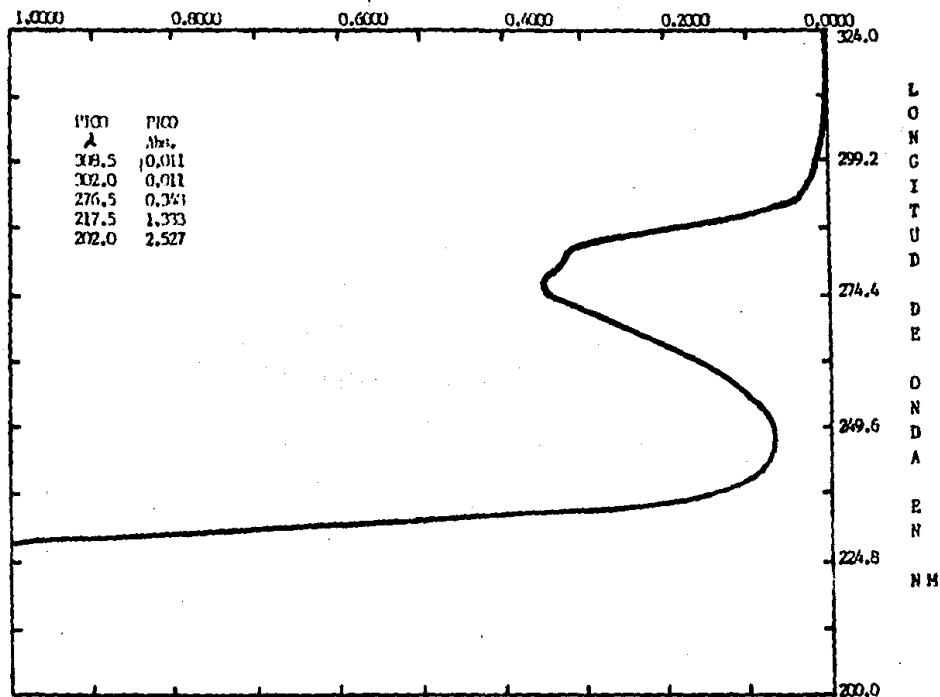
LA GRAFICA MUESTRA EL PARRIDO DEL PLAZEO SOMETIDO AL METODO, SIN MOSTRAR RESPUESTA SIGNIFICATIVA A 276.5 NM.

GRAFICA 6
ABSORBANCIA



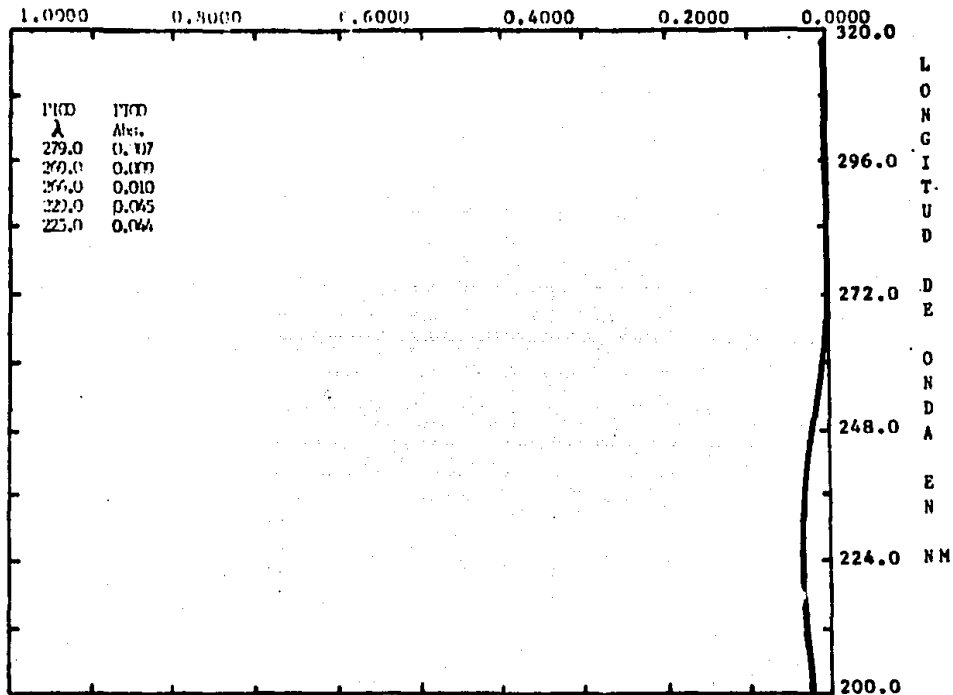
SE MUESTRA EL ESTADO SIN DESARROLLAR PREPARADO COMO FLUORO CARBONO, ANOTANDOSE UN 7% DE REPERACION DE 100.62, SIN PICO SIGNIFICATIVOS

GRAFICA 7
 ABSORBANCIA



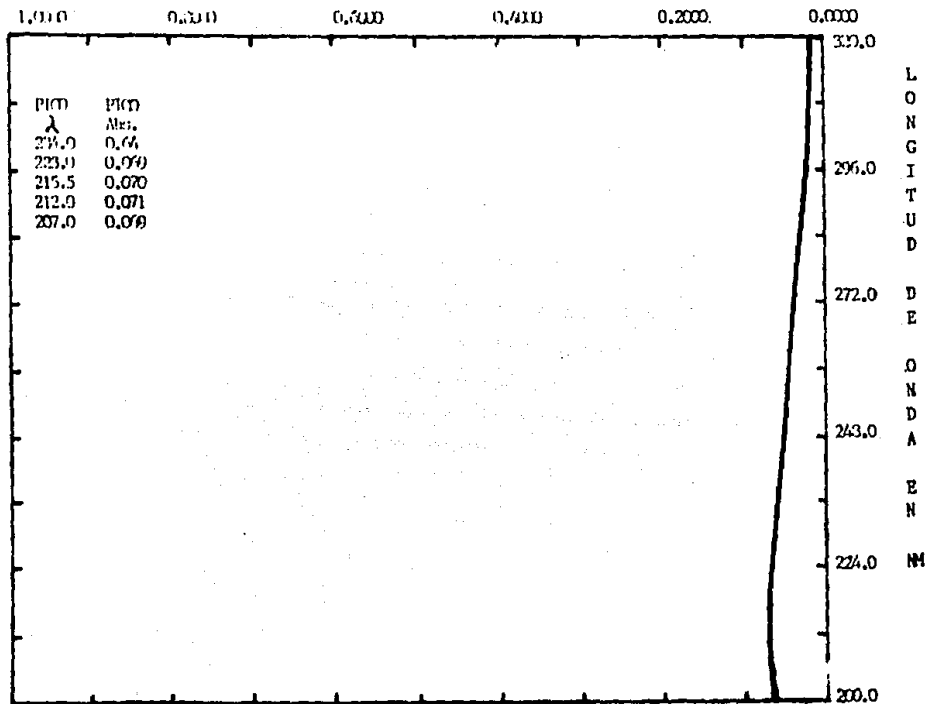
LA GRÁFICA MUESTRA EL PUNTO DEL MÁXIMO CROMÓFORO SIN INTERFERIR, CON UN 100% DE RECUPERACION Y SIN RESPUESTA SIGNIFICATIVA.

GRAFICA 8
 ABSORBIANCIA



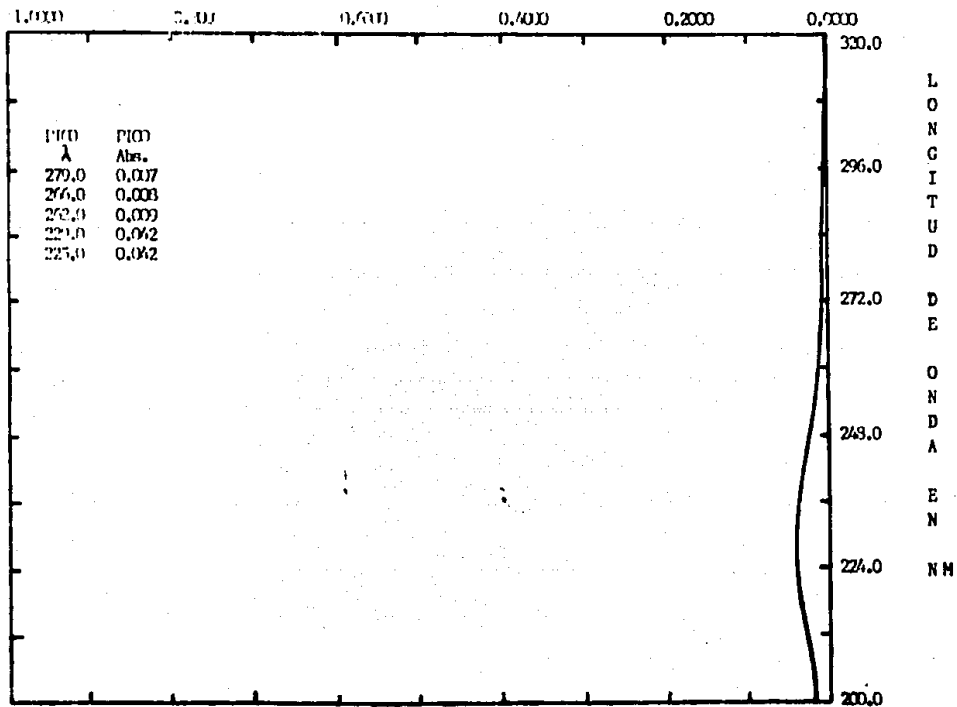
REPRESENTACION DEL PUNTO DEL MAXIMO DECAIMADO CON UN FENOMENO DE SODIO 10 N, SIN INTERFERENCIA SIGNIFICATIVA A 276.5 NM.

GRAFICA 9
ABSORBANCIA



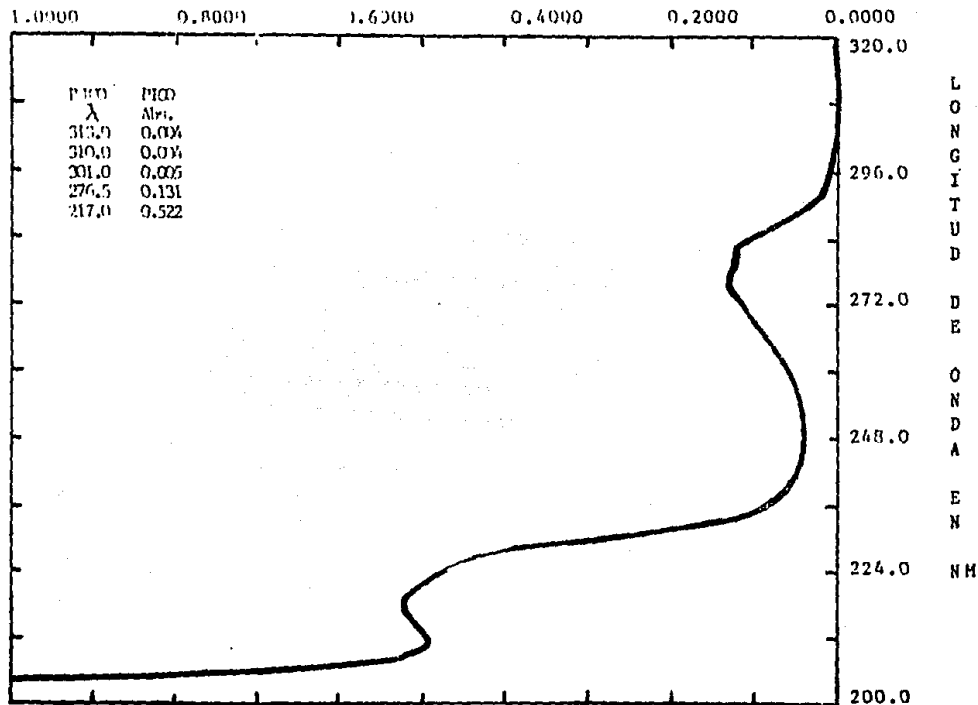
REPRESENTACION DEL PASADO DEL PLACITO DEGRADADO CON FLUORURO DE HIDRÓGENO AL 20%. SIN RESPUESTA SIGNIFICATIVA A 276.5 NM.

GRAFICA 10
 ABSORBANCIA



REPRESENTACION DEL RANDEO DEL PLAZO DETERMINADO CON ACIDO CLOROFENICO 10 N, SIN RESPUESTA SIGNIFICATIVA A 276.5 N M.

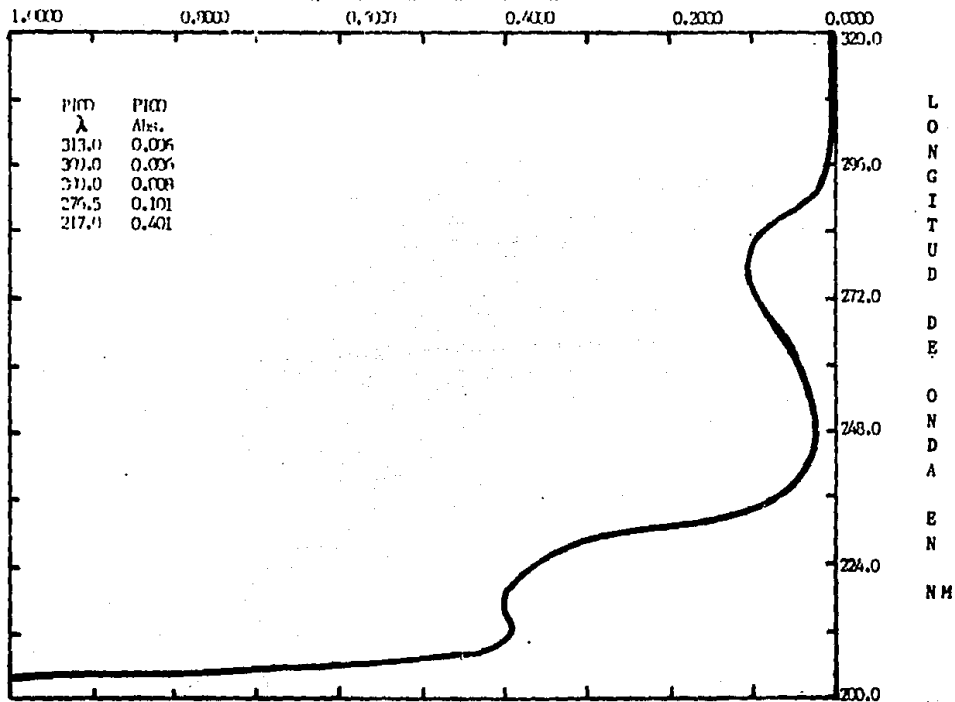
GRAFICA 11
 ABSORBANCIA



REPRESENTACION DEL ESTANDAR DEGRADADO CON ACIDO CLORHIDRICO 10 N, CON RESPUESTA EQUIPARABLE A LA MUESTRA SIN DELFADAR POR NO HABER HANIDO DEGRADACION. LA OBTENTANCIA ES MEJOR DEBIDO A QUE LA MUESTRA SE DILUYO CON LA SUSTANCIA DEGRADANTE.

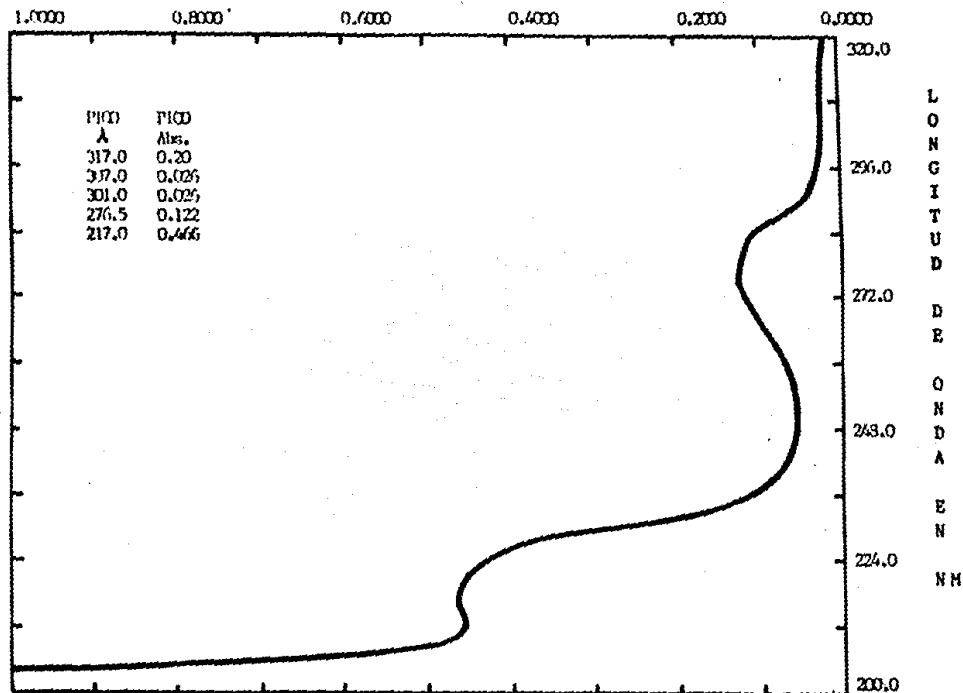
G R A F I C A 1 2

A B S O R B A N C I A



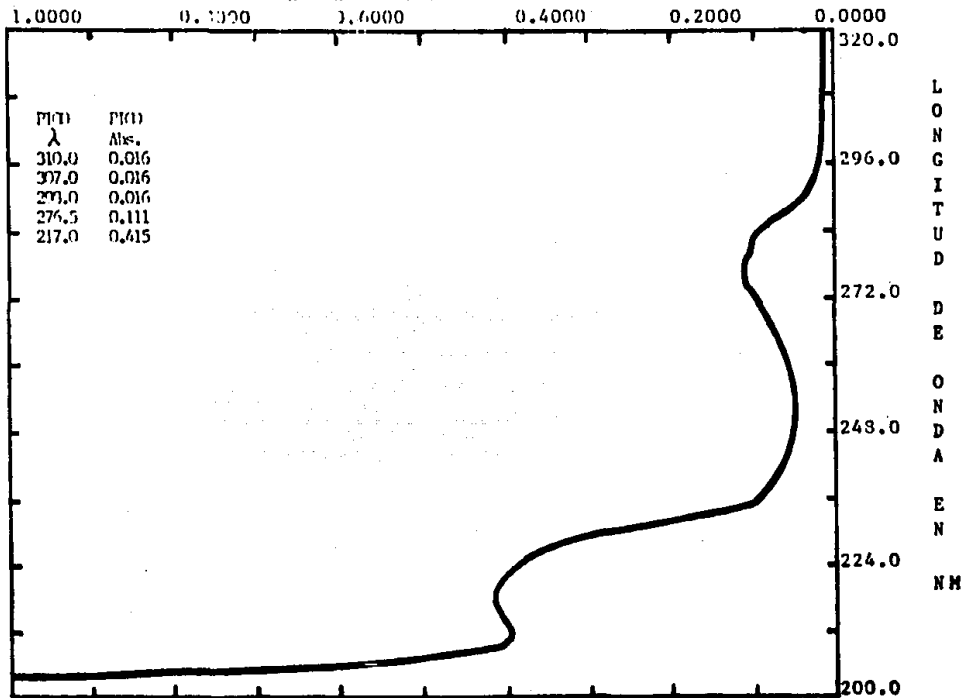
REAFERENCION DEL BARRIDO DEL ESTANDAR DEGRADADO CON PEROXIDO DE HIDROGENO AL 30% SIN MOSTRAR RESPUESTA SIGNIFICATIVA.

GRAFICA 13
 ABSORBANCIA



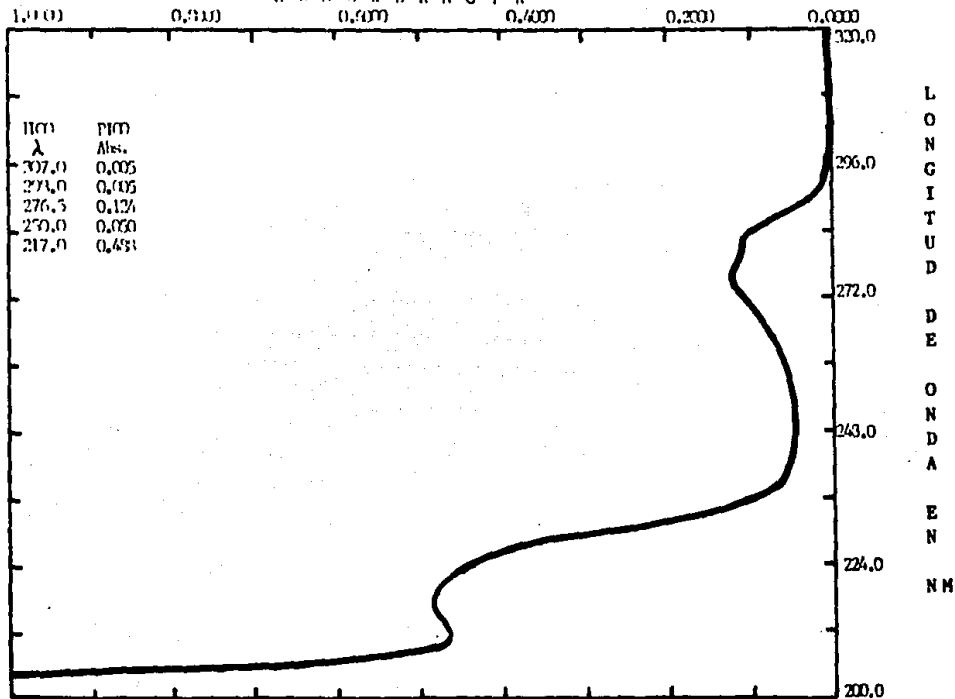
GRAFICA 14

ABSORBANCIA



DETERMINACION DEL PUNTO DE FUSION CALGADO, DETRANDO CON PRESENIA DE HIDROXIO AL 30%, SIN MOSTRAR RESPUESTA SIGNIFICATIVA.

GRAFICA 15
 ABSORBANCIA



IDENTIFICACION DEL HARCITO DEL PLACIDO CARGADO, DEGRADO (C): ESTATIVO DE SODIO 10 N, SIN MOSTRAR RESPUESTA SIGNIFICATIVA.

9.3. APENCICE 3

C U A D R O 1

.B :A		CD
Std. HCl	Std. HCl	Std. HCl	Std. HCl	Std. NaOH	Std. NaOH	Std. NaOH	Std. NaOH	Std. H ₂ O ₂	Std. H ₂ O ₂	Std. HCl	Std. HCl	Placebo HCl	Std. HCl	Placebo HCl	Std. HCl	Placebo NaOH	Std. NaOH

.
Placebo NaOH	Std. H ₂ O ₂	Placebo H ₂ O ₂	Std. H ₂ O ₂	Placebo Cargado HCl	Std. Cargado HCl	Placebo Cargado NaOH	Std. Cargado NaOH	Placebo Cargado NaOH	Std. Cargado NaOH	Placebo Cargado H ₂ O ₂	Std. Cargado H ₂ O ₂	Placebo Cargado H ₂ O ₂	Std. Cargado H ₂ O ₂	Placebo Cargado H ₂ O ₂	Std. Cargado H ₂ O ₂	Placebo Cargado H ₂ O ₂	Std. Cargado H ₂ O ₂

X. ANEXOS

A N E X O 1

PORCENTAJES DE LA DISTRIBUCION JI-CUADRADO

gl	$\chi^2_{0.005}$	$\chi^2_{0.005}$	$\chi^2_{0.01}$	$\chi^2_{0.025}$	$\chi^2_{0.05}$	$\chi^2_{0.10}$	$\chi^2_{0.20}$	$\chi^2_{0.30}$	$\chi^2_{0.40}$
1	0.000000393	0.0000393	0.000157	0.000982	0.00393	0.0158	0.0642	0.148	0.275
2	0.00100	0.0100	0.0201	0.0506	0.103	0.211	0.446	0.713	1.022
3	0.0153	0.0717	0.115	0.216	0.352	0.584	1.005	1.424	1.869
4	0.0639	0.207	0.297	0.484	0.711	1.004	1.649	2.195	2.753
5	0.158	0.412	0.554	0.831	1.145	1.610	2.343	3.000	3.655
6	0.299	0.676	0.872	1.237	1.635	2.204	3.070	3.828	4.570
7	0.485	0.999	1.239	1.690	2.167	2.833	3.822	4.671	5.493
8	0.710	1.344	1.646	2.180	2.733	3.490	4.594	5.527	6.423
9	0.972	1.735	2.088	2.700	3.325	4.168	5.380	6.393	7.357
10	1.265	2.156	2.558	3.247	3.940	4.565	6.179	7.267	8.295
11	1.587	2.603	3.053	3.816	4.575	5.578	6.939	8.148	9.237
12	1.924	3.074	3.571	4.404	5.226	6.304	7.807	9.034	10.182
13	2.305	3.565	4.107	5.009	5.902	7.042	8.634	9.926	11.129
14	2.697	4.075	4.660	5.629	6.571	7.790	9.467	10.821	12.079
15	3.108	4.601	5.229	6.262	7.261	8.547	10.307	11.721	13.030
16	3.536	5.142	5.812	6.908	7.962	9.312	11.152	12.624	13.983
17	3.980	5.697	6.408	7.564	8.672	10.085	12.002	13.531	14.937
18	4.439	6.265	7.015	8.231	9.390	10.865	12.857	14.440	15.893
19	4.912	6.844	7.633	8.907	10.117	11.651	13.716	15.352	16.850
20	5.398	7.434	8.260	9.591	10.851	12.443	14.578	16.266	17.809

A N E X O 1
(CONTINUACION)

gl	$\chi^2_{0.50}$	$\chi^2_{0.60}$	$\chi^2_{0.70}$	$\chi^2_{0.80}$	$\chi^2_{0.90}$	$\chi^2_{0.95}$	$\chi^2_{0.975}$	$\chi^2_{0.99}$	$\chi^2_{0.995}$	$\chi^2_{0.9995}$
1	0.455	0.708	1.074	1.642	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879	12.116
2	1.386	1.833	2.408	3.219	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597	15.202
3	2.366	2.946	3.665	4.642	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838	17.730
4	3.357	4.045	4.878	5.989	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860	19.998
5	4.351	5.132	6.064	7.289	9.236	11.070	12.832	15.086	16.750	22.105
6	5.348	6.211	7.231	8.558	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548	24.103
7	6.346	7.283	8.383	9.803	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278	26.018
8	7.344	8.351	9.524	11.030	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955	27.868
9	8.343	9.414	10.656	12.242	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589	29.666
10	9.342	10.473	11.781	13.442	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188	31.419
11	10.341	11.530	12.899	14.631	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757	33.136
12	11.340	12.584	14.011	15.812	18.549	21.026	23.336	26.217	28.300	34.821
13	12.340	13.636	15.119	16.985	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819	36.478
14	13.339	14.685	16.222	18.151	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319	38.109
15	14.339	15.733	17.322	19.311	22.307	24.996	27.488	30.578	32.601	39.719
16	15.338	16.780	18.418	20.465	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267	41.308
17	16.338	17.824	19.511	21.615	24.760	27.587	30.191	33.409	35.718	42.879
18	17.338	18.868	20.601	22.760	25.989	28.969	31.526	34.805	37.156	44.434
19	18.338	19.910	21.689	23.900	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582	45.973
20	19.337	20.951	22.775	25.038	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997	47.498

A N E X O 2

PORCENTAJES DE LA DISTRIBUCION t

gl	t _{0.60}	t _{0.70}	t _{0.80}	t _{0.90}	t _{0.95}	t _{0.975}	t _{0.99}	t _{0.995}	t _{0.9995}
1	0.3250	0.7270	1.376	3.078	6.3138	12.706	31.821	63.657	636.619
2	0.2885	0.6172	1.061	1.886	2.9200	4.3027	6.965	9.9248	31.598
3	0.2766	0.5840	0.978	1.638	2.3534	3.1825	4.541	5.8409	12.924
4	0.2707	0.5692	0.941	1.533	2.1318	2.7764	3.747	4.6041	8.610
5	0.2672	0.5598	0.920	1.476	2.0150	2.5706	3.365	4.0321	6.869
6	0.2648	0.5536	0.906	1.440	1.9432	2.4469	3.143	3.7074	5.559
7	0.2632	0.5493	0.896	1.415	1.8946	2.3646	2.998	3.4995	5.408
8	0.2619	0.5461	0.889	1.397	1.8595	2.3060	2.896	3.3554	5.041
9	0.2610	0.5436	0.883	1.383	1.8331	2.2622	2.821	3.2498	4.781
10	0.2602	0.5416	0.879	1.372	1.8125	2.2281	2.764	3.1693	4.587
11	0.2596	0.5400	0.876	1.363	1.7939	2.2010	2.718	3.1058	4.437
12	0.2590	0.5387	0.873	1.356	1.7823	2.1788	2.681	3.0545	4.318
13	0.2586	0.5375	0.870	1.350	1.7709	2.21604	2.650	3.0123	4.221
14	0.2582	0.5366	0.868	1.345	1.7613	2.1448	2.624	2.9768	4.140
15	0.2579	0.5358	0.866	1.341	1.7530	2.1315	2.602	2.9467	4.073
16	0.2576	0.5358	0.865	1.337	1.7459	2.1199	2.583	2.9208	4.015
17	0.2574	0.5344	0.863	1.333	1.7396	2.1098	2.567	2.8932	3.965
18	0.2571	0.5338	0.862	1.330	1.7341	2.1009	2.552	2.8784	3.922
19	0.2569	0.5333	0.861	1.328	1.7291	2.0930	2.539	2.8609	3.883
20	0.2567	0.5329	0.860	1.325	1.7247	2.0860	2.528	2.8453	3.850

A N E X O 3

PORCENTAJES DE LA DISTRIBUCION F

f_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
f_2									
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39

A N E X O 3 (CONTINUACION)

$F_{0.95}$

F_1 F_2	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	255.3	254.3
2	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
6	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	3.55	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84

A N E X O 4

LA t DE DUNNETT AL NIVEL DEL 5% PARA COMPARACIONES DE DOS CELAS ENTRE VARIOS TRATAMIENTOS Y UN CONTROL.

<u>UN CONTROL Y NUMERO DE TRATAMIENTOS</u>									
<u>g1</u>	<u>1a1</u>	<u>1a2</u>	<u>1a3</u>	<u>1a4</u>	<u>1a5</u>	<u>1a6</u>	<u>1a7</u>	<u>1a8</u>	<u>1a9</u>
5	2.57	3.03	3.29	3.48	3.62	3.73	3.82	3.90	3.97
6	2.45	2.86	3.10	3.26	3.39	3.49	3.57	3.64	3.71
7	2.36	2.75	2.97	3.12	3.24	3.33	3.41	3.47	3.53
8	2.31	2.67	2.88	3.02	3.13	3.22	3.29	3.35	3.41
9	2.26	2.61	2.81	2.95	3.05	3.14	3.20	3.26	3.32
10	2.23	2.57	2.76	2.89	2.99	3.07	3.14	3.19	3.24
11	2.20	2.53	2.72	2.84	2.94	3.02	3.08	3.14	3.19
12	2.18	2.50	2.68	2.81	2.90	2.98	3.04	3.09	3.14
13	2.16	2.48	2.65	2.78	2.87	2.94	3.00	3.06	3.10
14	2.14	2.46	2.63	2.75	2.84	2.91	2.97	3.02	3.07
15	2.13	2.44	2.61	2.73	2.82	2.89	2.95	3.00	3.04
16	2.12	2.42	2.59	2.71	2.80	2.87	2.92	2.97	3.02
17	2.11	2.41	2.58	2.69	2.78	2.85	2.90	2.95	3.00
18	2.10	2.40	2.56	2.68	2.76	2.83	2.89	2.94	2.99
19	2.09	2.39	2.55	2.66	2.75	2.81	2.87	2.92	2.96
20	2.09	2.38	2.54	2.65	2.73	2.80	2.86	2.90	2.95
24	2.06	2.35	2.51	2.61	2.70	2.76	2.81	2.86	2.90
30	2.04	2.32	2.47	2.58	2.66	2.72	2.77	2.82	2.86
40	2.02	2.29	2.44	2.56	2.62	2.68	2.73	2.77	2.81
60	2.00	2.27	2.41	2.51	2.58	2.64	2.69	2.73	2.77

XI. BIBLIOGRAFIA

1. INSOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS
Clarck E.G.C., Volúmen 1, The Pharmaceutical Society,
1969, U. S. A.

2. VALIDATION OF ANALITICAL METHODS
Guerra J., por FDA's Laboratories, parte 1, Pharm Teach,
March, 1986.

3. TESIS DE VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA
CUANTIFICACION DE COBRE.
Rubi J. ENEP Zaragoza, UNAM México, 1986.

4. VALIDATION OF ANALITICAL METHODS
Tylor J.K., Anal. Chem., May 1983.

5. THE INDEX MERCK
10ª Edición, Merck & CO. INC., U.S.A., 1983.

6. QUIMICA ANALITICA CUANTITATIVA
Flaschka H.A., Barnard A.J. et. al., Volúmen 1,
México, D. F., 1969.

7. REQUISITOS MINIMOS PARA LA VALIDACION DE METODOS
ANALITICOS

Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación,
Colegio Nacional de Q.F.B. México, A. C.

8. VALIDACION DE PROCESOS PARA PRODUCTOS FARMACEUTICOS
NO ESTERILES.

Roman F.G., Rev. Mex. Cienc. Farm., 18 (3), 1987.

9. THE UNITED STATES FARMACOPEIA XXI, Tweenty First
Revitation, United States Farmacopeial Convention Inc.,
N.Y., U.S.A.

10. FARMACOPEA NACIONAL DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS,
5ª Edición, SSA México, D. F., 1988.

11. CURSO PRACTICO DE QUIMICA ORGANICA

Brwester Q. Ray, 3ª edición, Editorial Alhabama, México,
D. F., 1983.

12. PHARMACEUTICAL PROCES VALIDATION

Loftus B.L. and Nash R.A., Marsel Dekker, N.Y., U.S.A.,
1984.

13. MATERIAL DE APOYO AL CURSO DE VALIDACION DE METODOS
ANALITICOS, impartido en el Laboratorio Protein, S.A.

de C.V., por Q.F. Alejandro Alcantara P. y Q.F.B. Juan Sánchez F., México, D. F., Junio 1987.

14. CHEMICAL STABILITY PHARMACEUTICALS.

Connors A. Kenneth et. al., A Hambook Ford Pharmacist, John Wiley & Sons, Inc., N. Y., U. S. A., 1979.

15. MANUAL DEL ESPECTROFOTOMETRO DU SERIE 65 N° 526742-A,
de Beckman Instruments Inc., U. S. A., 1988.

16. MANUAL DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

Gallardo M.R., Uribe S.M.; Protein, S.A. de C.V., México, D. F., 1988.

17. CALIBRATION OF VOLUMETRIC WARE, STANDARD PRACTICE FOR
AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS ANNUAL BOOK
OF ASTM STANDARD, Part (41) (5 p.)

18. FUNDAMENTOS DE FISICA

Dresnick R.H., S.E.C.S.A., México, D. F., 1981.

19. FUNDAMENTOS Y FRONTERAS DE LA FISICA

Stollber R., Hill F., Publicaciones Culturales, México, D. F., 1980.

20. INTRODUCCION A LA ESTADISTICA EXPERIMENTAL

Ching Chunli, Editorial omega, S. A., Barcelona,
España, 1977.