

CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN SUSPENSIÓN (ANTIÁCIDOS) Y
TABLETAS CUBIERTAS

ZULY PIEDAD RODRÍGUEZ GARCÍA

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2005



CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN SUSPENSIÓN (ANTIÁCIDOS) Y
TABLETAS CUBIERTAS

ZULY PIEDAD RODRÍGUEZ GARCÍA

Trabajo de pasantía para optar el título de Química

Director

Mg. RICARDO BENÍTEZ BENÍTEZ

Director encargado

Ph. D. JAIME MARTIN F.

Asesor

NANCY E. MARÍN B.

Jefe de Laboratorio Control de Calidad

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2005

Nota de aceptación

Ph. D. Jaime Martín F.
Director encargado

Mg. Julie Alexandra Quintero G.
Jurado

Ing. Rene Zúñiga Rengifo.
Jurado

Fecha de sustentación: Popayán marzo 24 de 2006

Dedicado a Dios el motor que mueve mi vida. A mi hijo Diego Andrés la motivación más grande que Dios me regaló para salir adelante. A mis padres Javier y Ruby por su apoyo incondicional, para cumplir mis metas. A mis hermanos Cristian y Ricardo por su colaboración y comprensión.

AGRADECIMIENTOS

Hoy a unos pocos días de culminar esta meta, esperando obtener el título de Química y aplicar todos mis conocimientos en bien de las personas. Agradezco a Dios por darme la vida, la salud, confianza en mí y en los demás para tener constancia y seguir adelante. Al Mg. Ricardo Benítez, por su colaboración en la dirección de esta Tesis, al Ph. D. Jaime Martín Franco por la continuación en la dirección de esta Tesis, su paciencia y sabias indicaciones, a los jurados Mg. Julie Alexandra Quintero y al Ing. Rene Zúñiga por enriquecer el trabajo con sus aportes, a la empresa Tecnoquímicas por facilitar sus instalaciones para el desarrollo de esta pasantía, al personal de laboratorio de la empresa por su calidad humana, a la Universidad del Cauca, por la formación recibida, a los profesores del departamento de Química Fernando, Maite, Tania, Johnny, Cruz Marina por estar ahí para resolver mis dudas, a mis compañeros, a mis amigas Marcela y Esther y a mi familia por estar para mí en los momentos difíciles, celebrar conmigo mis triunfos, por su apoyo incondicional y finalmente agradezco a todas las personas que de cualquier manera contribuyeron a la finalización de este trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	13
INTRODUCCIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	15
1. OBJETIVOS	16
1.1. OBJETIVO GENERAL	16
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
2. MARCO TEÓRICO	17
2.1. SIMETICONA	17
2.1.1. Definición	17
2.1.2. Producción	17
2.1.3. Propiedades físicas	17
2.1.4. Identificación	18
2.2. SIMETICONA EN SUSPENSIÓN ORAL	18
2.2.1. Indicaciones terapéuticas	18
2.2.2. Farmacocinética y Farmacodinamia	19
2.2.3. Indicaciones y Posología	20
2.2.4. Forma farmacéutica y formulación	21
2.2.5. Contraindicaciones y Precauciones	22
2.2.6. Interacciones con otros fármacos	22
2.2.7. Reacciones secundarias y adversas	22
2.2.8. Recomendaciones sobre almacenamiento	23
2.3. SIMETICONA TABLETAS	23
2.3.1. Forma farmacéutica y formulación	23
2.3.2. Indicaciones terapéuticas	24
2.3.3. Farmacocinética y Farmacodinamia	24
2.3.4. Recomendaciones sobre almacenamiento	25
2.4. CURVAS DE CALIBRACION EN ANALISIS INSTRUMENTAL	25
2.5. ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	27
2.5.1. Protocolo	28
2.5.2. Estandarización	29
2.6. ESPECTROSCOPIA IR. DE TRANSFORMADAS DE FOURIER	41
2.6.1. Ventajas inherentes de la espectrometría de transformada de Fourier	43

2.6.2.	Detectores piroeléctricos	45
3.	DISEÑO EXPERIMENTAL	46
3.1.	EQUIPOS	46
3.2.	REACTIVOS	47
3.3.	METODOLOGÍA	48
3.3.1.	Cuantificación de simeticona en el medicamento: “ <i>Pancreatina Simeticona TBAC</i> ” por relación de señales con FT-IR.	48
3.3.2.	Cuantificación de simeticona por curva de calibración en el medicamento: “ <i>Hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona</i> ”	50
3.4.	ESTADARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALITICOS	53
3.4.1.	Ensayo de Linealidad	53
3.4.2.	Ensayo de Selectividad por estudio indicativo de estabilidad	54
3.4.3.	Ensayo de Precisión del método	55
3.4.4.	Ensayo de Exactitud	56
3.4.5.	Ensayo de Robustez	57
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	58
4.1.	CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN EL MEDICAMENTO: “PANCREATINA SIMETICONA TABC”, POR RELACION DE SEÑALES	58
4.1.1.	Estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: “Pancreatina Simeticona tabc”	61
4.2.	CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN SUSPENSIÓN POR CURVA DE CALIBRACION	71
4.2.1.	Ensayos previos	71
4.2.2.	Ensayo definitivo	75
4.2.3.	Estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona.	76
5.	CONCLUSIONES	86
6.	RECOMENDACIONES	88
	BIBLIOGRAFÍA	89
	ANEXOS	92

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
\bar{X}	Promedio
Abs	Absorbancia
BP	The British Pharmacopeias
CV	Coefficiente de variación
FT-IR	Infrarrojo con transformada de Fourier
Ltda.	Limitada
M	Molar
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mt	muestra
°C	Grados centígrados
rpm	Revoluciones por minuto
RSD	Desviación estándar relativa
Rta	Respuesta
s	Desviación estándar
T. A.	Temperatura ambiente
tabc	Tabletas cubiertas
USP	The United States Pharmacopeias
UV	Ultra violeta

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Formulación de hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona MK	22
Tabla 2. Formulación de Pancreatina II MK	23
Tabla 3. Diseño experimental para 7 variables en un estudio de robustez según Placket y Bruman	40
Tabla 4. Calculo de la diferencia de respuesta para cada parámetro	41
Tabla 5. Tratamiento de degradación forzada para la simeticona en tabletas cubiertas.	54
Tabla 6. Tratamiento de degradación forzada para la simeticona en suspensión	55
Tabla 7. Coeficientes de variación máximos, de acuerdo con el % de analito en la muestra.	56
Tabla 8. Condiciones experimentales para los métodos de extracción de simeticona en tabletas y en suspensión.	57
Tabla 9. Cuantificación de simeticona en Pancreatina Simeticona tableta cubierta; muestras de condición: inicial.	60
Tabla 10. Cuantificación de simeticona en Pancreatina Simeticona tableta cubierta; muestras de condición: 25 °C, 37 °C, 40 °C, del mes 1, 2, 3.	60
Tabla 11. Ensayo de selectividad por estudio indicativo de estabilidad.	62
Tabla 12. Ensayo de exactitud respuesta de estándar.	62
Tabla 13. Ensayo de exactitud respuesta de muestra.	63
Tabla 14. Repetitividad y Reproducibilidad del método.	64
Tabla 15. Ensayo de linealidad.	66
Tabla 16. Ensayo de robustez, variables de alto y bajo nivel.	69
Tabla 17. Resultados de ensayo de robustez.	70
Tabla 18. Cálculos de la diferencia de respuesta para cada parámetro.	70

Tabla 19.	Ensayo 1: variable tiempo de extracción.	72
Tabla 20.	Ensayo 2: variable concentración de NaOH.	72
Tabla 21.	Ensayo 3: variable numero de extracciones.	73
Tabla 22.	Ensayo 4: variable solvente orgánico.	73
Tabla 23.	Ensayo 5: variable acidez.	74
Tabla 24.	Ensayo 6: variable tipo de agitación.	75
Tabla 25.	Cuantificación de simeticona en hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona. Extracción con tolueno.	75
Tabla 26.	Ensayo de selectividad por estudio indicativo de estabilidad.	76
Tabla 27.	Repetitividad y Reproducibilidad del método.	77
Tabla 28.	Ensayo de exactitud respuesta de curva de calibración.	79
Tabla 29.	Ensayo de exactitud respuesta de muestra.	79
Tabla 30.	Ensayo de linealidad.	80
Tabla 31.	Ensayo de robustez, variables de alto y bajo nivel.	83
Tabla 32.	Resultados de ensayo de robustez.	84
Tabla 33.	Cálculos de la diferencia de respuesta para cada parámetro.	85

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura de simeticona.	17
Figura 2. Presentación del medicamento: Hidróxido de Aluminio, Hidróxido de Magnesio, Simeticona Mk.	21
Figura 3. Presentación del medicamento Pancreatina II MK.	24
Figura 4. Procedimiento de calibración en análisis instrumental: O puntos de calibración; Δ muestra problema	26
Figura 5. Esquema de un espectrómetro IR de transformadas de Fourier.	41
Imagen 6. Espectrómetro IR de transformadas de Fourier (IR-TF), Perkin Elemer Spectrum BX2 sistem.	46
Figura 7. Esquema interno de Espectrómetro F-TIR de un solo haz.	47
Figura 8. Esquema de cuantificación de simeticona en el medicamento: "pancreatina simeticona tabc".	50
Figura 9. Esquema de cuantificación de simeticona en antiácido.	53
Figura 10. Concentración vs respuesta ensayo de linealidad, de simeticona en tabletas.	67
Figura 11. Concentración vs respuesta ensayo de linealidad, de simeticona en suspensión.	81

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
ANEXO I	Espectros de tabla 9. Cuantificación de simeticona en el medicamento: "Pancreatina Simeticona tabc"; muestras sin tratamiento.	93
ANEXO II	Espectros de tabla 10. Cuantificación de simeticona en el medicamento: "Pancreatina Simeticona tabc"; muestras de condición: 25 °C, 37 °C, 40 °C, mes 1, 2, 3.	94
ANEXO III	Espectros de estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: "pancreatina simeticona tabc".	99
ANEXO IV	Tabla A. Modelo de Youden-Steiner. La preparación de las muestras del ensayo de robustez del medicamento pancreatina II MK, se hizo de acuerdo a las siguientes condiciones:	105
ANEXO V	Espectros de tabla 25. Cuantificación de simeticona en el medicamento: "hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona"; extracción con tolueno	106
ANEXO VI	Espectros de estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: "hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona".	107
ANEXO VII	Tabla B. Modelo de Youden-Steiner, para la preparación de las muestras del ensayo de robustez del medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona.	115
ANEXO VIII	Tabla C. Valores de la t de Student	116
ANEXO IX	Espectros de tabla 23. Ensayo 5: variable acidez.	117

RESUMEN

La cuantificación de principios activos en medicamentos en la industria farmacéutica es muy importante para su comercialización. Es el caso de la empresa TECNOQUÍMICAS S. A., con necesidades inmediatas, en el desarrollo de métodos que permitan la cuantificación de simeticona en diferentes medicamentos.

La simeticona es un componente activo usado en esta empresa para aliviar los síntomas dolorosos causados por la presencia de gases en el estómago e intestino.

En el desarrollo de este trabajo se utilizó la técnica de extracción líquido-líquido y la espectrofotometría de infrarrojo (FT-IR) con longitud de onda de 1260 cm^{-1} , correspondiente a una vibración de balanceo de CH_3 de $[\text{Si}(\text{CH}_3)_2]$, banda característica de la simeticona para la determinación de simeticona en tabletas cubiertas y antiácidos, mejorando la recuperación con la introducción de algunos cambios en los protocolos empleados en la empresa para estos análisis.

INTRODUCCIÓN

La empresa TECNOQUÍMICAS S. A., se ha dedicado desde sus inicios a comercializar productos farmacéuticos, cosméticos, oftálmicos, veterinarios que ofrecen beneficios útiles a los consumidores por sus propiedades.

Para el desarrollo químico-farmacéutico de un nuevo medicamento es imprescindible la utilización de un método analítico que permita cuantificar el analito en la materia prima, como ingrediente activo de una formulación. Para esto se implementan métodos de cuantificación que favorecen los intereses de la empresa, especialmente en lo referente al mejoramiento de estándares de calidad.

En este caso particular TECNOQUÍMICAS S. A. se interesó en implementar una técnica para la cuantificación de simeticona presente en suspensiones orales como antiácidos y tabletas cubiertas, brindando la oportunidad a una estudiante del programa de Química de la Universidad del Cauca, de realizar una pasantía para optimizar y estandarizar el método analítico específico que cuantificara este ingrediente activo.

JUSTIFICACIÓN

La Industria Farmacéutica TECNOQUÍMICAS S. A., como muchas otras industrias, no ha sido ajena a los requerimientos de calidad que exige la Legislación Nacional e Internacional; atendiendo las exigencias de los clientes con productos de mayor calidad, variedad conforme a la creciente demanda del mercado.

La cuantificación de principios activos ha sido uno de los parámetros que se emplean para asegurar la calidad de los medicamentos. Esta cuantificación es requerida para lanzar un nuevo producto al mercado.

Con este trabajo se estandarizaron las metodologías empleadas en la empresa para la cuantificación de simeticona en suspensiones orales (antiácidos) y tabletas cubiertas, con garantía de rapidez y eficiencia en la cuantificación de dicho principio activo, aplicando de forma profesional los conocimientos adquiridos en el transcurso del programa de química.

Con esta pasantía se cuantificó la simeticona en diversos medicamentos y se estandarizaron los métodos desarrollados. Además, la empresa obtuvo información suficiente para mejorar sus estándares de calidad. Del mismo modo se fortaleció el vínculo entre la Universidad del Cauca y la Industria mencionada.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Estandarizar y optimizar dos metodologías que mejoren los protocolos usados en TECNOQUÍMICAS S. A., para la cuantificación de simeticona en suspensiones orales antiácidas y tabletas cubiertas.

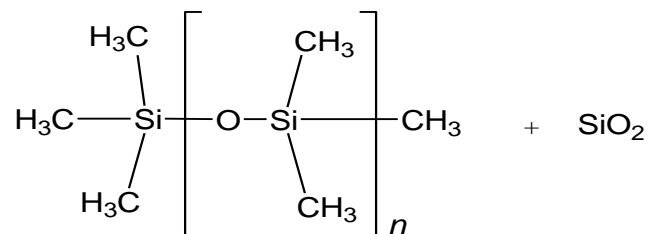
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Optimizar los protocolos empleados para la extracción del principio activo simeticona en los medicamentos: hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona y pancreatina simeticona tabc.
- ✓ Cuantificar simeticona en los medicamentos: hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona y pancreatina simeticona tabc por espectrofotometría de infrarrojo (FT-IR).
- ✓ Estandarizar los métodos de cuantificación desarrollados.
- ✓ Adquirir experiencia profesional, a nivel industrial en la aplicación y desarrollo de metodologías en el laboratorio.
- ✓ Elaborar un informe detallado con los resultados obtenidos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. SIMETICONA

Figura 1. Estructura de simeticona.



Tomada de USP 26, 2003.

2.1.1. Definición: La simeticona es una mezcla de polímeros lineales de siloxanos completamente metilados, que contiene unidades repetidas de la forma: $[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO-}]_n$, estabilizado con trimetilsiloxi $[(\text{CH}_3)_3\text{SiO-}]_n$, en un extremo de la cadena y un número de unidades entre 20 y 400 dependiendo de su viscosidad. La presentación del estándar contiene no menos del 90.5% y no mas del 99.0 % de dimetilpolisiloxano $[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO-}]_n$, y posee entre el 4.0 % y el 7.0 % de dióxido de silicio [USP 26, 2003; BP 2005].

2.1.2. Producción: El poli(dimetilsiloxano) es obtenido por hidrólisis y policondensación de diclorodimetilsilano, clorotrimetilsilano, donde la sílice del oxido de silicio es modificada por la incorporación de los grupos metilos.

2.1.3. Propiedades físicas: La simeticona es un líquido viscoso blanco-grisáceo, insoluble en agua, ligeramente soluble en etanol, insoluble en

metanol, miscible con acetato de etilo, diclorometano, butanona, hexano y con tolueno.

2.1.4. Identificación: Se examina por absorción espectrofotométrica de infrarrojo. Se observa máxima absorción a 2905 cm^{-1} , que corresponde a una vibración de tensión C-H; a 1412 cm^{-1} , correspondiente a una flexión simétrica de CH_3 de los metilos unidos al silicio, (Si-CH_3); a 1260cm^{-1} , una vibración de balanceo de CH_3 de los que se encuentran en medio de la cadena $[\text{Si}-(\text{CH}_3)_2]$ y a 1020cm^{-1} corresponde a una tensión Si-O [BP, 2005; Merck Index, 1996].

2.2. SIMETICONA EN SUSPENSIÓN ORAL

La simeticona en suspensión oral se comercializa como: Hidróxido de Aluminio, Hidróxido de Magnesio, Simeticona MK; Gas-X; Mylanta Gas; Mylicon; Phazyme; Ditopax-F, Neutrogel, entre otros, se trata de una suspensión de simeticona en agua. El contenido de dimetilpolisiloxano ($[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO-}]_n$) no es menor que 85.0% y no mayor que 115.0% del contenido de simeticona etiquetado por mililitro de suspensión [Merck Index, 1996; Sering Plough, 2003; Medline Plus, 2000].

La Simeticona o Dimeticona es un agente antiflatulento, activo por vía oral que se utiliza para aliviar el dolor y las molestias abdominales ocasionadas por la presión de un exceso de gases [Enciclopedia de Medicamentos 2003].

2.2.1. Indicaciones terapéuticas: La suspensión se recomienda para usar en trastornos gastrointestinales que responden favorablemente a la administración de un antiácido y/o agente antiflatulento. Estos trastornos incluyen afecciones

gastrointestinales funcionales causadas por aerofagia, meteorismo, excesos en la alimentación o intolerancia a alimentos y medicamentos [Banerjee, Parker, Waits, Davis, 1992; Enciclopedia de Medicamentos 2003].

También puede ser útil en el tratamiento de la dispepsia asociada con el embarazo. Los trastornos gastrointestinales funcionales que pueden acompañar a la enfermedad gastrointestinal orgánica, como esofagitis, hernia hiatal, gastritis aguda y crónica, úlcera gástrica y péptica, y colecistitis crónica, pueden aliviarse con la administración de Simeticona en Suspensión. En el caso de estos trastornos gastrointestinales orgánicos, estos productos pueden usarse concomitantemente con otros medicamentos prescritos específicamente [Bertoni, Gumina, Conigliaro, 1992; Enciclopedia de Medicamentos 2003].

La Simeticona en Suspensión ha demostrado también ser útil para reducir las molestias gastrointestinales causadas por gas atrapado, y para disminuir la incidencia de íleo paralítico durante el periodo postoperatorio de la cirugía abdominal y pélvica [Shering Plough, 2003].

2.2.2. Farmacocinética y farmacodinamia: La simeticona no se absorbe y es eliminada en las heces. Por tratarse de una molécula inerte, no es transformada por la flora gastrointestinal [Parikh and Khanduja, 1995].

La Simeticona en suspensión tiene una combinación de antiácidos (hidróxido de aluminio e hidróxido de magnesio) con un agente antiespumante (simeticona) [Merck Index, 1996].

Es un enfoque doble para el tratamiento de los síntomas gastrointestinales. Los antiácidos de acción rápida elevan el pH del contenido gástrico. Además, al

disminuir lo suficiente el ácido, estos antiácidos tienen la propiedad de inactivar irreversiblemente la acción proteolítica de la pepsina.

La fórmula equilibrada de los antiácidos da como resultado un producto libre virtualmente de efectos constipantes o laxantes, demostrando a la vez, las características saludables de los componentes individuales [Sudduth, Deangelis, Sherman and McNally, 1995].

La simeticona un agente antiespumante, no sistémico, fisiológicamente inerte, que funciona alterando la elasticidad de las interfases de las burbujas adheridas a las mucosas en el aparato gastrointestinal. El cambio en la tensión superficial de las burbujas pequeñas permite que se rompan y luego se unan. Esta forma gaseosa es eliminada más fácilmente del tracto gastrointestinal [Shering Plough, 2003].

2.2.3. Indicaciones y posología: Se usa para el tratamiento de la dispepsia y flatulencia [Parikh, 1995; Enciclopedia de medicamentos]. Preparación del intestino para un estudio radiográfico, para el alivio de los síntomas debido a gases como presión, distensión o sensación de plenitud [Varas and López, 1991; Enciclopedia de medicamentos]:

- Adultos: 1 o 2 cucharaditas según se requiera, preferiblemente entre las comidas y a la hora de acostarse.
- Niños: según lo indique el medico.

Para mejorar la visualización radiográfica o ultrasonográfica del tracto digestivo superior: después de 4 horas en ayunas 400 ml por vía oral de una suspensión de simeticona conteniendo 7.5 mg / mL en 15 minutos [Banerjee, Parker, Waits,

Davis, 1992; Bertoni, Gumina, Conigliaro, 1992]. La prueba se debe comenzar a los 10 minutos de finalizada la administración

2.2.4. Forma farmacéutica y formulación: en la tabla 1 se observa la formulación del medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona MK. La figura 2 muestra la presentación en el mercado del medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona MK.

Figura 2. Presentación del medicamento Hidróxido de Aluminio, Hidróxido de magnesio, simeticona MK.



Suministrado por el laboratorio de control de calidad para la cuantificación de simeticona en suspensión.

Tabla 1. Formulación de hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona MK.

Compuesto	Cantidad
Hidróxido de magnesio	3.85 %
Gel de hidróxido de aluminio	3.85 %
Simeticona	0.385 %
Excipientes	91.9 %

2.2.5. Contraindicaciones y precauciones: Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula, litiasis renal, anaclorhidria.

El hidróxido de aluminio puede causar hiperalbuminemia en pacientes con insuficiencia renal crónica. En pacientes con ingestión dietética inadecuada de fósforo, el hidróxido de aluminio puede causar deficiencia de fósforo [Varas and López, 1991].

2.2.6. Interacciones con otros fármacos: La simeticona en antiácidos, no debe administrarse durante un curso terapéutico en que se administren antibióticos que contengan cualquier forma de tetraciclina [Shering Plough, 2003].

2.2.7. Reacciones secundarias y adversas: El uso prolongado de antiácidos puede causar constipación o diarrea. En presencia de insuficiencia renal grave, el hidróxido de magnesio y otras sales de magnesio pueden causar hipermagnesemia caracterizada por hipotensión, náuseas, vómito, depresión respiratoria, cambios cardiovasculares, depresión mental y coma [Sudduth, Deangelis, Sherman and McNally, 1995; Varas and López, 1991; Shering Plough, 2003].

2.2.8. Recomendaciones sobre almacenamiento: Consérvese a temperatura ambiente, a no más de 25°C. Agítese bien antes de usarse y manténgase fuera del alcance de los niños. [Shering Plough, 2003].

2.3. SIMETICONA EN TABLETAS

La simeticona en tabletas se comercializa como: Espaven enzimático, Pancreatina II, Onoton entre otros, donde la simeticona está mezclada con otros principios activos, como pancreatina, extracto de bilis de buey y celulasa. El contenido de simeticona es no menos del 85 % y no más de 115% de poli(dimetilsiloxano) $[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO-}]_n$, de la cantidad etiquetada de simeticona por tableta cubierta [USP, 2003; Shering Plough, 2003].

2.3.1. Forma farmacéutica y formulación: la tabla 2 presenta los componentes del medicamento pancreatina II MK; la figura 3 ilustra la forma farmacéutica en que se comercializa el medicamento pancreatina II MK.

Tabla 2. Formulación de Pancreatina II MK.

Compuesto	Cantidad
Pancreatina	26 %
Simeticona	12 %
Excipientes	62 %

Figura 3. Presentación del medicamento Pancreatina II MK.



Suministrado por el laboratorio de control de calidad para la cuantificación de simeticona en tabletas.

2.3.2. Indicaciones terapéuticas: Dispepsia por exceso de ingestión de alimentos, deficiencias enzimáticas absolutas o relativas. Esteatorrea por mala absorción. Prevención del colon irritable. Meteorismo y flatulencia posprandial. Insuficiencia pancreática. Digestión de grasas deficiente [Shering Plough, 2003].

2.3.3. Farmacocinética y farmacodinamia: El contenido en pancreatina proporciona los componentes enzimáticos para la degradación de proteínas, carbohidratos y grasas, estas últimas previamente emulsificadas por las sales biliares del extracto de bilis de buey. Actúa como tratamiento complementario o de reemplazo para un adecuado proceso digestivo de absorción.

La simeticona actúa disminuyendo la tensión superficial del moco gastrointestinal, evitando una retención de gases, evitando la flatulencia y

meteorismo que acompañan la fermentación por indigestión.

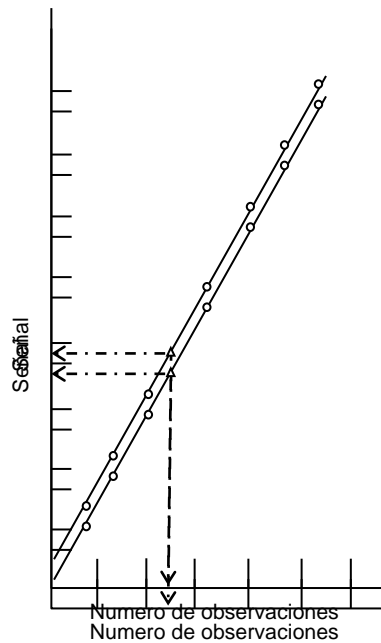
La celulasa, enzima obtenida del *Aspergillus Níger*, hidroliza la celulosa, misma que puede exacerbar la actividad intestinal y la agudización de colon irritable. No se han estudiado sus características farmacocinéticas [Shering Plough, 2003].

2.3.4. Recomendaciones sobre almacenamiento: Consérvese a temperatura ambiente, a no más de 30 °C y en lugar seco [Shering Plough, 2003].

2.4. CURVAS DE CALIBRACION EN ANALISIS INSTRUMENTAL

El método de análisis cuantitativo mas seguro (aunque también el mas tedioso) consiste en preparar una serie de soluciones con concentraciones conocidas del analito en una matriz de la misma composición que la solución problema [Harris D., 1991]. Estas muestras se miden en el instrumento analítico en las mismas condiciones que las usadas para las muestras problema. Una vez que se ha establecido la grafica de calibración, se puede obtener la concentración de analito en cualquier muestra problema por interpolación como se indica en la figura 4.

Figura 4. Procedimiento de calibración en análisis instrumental: O puntos de calibración;
Figura 4. Procedimiento de calibración en análisis instrumental: O puntos de calibración;
 Δ muestra problema.



Tomada de Miller and Miller, 1993.
 Tomada de Miller and Miller, 1993.

Es esencial que los estándares de calibración cubran el intervalo completo de concentraciones requerido en los análisis subsiguientes. Es muy importante incluir el valor de una muestra “en blanco” en la curva de calibración. La señal del instrumento dada por la muestra en blanco no será a menudo cero. Desde luego, está sujeta a errores, como los otros puntos de la calibración, y no tiene sentido, en principio, sustraer el valor del blanco de los otros valores estándar antes de dibujar la grafica de calibración. Finalmente, se debe subrayar que la curva de calibración se presenta siempre con la respuesta del instrumento en el eje vertical (Y) y la concentración estándar sobre el eje horizontal (X) [Miller and Miller, 1993].

2.5. ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

La estandarización es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficiente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos. La estandarización de los métodos analíticos se fundamenta en la determinación de diversos parámetros, que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002]. La estandarización proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico y se realiza con carácter obligatorio cuando se desarrolla un nuevo procedimiento, ya que permite asegurar que el método propuesto hace lo que tiene que hacer [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 1996].

Para el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio la estandarización es un requisito imprescindible que está establecido por agencias regulatorias y por comisiones de Farmacopeas para el registro de nuevos medicamentos [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002].

Es necesario señalar que los métodos descritos en farmacopeas u otros textos oficiales se consideran validados, aunque debe aclararse que ellos se refieren solamente a métodos generales y a materias primas. Estos no precisan de validación, aunque deben ser comprobados antes de su utilización rutinaria con la verificación de la idoneidad en las condiciones de laboratorio. Sin embargo, para el caso de las formas farmacéuticas terminadas, que pueden variar su composición cualitativa o cuantitativa según el fabricante, habrá que proceder en cada caso a la estandarización del método analítico. Para demostrar la aplicabilidad de estos métodos que no tienen en cuenta todos los posibles excipientes de una forma farmacéutica, será necesario, por lo menos, efectuar una estandarización abreviada que evalúe que la especificidad, exactitud y

precisión son adecuadas [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002].

2.5.1. Protocolo: Consiste en un plan experimental que debe contener las siguientes especificaciones:

- **Control de materias primas.** Se refiere al control de las materias primas procedentes de casas comerciales reconocidas que se utilicen en el proceso de validación. Deberán aparecer de forma detallada las especificaciones de la muestra de ensayo, la preparación y estabilidad de las disoluciones, diluciones, pH y temperatura.
- **Material de referencia.** Se utiliza para la calibración del sistema de medición (por ejemplo disoluciones tampones para la calibración de potenciómetros o pHmetros) o como patrón de comparación en las determinaciones del analito. Durante la validación se manipulan materiales de referencia secundarios o de trabajo contrastados contra un material de referencia primario. Las características del material de referencia que se utiliza en la validación aparece como anexo en el protocolo de validación.
- **Verificación, calibración y control del equipamiento.** En las Farmacopeas aparecen reportados los métodos para realizar la calibración y/o control de espectrofotómetros, pHmetros, etcétera, pero no se incluyen los métodos para equipos de tecnología avanzada (como sistemas de adquisición de datos, densitómetros, detectores cromatográficos, etcétera). En la actualidad la mayoría de los productores desarrollan la validación de los equipos analíticos para satisfacer los requisitos internacionales que permitan su utilización en el control de calidad en diferentes industrias incluyendo la industria farmacéutica y aun cuando en los manuales del

usuario aparezcan especificaciones de precisión y exactitud del equipo, por lo general el usuario debe desarrollar su propio procedimiento para la comprobación del buen funcionamiento del instrumento o seguir las recomendaciones del fabricante. Cuando el equipo está verificado se realiza un simple control de rutina.

- **Entrenamiento del personal.** El personal encargado de realizar los ensayos analíticos estará entrenando específicamente en este tipo de trabajo y su entrenamiento estará rigurosamente documentado.
- **Procedimiento normalizado de operación del método.** Refleja el procedimiento exacto de ejecución del método analítico y estará anexado al protocolo de validación [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002].

2.5.2. Estandarización

☞ **Linealidad:** Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionada con la aplicación del método [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002].

Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo con un exceso de al

menos 50 %, sobre el límite superior y un defecto de 50 % debajo del límite inferior [AEFI, 2001].

La curva de regresión se determina sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados. En el eje de las "x" aparecerá la cantidad o la concentración del analito y en el eje "y", la respuesta analítica (absorbancia para métodos espectrofotométricos, área o altura para métodos cromatográficos, cantidad de agente valorante gastado en el caso de métodos titrimétricos, etcétera). Los estimadores de regresión para un nivel de significación dado son [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992]:

- *Coeficiente de correlación (r)*. Muchos autores plantean que para que el método se considere lineal, el coeficiente de correlación debe ser mayor que 0,999. Sin embargo, la mejor forma de indicar la linealidad del método estudiado será realizar una prueba estadística de t (t de Student), en la cual se calculará la correlación lineal significativa (t_r) a partir de la hipótesis nula de no correlación entre las magnitudes estudiadas ("x" y "y"); si el valor observado de t_r es mayor que t_{tab} , se rechaza la hipótesis, siendo la correlación lineal significativa con la probabilidad calculada. Para ello se empleará la ecuación siguiente [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002]:

$$t_r = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

$$r = \frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{n}}{\sqrt{\left(\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n} \right) \left(\sum Y_i^2 - \frac{(\sum Y_i)^2}{n} \right)}}$$

Donde: r es el coeficiente de correlación, r^2 es el coeficiente de determinación y n es el número de réplicas, Y_i el valor medido en el ensayo i , X_i , la concentración. El valor de t_r obtenido se compara con el valor tabulado de t (ver anexo VIII) para el nivel de significación utilizado y con $n-2$ grados de libertad (donde n corresponde al número total de determinaciones de "Y") [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

- *Pendiente (b) (conocida también como coeficiente de regresión)*. Indica la sensibilidad de calibración o del método y se expresa en unidades de respuesta sobre unidades de concentración o cantidad del analito. La sensibilidad analítica relaciona la aleatoriedad de la respuesta con la aleatoriedad debida a la variación de la concentración, es inversamente proporcional a la capacidad de detectar pequeñas diferencias en la concentración del analito, y se obtiene así [AEFI, 2001]:

$$b = \frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{n}}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}$$

- *Ordenada al origen (a) o intercepto*. Se determina para evaluar la proporcionalidad de la función analítica, es decir, que la recta pase por el origen y que cualquier desviación pueda adjudicarse únicamente a un error aleatorio.

$$a = \frac{\sum Y_i - b \sum X_i}{n}$$

El límite de confianza para el estimador de la pendiente (b) se calcula en función de su varianza S_b :

$$S_b = \sqrt{\frac{S_{X,Y}^2}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}}$$

$$S_{X,Y}^2 = \frac{\sum Y_i^2 - a \sum Y_i - b \sum X_i Y_i}{n - 2}$$

Luego, los límites de confianza de la pendiente corresponden a: [Miller and Miller, 1993]

Intervalo de confianza de $b = b \pm t_{tab} S_b$

Por su parte, el límite de confianza del estimador de la ordenada al origen (a) se calcula en función de su varianza S_a :

$$S_a = \sqrt{S_b^2 \frac{\sum X_i^2}{n}}$$

Intervalo de confianza de $a = a \pm t_{tab} S_a$

☞ **Selectividad o Especificidad:** Este parámetro se refiere a la propiedad del método de producir una señal medible debida solo a la presencia del analito,

libre de interferencia de otros componentes, en la matriz de la muestra [AEFI, 2001].

En el caso del análisis de una droga o fármaco, resulta de gran utilidad contar con las materias primas, subproductos de síntesis y productos de degradación. En el caso que los productos de descomposición sean desconocidos o no puedan aislarse, el camino a seguir podría comprender los siguientes pasos [Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, 2002]:

En primer lugar se evalúa la estructura química de la droga y se postulan las posibles rutas de degradación y métodos de ataque. Se pasa luego a un ensayo de degradación artificial. Por ejemplo:

Termólisis, producida por calentamiento de la droga a la temperatura fijada (por ejemplo 70-80 °C).

Hidrólisis alcalina, por calentamiento a reflujo con NaOH 1 N durante 1 hora.

Hidrólisis ácida, por calentamiento a reflujo con HCl 1 N durante 1 hora.

Fotólisis, por exposición de la droga pura o en solución a luz UV de onda corta y a la luz solar directa o indirecta.

Oxidación, por calentamiento en baño maría de una solución de la droga con gotas de agua oxigenada o por adición de peróxido de benzoilo.

De ser necesario se neutraliza la droga degradada artificialmente y se analiza por el método propuesto.

Este análisis debe completarse con el estudio de la pureza u homogeneidad del pico correspondiente al analito. En este tipo de ensayos resulta muy ventajoso el empleo del detector de ordenamiento de fotodiodos, ya que complementa la información convencional con la relativa a la pureza de picos.

Uno de los criterios de pureza más difundidos consiste en la superposición de los espectros de absorción de los segmentos creciente, vértice y decreciente del pico en estudio. En general, estos espectros se grafican “normalizados”, es decir, corregidos en su escala de modo que ocupen la misma proporción de la imagen visual.

Los ensayos de degradación artificial permiten no sólo el mejor conocimiento y eventual correlación de la técnica empleada sino que también orientan al desarrollo de nuevas formulaciones de productos, indicando las condiciones de mayor agresividad, las mejor soportadas por la sustancia, condiciones de almacenamiento, tipo de envase, etc. (pH, labilidad a la hidrólisis, fotólisis, oxidación, etc.).

En el caso de un producto farmacéutico, deberá considerarse no sólo la extracción de droga y placebo por separado y en conjunto para asegurar la selectividad de la medición, sino también la preparación de un placebo degradado y la degradación del producto final, acondicionada en su envase definitivo. En el caso de una validación retrospectiva pueden en cambio utilizarse productos vencidos o en el límite de su período de vencimiento [AEFI, 2001].

En muchos de estos casos, la determinación de la especificidad no puede seguir modelos tan sistemáticos y dependerá del arte e ingenio del analista, pudiéndose tomar como referencias [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992]:

- Pueden emplearse detectores de mayor selectividad.
- Las reacciones degradativas empleadas para comprobar la disminución o desaparición de la señal del analito en el espectro, pueden apoyar la hipótesis de la presencia de un compuesto con determinados grupos funcionales.

El espectro de absorción, sirve como base para la identificación del compuesto pero esto a veces no resulta suficiente, se debe disponer de patrones para la comparación de las absorciones [AEFI, 2001; Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

☞ **Precisión:** La precisión está relacionada con dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea. La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar, σ , estimada analíticamente por s o más comúnmente como la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV). El estimador s de la desviación estándar se calcula como [AEFI, 2001]:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Donde n es el número de medidas, X_i es el valor medido en el ensayo i y \bar{X} el estimador de la media poblacional μ , calculado como:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Por su parte, la desviación estándar relativa o coeficiente de variación se calcula como:

$$\% RSD = \frac{s \cdot 100}{\bar{X}}$$

Ambos estimadores, desviación estándar y desviación estándar relativa permiten evaluar la incertidumbre en la estimación de la medida (error aleatorio, correspondiente a la dispersión de datos alrededor de la media).

La precisión de un método analítico deberá estudiarse sobre:

- El sistema, evaluando la dispersión de al menos 6 análisis del estándar.
- El método, evaluando la dispersión de varias preparaciones de la muestra final homogénea. La evaluación corresponde a todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento.

La precisión debe medirse en condiciones repetitivas y en condiciones reproducibles. El cociente repetitividad / reproducibilidad es un parámetro muy útil para evaluar la precisión de un método analítico.

El criterio de aceptación puede ser variable y estará dictado por los objetivos buscados. Así, la USP indica en general una RSD del sistema de no más de 2%, leyendo en el IR 5 veces una solución estándar, aunque pueden obtenerse en condiciones apropiadas valores inferiores al 1% e incluso menores [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

☞ *Límites de confianza:* En muchos casos debe indicarse el intervalo de confianza de la medida, es decir, el rango en el cual puede definirse la probabilidad de que éste “capture” con la probabilidad indicada el parámetro μ [AEFI, 2001].

Los criterios pueden ser varios, pero deberá dejarse constancia del empleado: la media ± 2 desviaciones estándar (correspondiente al 95 % de las medidas en una distribución normal o gaussiana), la media ± 3 desviaciones estándar (99,7

% de las medidas para el mismo tipo de distribución) o preferentemente, cuando el número de muestras es pequeño (menor de 30), las medidas independientes, y la distribución normal, puede calcularse de acuerdo a la distribución t de Student según:

$$\bar{X} - \frac{t_{v,\alpha} \cdot S}{\sqrt{n}} < \mu < \bar{X} + \frac{t_{v,\alpha} \cdot S}{\sqrt{n}}$$

Donde $t_{v,\alpha}$ es el valor “t de Student”, tabulado para n mediciones con $v = n-1$ grados de libertad y para varios niveles α de significación (el nivel más empleado es $p: 0.05$, correspondiente a un intervalo de confianza del 95 %) [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

☞ **Exactitud:** La exactitud de un método, también conocida como error sistemático o tendencia, corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero. Matemáticamente, suele expresarse de los siguientes modos:

$$\text{Desviación: } B = \bar{X} - \hat{X}$$

$$\text{Desviación Relativa: } B\% = \frac{B}{\bar{X}} \cdot 100$$

$$\text{Recuperación: } R = \frac{\bar{X}}{\hat{X}} \cdot 100$$

Donde \bar{X} es el valor medio y \hat{X} el valor verdadero.

De todas ellas, la más utilizada es, sin lugar a dudas, la recuperación. Si bien el valor verdadero de concentración no se conoce sino que sólo puede estimarse es posible preparar una muestra por un procedimiento más exacto que el evaluado (por pesada, dilución en peso, etc.) y utilizarla como referencia.

La exactitud o bien podríamos llamarla “inexactitud”, debe ser tan pequeña como sea, posible para que el valor medido se aproxime al de referencia. Dicho de otro modo, la recuperación del analito debe acercarse al 100 %.

En el análisis de trazas (microcomponentes), no siempre se alcanzan recuperaciones tan elevadas y se consideran habituales valores de recuperación entre el 60 y 80 %. En el análisis de macrocomponentes, en general se requiere que el valor medido no difiera significativamente del aceptado como referencia. Para determinarlo puede utilizarse un ensayo t de Student, efectuando varias determinaciones de la muestra de concentración conocida y calculando el t experimental, t_{ob} que se compara con el t de tablas para n-1 grados de libertad en el nivel de confianza escogido, generalmente $p = 0.05$. El valor t_{exp} puede calcularse como:

$$t_{exp} = \frac{|100 - R| \sqrt{n}}{\% RSD}$$

Si t_{exp} resulta menor que el valor tabulado, el método tiene la exactitud requerida para ese ámbito de confianza. Si t_{exp} resulta mayor que el valor tabulado, el método tiene un error sistemático, del signo resultante, para ese ámbito de confianza [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

Los valores t_{exp} se comparan con los tabulados para el intervalo de confianza requerido con n-1 grados de libertad y la exactitud o inexactitud se evalúan para

el promedio de recuperaciones de todas las concentraciones. Si $t_{ob} < t_{tabla}$, no existe diferencia significativa con el 100 % de recuperación y la exactitud es apropiada.

Por otra parte, resulta conveniente graficar masa hallada vs masa agregada, rectificando por el método de los mínimos cuadrados. La pendiente deberá ser unitaria y la ordenada al origen deberá pasar por cero [AEFI, 2001].

Una pendiente significativamente diferente de 1 indica un error proporcional, una ordenada al origen significativamente diferente de cero indica un error de tendencia constante y se visualiza como una recta paralela a la teórica, en la cual el valor de la ordenada al origen corresponde a la magnitud del error [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

☞ **Robustez:** La robustez de un método corresponde a los estudios que indican el grado de confiabilidad del ensayo ante cambios de variables comunes. Estos cambios pueden ser ligeras diferencias operativas, de equipos, analistas, laboratorios, etc. Frecuentemente este estudio se realiza retrospectivamente, a partir de los resultados históricos obtenidos en diferentes condiciones, pero en el caso de métodos nuevos, es conveniente que el estudio sea efectuado por el laboratorio emisor de la técnica.

Es evidente que un método debe ser “robusto” (reproducibile) frente a cambios de analistas o instrumentos, pero no necesariamente debe serlo frente a todos los cambios que se estudien. Así, es de esperar que la modificación de algún factor produzca en algún caso cambios drásticos en el espectro esperado.

En contrapartida, cuando algún factor no resulte crítico para el espectro, es posible indicar dentro del texto del método que su proporción puede modificarse

para asegurar la separación deseada. En IR deberá estudiarse la eventual variación de resultados ante cambios de variables.

En la selección de las variables a considerar debe utilizarse todo el conocimiento ya adquirido durante el desarrollo analítico para minimizar el número de ensayos a realizar.

Un diseño muy utilizado es el de Plackett y Bruman, que permite estudiar el efecto de n variables en n+1 ensayos. En la tabla 3 se ejemplifica el estudio de 7 variables en 8 ensayos. Las variables seleccionadas se indican con letras: las mayúsculas corresponden al nivel alto y las minúsculas al nivel bajo de la variable en cuestión. Luego se selecciona uno o más parámetros a medir y se obtienen los resultados indicados con las letras s, t, u, v, w, x, y, z. Estos resultados corresponden a uno o más parámetros en estudio.

Tabla 3. Diseño experimental para 7 variables en un estudio de robustez según Plackett-Bruman

Factor/ Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
Resultado	s	t	u	v	w	x	y	z

Quattrocchi. Introducción al HPLC, aplicación y práctica.

Finalmente, se calcula las diferencias de medidas para cada parámetro en forma individual como está indicado en la tabla 4 [Quattrocchi, Abelaira and Labu, 1992].

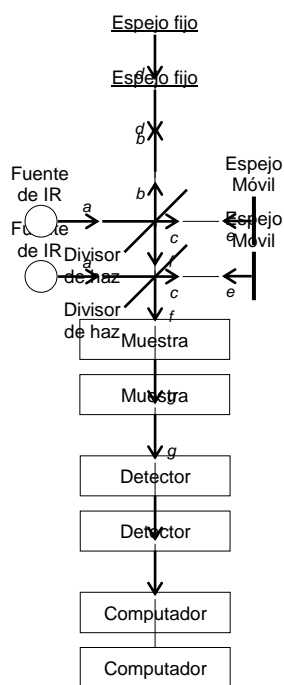
Tabla 4. Calculo de la diferencia de respuesta para cada parámetro.

Parámetros	Diferencia
A-a	$V_A = \frac{1}{4}(s + t + u + w) - \frac{1}{4}(w + x + y + z)$
B-b	$V_B = \frac{1}{4}(s + t + w + x) - \frac{1}{4}(u + v + y + z)$
C-c	$V_C = \frac{1}{4}(s + u + w + y) - \frac{1}{4}(t + v + x + z)$
D-d	$V_D = \frac{1}{4}(s + t + y + z) - \frac{1}{4}(u + v + w + x)$
E-e	$V_E = \frac{1}{4}(s + u + x + z) - \frac{1}{4}(t + v + w + y)$
F-f	$V_F = \frac{1}{4}(s + v + w + z) - \frac{1}{4}(t + u + x + y)$
G-g	$V_G = \frac{1}{4}(s + v + x + y) - \frac{1}{4}(t + u + w + z)$

Quattrocchi. Introducción al HPLC, aplicación y práctica.

2.6. ESPECTROSCOPIA IR DE TRANSFORMADAS DE FOURIER

Figura 5. Esquema de un espectrómetro IR de transformadas de Fourier.



LEVINE. Físicoquímica: espectroscopia infrarroja.

Un espectrómetro IR de transformadas de Fourier (FT-IR) aumenta considerablemente la sensibilidad (capacidad para detectar señales débiles), velocidad y exactitud de medidas de longitudes de onda con respecto al espectrómetro de dispersión de IR. Un espectrómetro FT-IR no dispersa la radiación (y, por tanto, no tiene prisma ni red de difracción) sino que utiliza un interferómetro Michelson para formar un interferograma que es manipulado matemáticamente por un microordenador para dar el espectro de absorción de IR. Como se puede ver en la figura 4 la radiación de frecuencia continua de la fuente (haz a) alcanza un divisor de haz, plano y parcialmente transparente, que refleja la mitad de la luz incidente en el espejo fijo (haz b) y transmite la otra mitad al espejo móvil (haz c). El espejo móvil está controlado por un motor y se mueve paralelamente a sí mismo a velocidad constante. Los haces d y e reflejados de los dos espejos alcanzan un divisor de haz que transmite parte de d y refleja parte de e para dar un haz combinado f. El haz f pasa a través de la muestra donde tiene lugar la absorción, dando lugar al haz g.

En la práctica, la diferencia de caminos tendrá algún valor máximo δ_{\max} (que típicamente es del orden de 1 a 20 cm), y el límite infinito en la integral (que se llama transformada de Fourier de F) se aproxima a δ_{\max} . Un ordenador, que es parte del espectrómetro, calcula el espectro $B_g(\bar{\nu})$ para $F(\delta)$. Puesto que se utiliza un único haz, se lleva a cabo una medida con la célula vacía y el ordenador combina los dos espectros para dar el espectro de absorción de la muestra. Puesto que al detector llega radiación de todos los números de onda en cada instante y dado que esta radiación se utiliza para calcular el espectro $B_g(\bar{\nu})$, un espectrómetro FT-IR da mucha mejor relación señal-ruido que los instrumentos de dispersión, donde solo una pequeña parte de la radiación alcanza el detector a cada instante. Además, se puede mejorar la relación señal-ruido haciendo repetidas medidas y que el ordenador promedie los

espectros. Entonces, el ruido tiende a cancelarse ya que es positivo y negativo aleatoriamente.

Actualmente, la mayoría de los espectrómetros IR disponibles comercialmente son instrumentos de transformadas de Fourier [Levine, 1996].

2.6.1. Ventajas inherentes de la espectrometría de transformada de Fourier: La primera es el *rendimiento* o ventaja Jaquinot, que se obtiene porque estos instrumentos tienen pocos elementos ópticos y carecen de rendijas que atenúen la radiación. Por tanto, la potencia de la radiación que alcanza el detector es mucho mayor que en los instrumentos dispersivos y se observa una relación *señal/ruido* muy superior.

La segunda ventaja de los instrumentos de transformada de Fourier es su elevadísimo poder de resolución y reproducibilidad en la longitud de onda que posibilita el análisis de espectros complejos en los que el número total de líneas y el solapamiento espectral dificultan la determinación de las características espectrales individuales.

La tercera ventaja surge porque todas las radiaciones de la fuente llegan al detector a la vez. Esta característica permite obtener un espectro completo en un segundo o menos.

La espectroscopia de transformada de Fourier se diferencia de la espectroscopia convencional en que todos los elementos de resolución se miden simultáneamente para un espectro, reduciéndose así, en gran medida, el tiempo necesario para obtener un espectro para cualquier relación señal/ ruido

dada. Un espectro completo de 1.500 elementos de resolución se puede registrar en un tiempo similar al que se precisa para observar un solo elemento por espectroscopia convencional. Esta disminución tan grande del tiempo de observación se usa, muchas veces, para aumentar notablemente la relación señal/ ruido de las medidas de transformada de Fourier. P. Fellgett observó esta ventaja inherente de la espectroscopia de transformada de Fourier en 1958 y se la conoce como *ventaja Fellgett o multiplex*.

La ventaja multiplex es lo suficientemente importante como para que casi todos los espectrómetros de infrarrojo sean del tipo transformada de Fourier. Sin embargo, estos instrumentos son mucho menos usuales en las regiones ultravioleta, visible e infrarrojo cercano, porque las limitaciones de la relación señal/ ruido para medidas espectrales con estos tipos de radiación raramente se encuentran en el ruido del detector, sino en el ruido de disparo y de fluctuación asociados con la fuente. A diferencia del ruido del detector, los valores del ruido de disparo y de fluctuación aumentan con la potencia de la señal. Además, el ruido total de todos los elementos de resolución en una medida de transformada de Fourier tiende a promediarse y a extenderse uniformemente por todo el espectro transformado. De este modo, la relación señal / ruido para los picos intensos en presencia de picos débiles se mejora promediando, pero se degrada para los picos más débiles. Para el ruido de fluctuación, como el encontrado en la radiación de fondo para muchas fuentes espectrales, se observa la degradación de señal/ ruido para todos los picos. Este efecto se denomina, algunas veces, desventaja multiplex y es la responsable, en gran medida, de que la transformada de Fourier no se haya utilizado con más frecuencia en la espectroscopia ultravioleta/ visible [Skoog, Holler and Nieman, 2001].

2.6.2. Detectores piroeléctricos: Los detectores piroeléctricos se construyen a partir de una lámina cristalina de *materiales piroeléctricos*, que son aislantes (materiales dieléctricos) con unas propiedades térmicas y eléctricas muy especiales. El sulfato de triglicina $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (generalmente deuterado o con una fracción de glicinas sustituidas por alanina), es el material piroeléctrico más importante utilizado en la construcción de detectores de infrarrojo.

Cuando se aplica un campo eléctrico a través de cualquier material dieléctrico, se produce una polarización eléctrica cuya magnitud es función de la constante dieléctrica del material. Para la mayoría de los dieléctricos, esta polarización inducida disminuye rápidamente hasta cero cuando se elimina el campo externo. Por el contrario, las sustancias piroeléctricas mantienen una fuerte polarización dependiente de la temperatura después de eliminar el campo. Así, colocando el cristal piroeléctrico entre dos electrodos (uno de ellos es transparente a la radiación infrarroja) se obtiene un condensador dependiente de la temperatura. Cambiando su temperatura al irradiarlo con radiación infrarroja se altera la distribución de las cargas a través del cristal, lo que crea una corriente medible en el circuito eléctrico externo que une los dos lados del condensador. La magnitud de esta corriente es proporcional al área superficial del cristal y a su velocidad de cambio de polarización con la temperatura. El cristal piroeléctrico pierde su polarización residual cuando se calienta a una temperatura denominada el *punto Curie*. Para el sulfato de triglicina el punto Curie es de 47 °C.

Los detectores piroeléctricos presentan tiempos de respuesta lo suficientemente rápidos como para poder seguir las variaciones en la señal de dominio del tiempo con un interferómetro. Por esta razón, la mayoría de los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier utilizan este tipo de detector [Skoog, Holler and Nieman, 2001].

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1. EQUIPOS

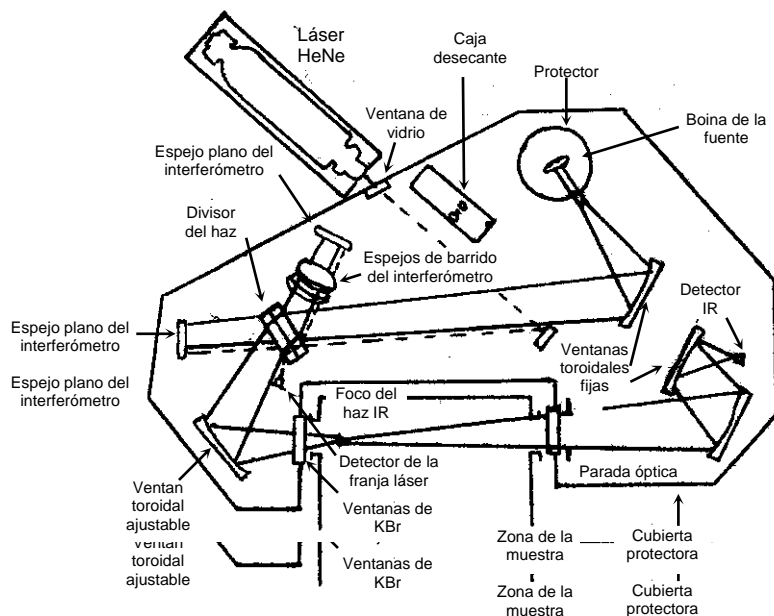
Figura 6. Espectrómetro IR de transformadas de Fourier (FT-IR), Perkin Elemer Spectrum BX2 sistem.



www.perkinelmer.com/productos

Para la cuantificación de simeticona se utilizó un espectrómetro IR de transformadas de Fourier (FT-IR), Perkin Elemer Spectrum BX2 sistem, figura 6. El espectrómetro BX2 es un modelo de alta performance y resolución, apto para tareas de control de calidad, rutinas, investigación, que acepta una gran cantidad de accesorios y posee rutinas de validación interna incorporadas. El interferómetro mejorado Michelson modelo Dynascan(TM) es inmune a errores dinámicos de alineamiento por inclinación o tilt o shear del haz infrarrojo. Tiene un detector: FR-DTGS (Sulfato de triglicina deuterada) IR 7800 – 350cm⁻¹. Beamsplitter: KBr cubierto con Germanio. Resolución: 0.8 cm⁻¹. Relación señal ruido: 60000/1 RMS - 12000/1 P/p para 1 minuto de barrido a 4 cm⁻¹ de resolución. Linealidad: 0 – 3 unidades de absorbancia con el detector de FR-DTGS.

Figura 7. Esquema interno de Espectrómetro FT-IR de un solo haz.



SKOOG. Principios de análisis instrumental.

En el procedimiento de extracción y preparación de muestra se emplearon equipos como:

Para pesar se emplearon las siguientes balanzas:

- Balanza analítica Starius Analytic AC210P, MC 1.
- Balanza analítica Mettler Toledo XS205 Dual range.

En el proceso de extracción se utilizó:

- Centrífuga Eppendorf Herlem Az-500
- Agitador mecánico Burrell Wrist Actino Shaker, Model 75.
- Plancha de agitación Polco Geprüft Checked, Verifie Jkika.

3.2. REACTIVOS

Tolueno reactivo para análisis, Merck

Hexano reactivo para análisis, Merck

Ácido clorhídrico reactivo para análisis, Merck

Hidróxido de sodio reactivo para análisis, Merck

Estándar: Simeticona 96% antifoam, Dow Corning/Unireds Química/C. Disan

Sulfato de sodio anhidro reactivo para análisis, Merck

3.3. METODOLOGÍA

La cuantificación de simeticona en tabletas y en suspensión se realizó con dos procedimientos diferentes, relación espectroscópica y curva de calibración, que se describen a continuación:

3.3.1. Cuantificación de simeticona en el medicamento: “Pancreatina Simeticona tabc.” por relación de señales con FT-IR: Para la cuantificación de simeticona se empleó un patrón secundario al cual se le llamó estándar, se preparó por duplicado con el siguiente tratamiento previo:

☞ **Preparación del estándar:** Se transfirió 50 mg de Simeticona a un frasco con tapa, se adicionó 25 mL de Tolueno, se agitó por 5 minutos magnéticamente. Se adicionó 50 mL de HCl 4.9 M, se cerró el frasco y agitó en plancha de agitación graduada mínimo en 7, la cual fue constante, por 40 minutos. Se dejó en reposo por 30 minutos. Se transfirió 15 mL de la capa orgánica (parte superior) a un tubo de centrifuga que contenía 0.5 g de sulfato de sodio anhidro, (Na_2SO_4), evitando todo tipo de contaminación, y centrifugó por 5 minutos a 2800 rpm.

La muestra se trató de forma similar al estándar, para extraer el principio activo mencionado, este procedimiento se realizó por triplicado así:

☞ **Extracción de la muestra:** Se tomó el peso promedio de 10 tabletas, se maceró suavemente y pasó por malla número 40, se transfirió el equivalente en muestra a 50 mg de Simeticona a un frasco con tapa, se adicionó 25 mL de Tolueno, se agitó por 5 minutos magnéticamente. Luego se adicionó 50 mL de HCl 4.9 M, se cerró el frasco y agitó en plancha de agitación graduada mínimo en 7, por 40 minutos. Se dejó en reposo por 30 minutos. Se transfirió 15 mL de la capa orgánica a un tubo de centrifuga que contenía 0.5 g de sulfato de sodio anhidro, (Na_2SO_4), evitando todo tipo de contaminación y centrifugó por 5 minutos a 2800 rpm

En los ensayos previos a la validación se hicieron cambios en la concentración del ácido clorhídrico y luego se probó eliminando la cubierta, obteniendo así buenos resultados.

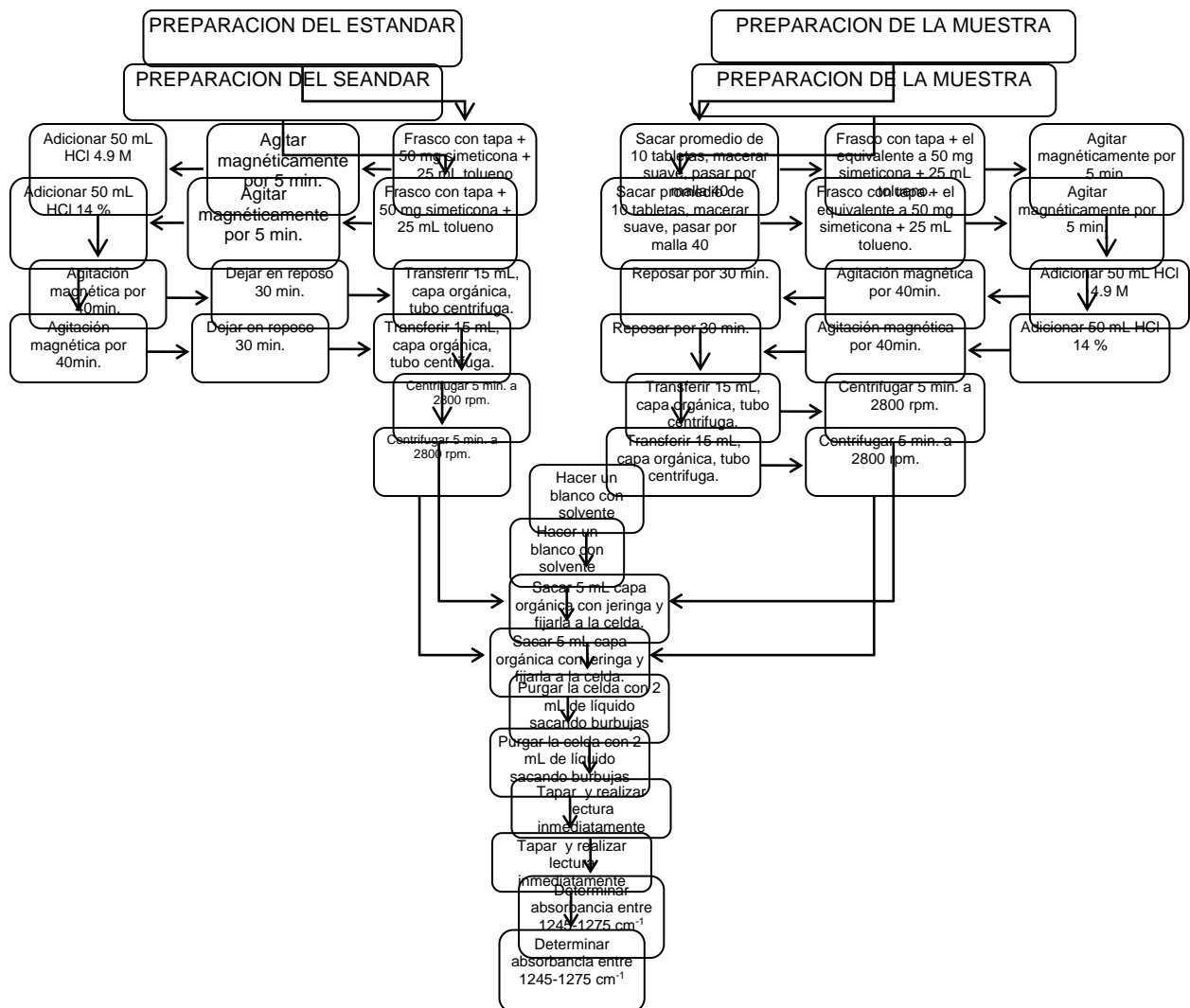
☞ **Procedimiento de cuantificación de simeticona por relación de señales, con FT-IR:** Ya que el solvente presentaba señales en la región de infrarrojo de trabajo, se hizo un barrido con éste para eliminar las señales que puedan aparecer en la región de trabajo y así garantizar que las señales que aparecieran correspondieran a la simeticona únicamente.

Se sacó 5 mL de la capa orgánica centrifugada con una jeringa, se fijó la jeringa en la celda apropiada para líquidos; (el separador de los cristales de KRS debe ser de 0.5 mm) se purgó con aproximadamente 2 mL de líquido, evitando que haya burbujas y derrame de líquido por fuera de ella, se tapó el otro extremo con el adaptador, se realizó la lectura inmediatamente, y se determinó la absorbancia en la región entre 1245 y 1275 cm^{-1} , ver espectros en anexos I y II.

La cuantificación de simeticona se realizó por relación de señales, con la ecuación descrita en el numeral 4.1.

En la figura 8 se puede ver en forma resumida el tratamiento previo que se realizó a las muestras, al estándar y el procedimiento empleado para la recopilación de datos y graficas obtenidas en la cuantificación por FT-IR.

Figura 8. Esquema de cuantificación de simeticona en el medicamento “Pancreatina Simeticona tabc”.



3.3.2. Cuantificación de simeticona por curva de calibración en el medicamento: “hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio,

simeticona”: Para la cuantificación de simeticona se empleó un patrón secundario como estándar con el que se preparó la curva de calibración.

☞ **Preparación del estándar:** Para la cuantificación de simeticona en suspensión se realizó una curva patrón con concentraciones de 0,4; 1,2; 2,0; 2,8; 3,6 mg/mL, el siguiente es un ejemplo de como trató el estándar de 2 mg/mL:

Se transfirió 50 mg de simeticona a sendos frascos con tapa. Se adiciono 50 mL de NaOH 0.1 M, se agito por un minuto, se adiciono 25 mL de tolueno, cerro el frasco y agito en Shaker, por 45 minutos. Se transfirió 15 mL de la capa orgánica (parte superior) a un tubo de centrifuga que contenía 0.5 g de sulfato de sodio anhidro, (Na_2SO_4), evitando todo tipo de contaminación, y centrifugo por 5 minutos a 2800 rpm.

☞ **Extracción de la muestra:** Se prepararon por triplicado las muestras de simeticona en suspensión a las cuales se les hizo un tratamiento previo similar al estándar con el fin de extraer el principio activo mencionado de la siguiente forma:

Se determino la densidad de la suspensión y se pesó el equivalente en muestra a 50 mg de simeticona en un frasco con tapa, se adiciono 50 mL de NaOH 0.1 M, se agito por un minuto, se adiciono 25 mL de Tolueno, se cerró el frasco y agito en mecánicamente por 45 minutos. Se centrífugo toda la muestra a 6500 rpm., por 15 minutos. Se transfirió 15 mL de la capa orgánica (parte superior) a un tubo de centrifuga que contenía 0.5 g de sulfato de sodio anhidro, (Na_2SO_4), evitando todo tipo de contaminación, y centrifugo por 5 minutos a 2800 rpm.

Se realizaron unos ensayos previos a la validación para optimizar la extracción de simeticona donde se probaron diferentes parámetros en el proceso de

extracción, como la variación en la concentración de hidróxido de sodio, se probó con ácido clorhídrico, en unos ensayos se utilizó tolueno para la extracción y para otros ensayos hexano. Se manejaron diferentes tiempos de extracción, se realizaron extracciones fraccionadas y extracciones sencillas. La cuantificación de estos ensayos previos se llevó a cabo por el método de relación de señales.

☞ **Procedimiento de cuantificación de simeticona por curva de calibración en FT-IR:** Para eliminar las señales que aparecían en la región de trabajo se hizo un barrido con el solvente, este solvente también se empleó para sustraer la señal de la muestra, las lecturas de absorbancia del estándar y la muestra se realizaron como sigue:

Se sacó 5 mL de la capa orgánica centrifugada con una jeringa, se fijó la jeringa en la celda apropiada para líquidos; (el separador de los cristales de KRS debe ser de 0.5 mm) se purgó aproximadamente con 2 mL de líquido, evitando que haya burbujas y derrame de líquido por fuera de ella, se tapó el otro extremo con el adaptador, se realizó la lectura inmediatamente. Se determinó la absorbancia entre 1245 y 1275 cm^{-1} , ver espectros en anexo V.

La cuantificación de las muestras se llevó a cabo con la siguiente ecuación de la recta:

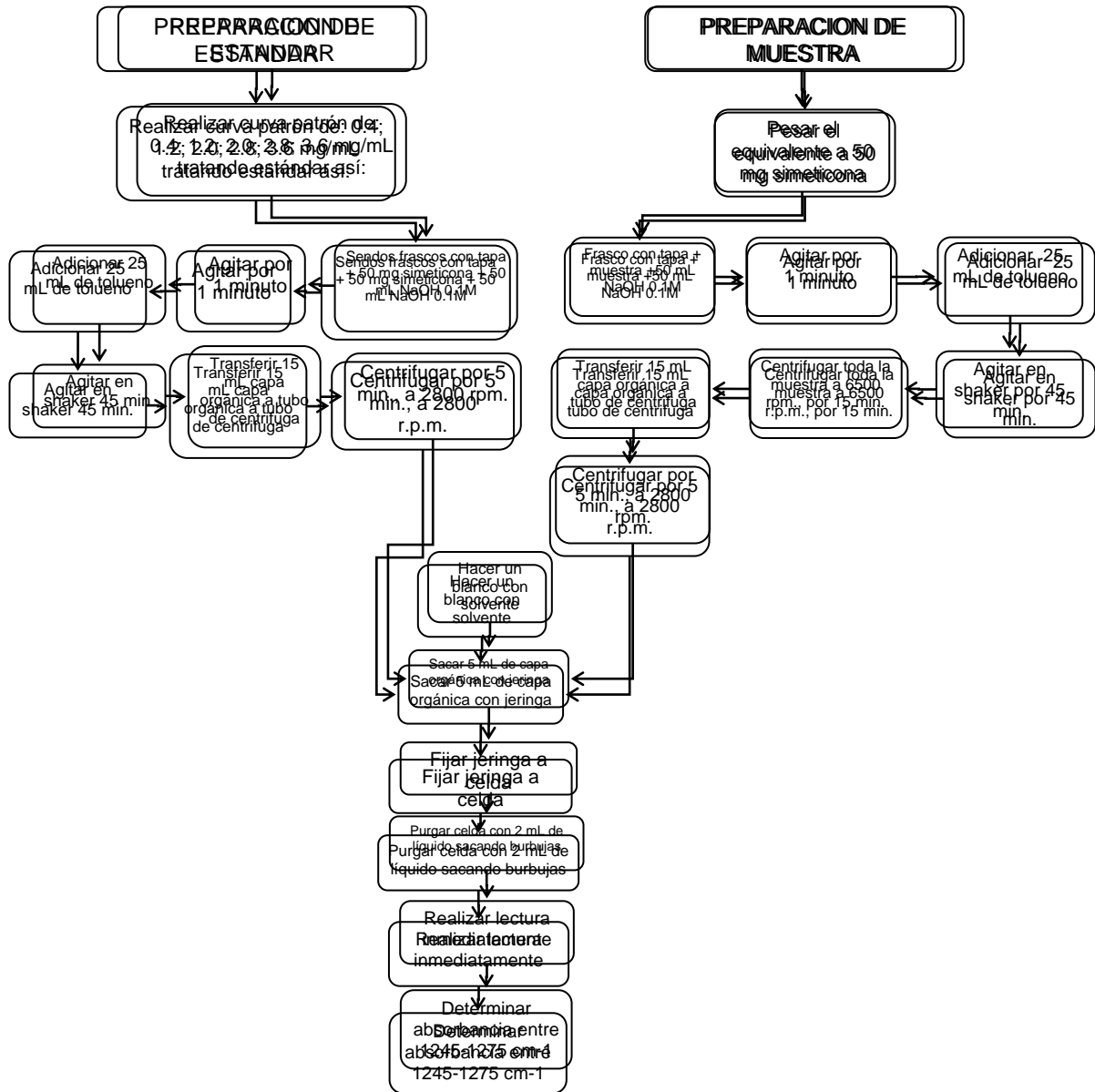
$$y = a + bx$$

Que se verá con más detalle en la sección de resultados y discusión.

A continuación en la figura 9 se muestra un esquema del protocolo seguido para la cuantificación de simeticona en suspensión, los tratamientos previos

realizados a las muestras, al estándar y el procedimiento para la recopilación de datos por FT-IR.

Figura 9. Esquema de cuantificación de simeticona en antiácido.



3.4. ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

3.4.1. Ensayo de linealidad: Para su determinación se preparó una serie de 5 estándares, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo, con un exceso del 200% y un defecto del 40 %. Estas soluciones fueron leídas por triplicado y se determinó la curva de regresión $Y = a + bx$ sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados. Este ensayo es igual para los dos medicamentos.

Criterio de Aceptación: El criterio para el coeficiente de correlación (r) es que debe ser mayor o igual al 0,990. El intervalo de confianza para el intercepto, en el caso ideal debe incluir el cero. En el análisis estadístico de la pendiente $t_{exp} > t_{tab}$, indica que $p(b) \neq 0 > 95,0\%$. En el análisis estadístico para el intercepto $t_{exp} < t_{tab}$, indica que $p(a) = 0 > 95,0\%$. El análisis de varianza debe mostrar que el valor $F_{calc} > F_{crít}$ para rechazar H_0 .

3.4.2. Ensayo de selectividad por estudio indicativo de estabilidad: Las alícuotas de la muestra de simeticona en tabletas fueron tratadas como se describe en la tabla 5.

Después del tratamiento, todas las muestras fueron analizadas de acuerdo al método ya descrito.

Tabla 5. Tratamiento de degradación forzada para la simeticona en tabletas cubiertas.

ENSAYO	CARACTERÍSTICAS
Hidrólisis Neutra	La muestra fue sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.
Hidrólisis Ácida	La muestra fue tratada con 1 mL de ácido tricloroacético 1M (disuelto en tolueno) y sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.
Hidrólisis Básica	La muestra fue tratada con 1 mL de trietilamina 1M (disuelta en tolueno) y sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.

Oxidación Peróxido de benzoilo	La muestra fue tratada con 1 mL de peróxido de benzoilo y dejada en reposo durante 5 minutos, a temperatura ambiente.
Fotólisis Luz UV	La muestra fue preparada de acuerdo al método y expuesta a luz UV durante un período de 24 horas.

Las muestras de simeticona en suspensión antes de la extracción fueron tratadas como se muestra en la tabla 6:

Tabla 6. Tratamiento de degradación forzada para la simeticona en suspensión.

ENSAYO	CARACTERISTICAS
Hidrólisis Neutra	La muestra fue sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.
Hidrólisis Ácida	La muestra fue tratada con 1 mL de ácido clorhídrico 1M y sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.
Hidrólisis Básica	La muestra fue tratada con 1 mL de hidróxido de sodio 1M y sometida a calentamiento en baño maría entre 70 – 80 °C durante 20 min.
Oxidación H ₂ O ₂	La muestra fue tratada con 1 mL de peróxido de hidrogeno al 30% y dejada en reposo durante 5 minutos, a temperatura ambiente.
Fotólisis Luz UV	La muestra fue expuesta a luz UV durante 24 horas.

Después del tratamiento, todas las muestras fueron analizadas de acuerdo al método ya descrito.

3.4.3. Ensayo de Precisión del Método: las dos medidas más comunes de la precisión, que generalmente se definen en términos de la desviación estándar o el coeficiente de variación son la repetitividad y la reproducibilidad que se describen a continuación:

☞ **Repetitividad:** Se efectuó un ensayo en el que se evaluaron 6 muestras de Pancreatina Simeticona tableta cubierta y 6 muestras del medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona, con una

concentración de simeticona de aproximadamente 2 mg/mL, usando el método propuesto.

Criterio de Aceptación: En análisis de producto terminado suelen darse como buenos coeficientes de variación valores inferiores al 2,0; 3,0%. Por otro lado, Horwitz indica diferentes coeficientes de variación en función del porcentaje de analito en la muestra. La tabla 7, muestra los C.V (%) permitidos por Horwitz:

Tabla 7. Coeficientes de variación máximos, de acuerdo con el % de analito en la muestra.

% del Analito en la muestra	CV. Max. Horwitz
100	2
50	2,2
10	2,8
1	4
0,1	5,7
0,1 - 0,001	8 – 11,3
0,0001	16

Raymond et al., 1992.

☞ **Reproducibilidad:** Un segundo analista preparó 6 muestras y aplicó el método propuesto en una fecha diferente a la fecha en que se realizó el ensayo de repetitividad y usando el mismo equipo. Este procedimiento se realizó de igual forma para los dos medicamentos.

Criterio de Aceptación: Para demostrar que no existe diferencia significativa entre los resultados de los dos analistas, el análisis de varianza debe mostrar que el valor de f calculado es menor que el valor de f crítico (tabulado)

3.4.4. Ensayo de exactitud: Se prepararon 3 muestras con el 80%, 100% y 120% de la concentración estimada de trabajo para (principio activo + matriz) y se analizó cada una por triplicado. De igual forma se trató los dos medicamentos.

Criterio de Aceptación: t_{obs} debe ser menor que t_{tab} para considerar que no existe diferencia significativa entre el porcentaje recuperado promedio y el 100,0%. El valor G_{exp} debe ser menor que el valor G_{tab} para concluir que el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

3.4.5. Ensayo de robustez: Se introdujeron variaciones razonables en las condiciones experimentales del método presentadas en la tabla 8 y se observó su influencia en el resultado de valoración tanto para HIDRÓXIDO DE ALUMINIO, HIDRÓXIDO DE MAGNESIO, SIMETICONA Mk como para PANCREATINA SIMETICONA TABC y para ello se utilizó el diseño propuesto por Plackett y Burman, que permite estudiar el efecto de n variables en $n+1$ ensayos.

Criterio de Aceptación: Las diferencias (VA, VB...VG) superiores en valor absoluto a $s\sqrt{2}$, siendo s la desviación estándar hallada en el estudio de repetitividad, se consideran significativas.

Tabla 8. Condiciones experimentales para los medios de extracción de simeticona en tabletas y en suspensión.

Variable	Condiciones de trabajo de simeticona en tabletas	Condiciones de trabajo de simeticona en suspensión
A	Adicionar HCl 4.9 M	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona
B	Dejar en reposo 30 minutos.	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar
C	Centrifugar durante 5 minutos.	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en mecánicamente por 45 minutos.
D	Centrifugar a 2800 rpm.	Centrifugar a 6500 rpm. por 15 min.
E	Tamizar por malla 40	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄
F	Agitar magnéticamente durante 5 minutos.	Centrifugar a 2800 rpm. por 5 minutos.

G	Tiempo de extracción 40 min.	Medir en IR con jeringas nuevas
---	------------------------------	---------------------------------

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN EL MEDICAMENTO: PANCREATINA SIMETICONA TABC POR RELACION DE SEÑALES.

Las muestras con las que se llevo a cabo la cuantificación de simeticona en el medicamento Pancreatina simeticona tabletas cubiertas, fueron suministradas por el laboratorio de control de calidad.

La cuantificación de simeticona en el medicamento: “Pancreatina Simeticona tabc”, tanto en los ensayos previos a la estandarización como para esta, se llevó a cabo por relación de señales por FT-IR, empleando para ello la siguiente formula:

$$\% Simeticona = \frac{Am}{As} \times \frac{W_{st}}{50} \times \frac{W_{t_{mt}}}{W_{mt}} \times Pot_{st}$$

Donde:

Am = Absorbancia muestra

As = Absorbancia estándar

W_{st} = peso estándar

$W_{t_{mt}}$ = Peso teórico muestra

W_{mt} = Peso muestra

Pot_{st} = Potencia del estándar o pureza (en %)

El porcentaje de simeticona se hallaba haciéndole unas correcciones con factores unitarios a la pureza del estándar, obteniendo así el porcentaje de simeticona de la muestra leída.

Al realizar los ensayos con los protocolos empleados en el laboratorio de control de calidad de la empresa se obtuvieron porcentajes de recuperación de 87.5 %, para mejorar esto se realizaron diferentes ensayos en los que se estudió el efecto que tenía la concentración del ácido clorhídrico, sin obtener buenos resultados.

Esto se debe posiblemente a que al momento de pesar la cantidad de cubierta de las tabletas por muestra no era uniforme, es decir en unas muestras era mayor la cantidad de cubierta que en otras y esto afectaba notablemente los resultados, disminuyendo el porcentaje de recuperación.

Luego se probó quitando la cubierta de las tabletas por medio de maceración y tamizado de estas, con una maya número 40, y se encontró que al quitar la cubierta de las tabletas el porcentaje de recuperación aumentó, de igual forma el porcentaje de desviación estándar relativa (RSD %) también se pudo mejorar; esto se puede observar en la tabla 9, (ver anexo I); donde se observa unos porcentajes de extracción de 91.4 % y 91.5% (los valores requeridos por el laboratorio de control de calidad son entre 85 y 115 %, según la norma) y un porcentaje de desviación estándar relativa (RSD %) entre 0.89 y 1.7 %; los valores requeridos por la norma son menores o iguales al 2%, indicando esto que se obtuvieron buenos resultados con los cambios que se le hizo a la técnica que se estaba siguiendo.

Tabla 9. Cuantificación de simeticona en Pancreatina Simeticona tabc; muestras de condición: inicial. (Ver en anexo I espectros 1 y 2)

% Simeticona	% \bar{X}	RSD %
89.5	91.5	1.7
93.4		
91.6		
91.6		
91.9	91.4	0.89
91.9		
90.5		

Como se puede observar en la tabla 10 se hizo un estudio a las tabletas por tres meses a diferentes condiciones de temperatura (25 °C, 37 °C y 40 °C).

Tabla 10. Cuantificación de simeticona en Pancreatina Simeticona tabc; muestras de condición: 25 °C, 37 °C, 40 °C, del mes 1, 2, 3. (Ver espectros en anexo II)

Condición	% simeticona promedio	RSD %
25°C mes 1	94.4	0.25
37°C mes 1	92.9	0.45
40°C mes 1	93.5	0.83
25°C mes 2	95.9	0.20
37° C mes2	96.3	0.58
40° C mes2	94.6	0.49
25°C mes 3	102.9	0.68
37°C mes 3	101.3	0.26
40°C mes 3	102.3	0.70

La cuantificación de simeticona se llevó a cabo cada mes, para ver que efecto tenían estas condiciones sobre el principio activo mencionado anteriormente, y si la técnica empleada servía para este ensayo. Los resultados obtenidos fueron buenos ya que muestran que a medida que pasa el tiempo el cambio no es significativo y los valores obtenidos estaban dentro de las especificaciones requeridas por la empresa, es decir un porcentaje de simeticona entre 85 y 115% y RSD % menor de 2 %.

4.1.1. Estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: “Pancreatina Simeticona tabc” (Ver espectros en anexo III):

La Estandarización se llevó a cabo con un placebo que fue elaborado por la división de investigación y desarrollo, y el estándar suministrado por el laboratorio de control de calidad de la empresa.

K Ensayo de selectividad: No debe haber señales en los placebos tratados que interfieran con el analito y las muestras no deben aumentar en concentración.

Como se pudo observar en la tabla 11 el placebo presentaba señal debido a los componentes de la cubierta, por tal motivo, antes de realizar el análisis se debe eliminar la cubierta de las tabletas.

En el proceso de degradación artificial (ver tabla 11, anexo III, espectros 12 - 17), no se observa degradación en las muestras, o los productos de degradación que se representan, no afectan las lecturas de las muestras, esto se puede asegurar ya que las bandas presentes tienen una absorbancia similar, por tanto se puede decir que el método es selectivo.

Tabla 11. Ensayo de selectividad por estudio indicativo de estabilidad.

Tratamiento	Resultados (Abs)		
	Placebo	Estándar	Muestra
Sin Tratamiento	0.0187	0.2093	0.2097
Hidrólisis Térmica	0.0081	0.1824	0.2000
Hidrólisis Ácida	0.0054	0.1831	0.1838
Hidrólisis Básica	0.0093	0.1835	0.1921
Oxidación	0.0128	0.1792	0.1833
Fotólisis	0.0025	0.1877	0.1896

K **Ensayo de exactitud:** en la tabla 12 se presentan las respuestas del estándar (ver anexo III, espectro 18) con las que se va a comparar las muestras. Las concentraciones de los estándares se asumen como 100% de concentración.

Tabla 12. Ensayo de exactitud respuesta de estándar.

Respuesta estándares	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs \bar{X}
Estándar	0.1923	0.1893	0.1885	0.1900

En la tabla 13 se encuentran registradas la absorbancia de las muestras sintéticas con 3 concentraciones diferentes (ver anexo III, espectro 19), el porcentaje hallado con respecto al estándar promedio (Abs = 0.1900) y su respectivo porcentaje de recuperación, el cual debe estar entre 85 % y 115 % según la norma.

Tabla 13. Ensayo de exactitud respuesta de muestra.

Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado
80	0.1635	86.1	107.6
		s	7.17
		%RSD	6.66
Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado
100	0.1896	99.8	99.8
		s	1.22
		%RSD	1.22
Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado
120	0.2302	121.2	101.0
		s	1.93
		%RSD	1.91

Comparando los 3 niveles de concentración se puede ver que:

$n = 9$; Promedio = 102.8; Desviación estandar = 5.23; %RSD = 5.088772;
Confianza: 95%; Grados de libertad: 8; $t_{tab} = 2.3060$

$$t_{exp} = \frac{\sqrt{n}|100 - \%R|}{\%RSD} ; \quad t_{exp} = 1.642$$

$t_{exp} = 1.642$ es menor que $t_{tab} = 2.306$, con lo que se puede considerar que no existe diferencia significativa entre el porcentaje recuperado promedio y el 100,0% (ver anexo VI),%. la exactitud es apropiada.

Con el test de Cochran se puede confirmar la exactitud del método ya que:

$$G_{exp} = \frac{S_{máxima}^2}{\sum S_i^2} = \frac{51.411}{56.602} ; \quad G_{exp} = 0.908$$

El valor $G_{exp} = 0.9085$ es menor que el valor $G_{tab} = 0.9423$, por lo tanto el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados, no hay diferencia significativa entre la recuperación promedio y el 100%.

K Ensayo de precisión del método: La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar relativa (RSD o CV). La USP indica en general un % RSD del sistema de no más de 2.0%, evaluando 6 veces una solución estándar. La precisión del método se determina a través de dos ensayos, repetitividad y reproducibilidad que se describen a continuación:

☞ **Repetitividad:** En análisis de producto terminado suelen darse como buenos coeficientes de variación valores inferiores al 2.0 o 3.0%, dependiendo de la dificultad del método. Por otro lado, Horwitz indica diferentes coeficientes de variación (CV) en función del porcentaje de analito en la muestra. En la tabla 7, se muestra los CV (%) permitidos por Horwitz [Raymond et al. 1992], donde se observa que para un 100 % de analito en la muestra le corresponde un coeficiente de variación de 2 %.

De acuerdo con esto en la tabla 14 (ver anexo III, espectro 21) se muestra el porcentaje obtenido de 91.3 % y un CV o % RSD de 1.95 %, valores que se pueden considerar como buenos, por tanto se puede decir que el método es repetitivo.

☞ **Reproducibilidad:** en la tabla 14 (ver anexo III, espectro 20) se observa un porcentaje de simeticona de 90.4 % y un % RSD de 0.78 lo que indica la reproducibilidad del método.

Tabla 14. Repetitividad y Reproducibilidad del método.

h	E N S A Y O S (n)						ESTADÍSTICAS			
	1	2	3	4	5	6	\bar{X}	s	$s \sqrt{2}$	% RSD
Repetitividad	93.9	91.1	92.5	91.3	89.8	89.0	91.3	1.78	2.51	1.95

Reproducibilidad	91.7	90.5	90.2	90.1	90.5	89.6	90.4	0.70		0.78
					Media Global		90.85			

Intervalo de confianza de la media: $\bar{X} \pm t \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right)$

$t_{tab} = 2.57$

Limite superior = 93.2

Limite inferior = 89.4

Intervalo de confianza individual: $X \pm ts$

Limite superior = 98.5

Limite inferior = 84.4

Análisis de varianza un factor:

h (numero de analistas): 2

n (numero de repeticiones): 6

Grado de confianza: 95.0%

Hipótesis: Ho: No existe diferencia significativa entre los resultados de los dos analistas.

Si $F_{calc} < F_{crítico}$, se aprueba Ho.

Resumen:

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Repetitividad	6	547.6	91.3	3.155
Reproducibilidad	6	542.6	90.4	0.495

Análisis de varianza:

<i>Variaciones</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>F-Crít</i>
Entre grupos	2.08	1	2.08	1.14	4.97

Dentro de los grupos	18.2	10	1.82
Total	20.3	11	

Para demostrar que no existe diferencia significativa entre los resultados de los dos analistas, el análisis de varianza debe mostrar que el valor de F calculado es menor que el valor de F crítico tabulado. El análisis de varianza de un solo factor muestra que el valor de F calculado (1.14), es inferior al valor tabulado (4.97), lo que indica con un 95% de confianza, que no existen diferencias significativas entre los resultados de los dos analistas, se aprueba la hipótesis H_0 . Es decir, el método analítico es preciso.

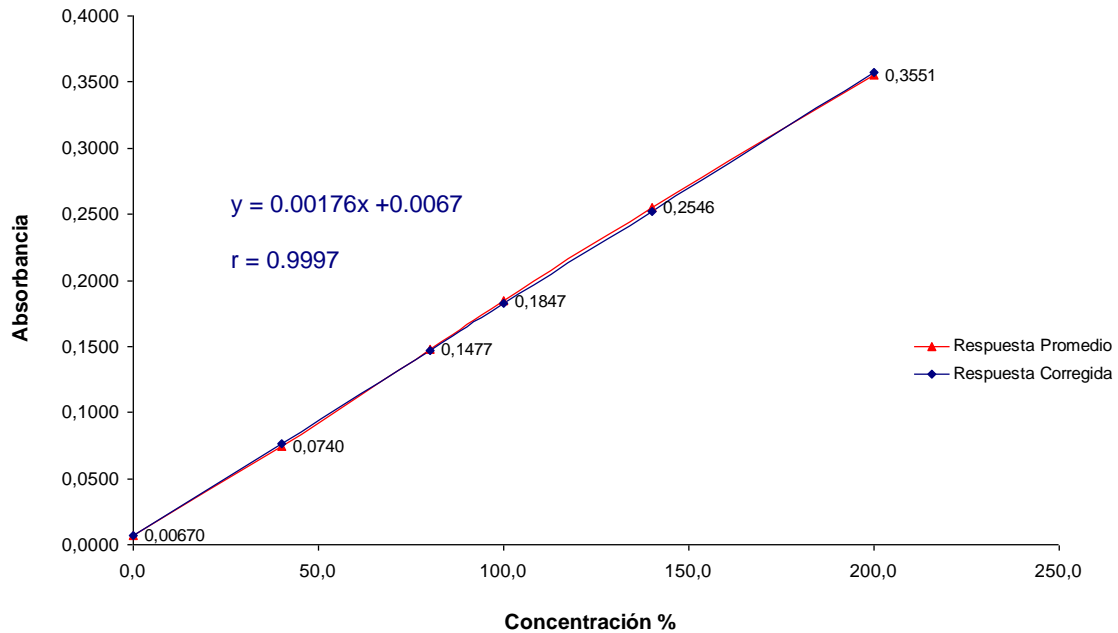
K **Ensayo de linealidad:** se prepararon 5 estándares con las concentraciones que se indican en la tabla 15, con las señales respectivas (ver anexo III, espectro 22):

Tabla 15. Ensayo de linealidad.

Concentración (%)	Absorbancia
40	0.0740
80	0.1477
100	0.1847
140	0.2546
200	0.3551

Se graficó concentración del estándar versus la respuesta en absorbancia del equipo como lo indica a continuación la figura 10:

Figura 10. Concentración vs respuesta ensayo de linealidad, de simeticona en tabletas.



La ecuación de la recta obtenida con este ensayo es:

$$y = 0.00176x + 0.0067$$

Donde la pendiente $b = 0.00176$, el intercepto $a = 0.0067$. Se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0.9997$.

El criterio para el coeficiente de correlación (r) es que debe ser mayor o igual al 0,995, indicando esto una buena linealidad, que también se puede observar en la figura 10.

Se realizó el test de verificación de la pendiente con el cual se halla el intervalo de confianza de la pendiente así:

$$s_{xy}^2 = \frac{\sum y_i^2 - a \sum y_i - b \sum x_i y_i}{n - 2};$$

$$S_{xy}^2 = 1.10E-5$$

$$S_b = \sqrt{\frac{S_{xy}^2}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}};$$

$$S_b = 1.57E-5$$

Teniendo en cuenta:

Ho: La pendiente es estadísticamente diferente de cero y

Ha: La pendiente no es estadísticamente diferente de cero.

Nivel de confianza = 95 %

Grados de libertad = 13

$$t_{\text{exp}} = \frac{b}{S_b} = \frac{0.0018}{1.57E-5} \quad t_{\text{exp}} = 111.73$$

En el análisis estadístico de la pendiente $t_{\text{exp}} = 111.7$ mayor que $t_{\text{tab}} = 2.16$, indica que la pendiente es estadísticamente diferente de cero con un 95,0% de confianza.

Obteniéndose un intervalo de confianza de la pendiente de:

$$b \pm t_{\text{tab}} S_b ; \quad 0.00172 \leq b \leq 0.00179$$

Se realizó el test de proporcionalidad del intercepto, hallándose un intervalo de confianza del intercepto de:

$$a = a \pm t_{\text{tab}} S_a ; \quad 0.00247 \leq a \leq 0.0109$$

Con el análisis de varianza de un factor se obtiene:

Variaciones	SC	gl	MC	F	F-Crít
Linealidad	0.137	1	0.137	12483.6	4.67

Residuales	0.00014	13	1.1E-05
Total	1.38E-01	14	

El análisis de varianza de un factor muestra que el valor F-calculado = 12483.6 mayor que F-crítico = 4.67, es decir, que la concentración y la respuesta del instrumento, siguen una relación lineal.

K Ensayo de robustez: En el ensayo de robustez se estudia el efecto que tienen 7 variables sobre el método empleado. A continuación en la tabla 16 se nombran dichas variables con letras mayúsculas, las cuales se sacan de acuerdo a los resultados históricos del protocolo a seguir y con letras minúsculas la modificación que se hace a estas variables:

Tabla 16. Ensayo de robustez, variables de alto y bajo nivel.

Variable	Tipo de variable
A	Adicionar HCl 4.9 M
a	Adicionar HCl 7.35 M
B	Dejar en reposo 30 min.
b	Dejar en reposo 60 min.
C	Centrifugar durante 10 min.
c	Centrifugar durante 5 min.
D	Centrifugar a 1400 rpm
d	Centrifugar a 2800 rpm
E	Tamizar por malla 40
e	Tamizar por malla 60
F	Agitar magnéticamente durante 5 min.
f	Agitar magnéticamente durante 10 min.
G	Tiempo de extracción 40 min.
g	Tiempo de extracción 20 min.

En el anexo IV se muestran los 8 ensayos obtenidos de acuerdo con el modelo de Youden-Steiner para la preparación de muestras de estandarización del método de cuantificación de simeticona en tabletas cubiertas.

El tabla 17 se puede observar los resultados obtenidos de los 8 ensayos realizados de acuerdo con el modelo de Plackett y Burman (ver anexo III, espectro 23):

Tabla 17. Resultados de ensayo de robustez.

Parámetro	% Principio activo
s	90.0
t	89.0
u	89.9
v	89.9
w	90.4
x	90.4
y	89.4
z	89.2

A continuación en la tabla 18 se muestra el resultado del cálculo de las diferencias de respuesta para cada parámetro:

Tabla 18. Cálculos de la diferencia de respuesta para cada parámetro.

Variable	Diferencia	Diferencia
A-a	V_A	0.0250
B-b	V_B	0.3500
C-c	V_C	0.3000
D-d	V_D	0.7500
E-e	V_E	0.2000
F-f	V_F	0.2500
G-g	V_G	0.3000

Al comparar las diferencias halladas (VA, VB,...) en valor absoluto (ver tabla 18) con el valor calculado $S\sqrt{2} = 2,51$, siendo S la desviación estándar hallada en el estudio de Repetitividad (ver tabla 14), se considera que el método es muy robusto y soporta todas las variaciones propuestas.

4.2. CUANTIFICACIÓN DE SIMETICONA EN SUSPENSIÓN POR CURVA DE CALIBRACION

4.2.1. Ensayos previos: La cuantificación de simeticona en el medicamento: hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona, para los ensayos previos se realizó por el método de relación de señales teniendo en cuenta la formula del numeral 4.1, que se venia utilizando con la simeticona en tabletas.

Las muestras con las que se llevó a cabo este análisis, son del producto terminado listo para ser envasado.

Se realizaron una serie de ensayos en los que se probó con diferentes variables, como tiempo de extracción, concentración de hidróxido de sodio, número de extracciones, acidez, solvente orgánico y tipo de agitación que se describirán a continuación así:

K Variable tiempo de extracción: La tabla 19 muestra que los tiempos de extracción no tuvieron un efecto significativo puesto que aunque se aumento el tiempo a 2 horas se obtuvo una recuperación entre 17.6 % y 63.5 % (los porcentajes de recuperación requeridos por la norma están entre 85 % y 115%) y los % RSD son 34.5 y 9.1 % respectivamente, (los % RSD deben ser menores o iguales a 2 %) , y al seguir aumentando el tiempo de extracción el porcentaje de recuperación aumentaría pero este es un factor no conveniente para el

trabajo rutinario del laboratorio, puesto que lo que se requiere es realizar la mayor cantidad de ensayos en el menor tiempo posible, para poder cumplir con los indicadores de calidad exigidos por la empresa, por lo que se descarta 120 minutos y se tiene en cuenta un tiempo de extracción de 50 minutos para en sayos posteriores ya que presenta el % RDS más bajo reportado en la tabla 19.

Tabla 19. Ensayo 1: variable tiempo de extracción.

Tiempo total de extracción	% Simeticona	% RSD
30 min.	17.6	34.5
50 min.	24.8	7.7
120 min.	63.5	9.1

Condiciones del ensayo: [NaOH] = 0.1N; # extracción = 1;
solvente = tolueno; tipo de agitación = magnética.

K Variable concentración de NaOH: el ensayo anterior indica que se debería trabajar con un tiempo de extracción de 50 minutos por presentar el % RSD mas bajo, pero se decidió aumentar a 60 minutos de extracción que es un valor cercano y probar con 4 concentraciones de hidróxido de sodio, como lo indica la tabla 20, observándose que a medida que se aumentaba la concentración de la base se observaba una separación de las capas en menor tiempo y el porcentaje de recuperación aumentaba, pero el % RSD empezó a aumentar con 2 N, por lo que se decidió tener en cuenta la concentración de 1N para el siguiente ensayo ya que con esta concentración se obtiene un % RSD de 2.8, valor muy cercano al requerido por la norma.

Tabla 20. Ensayo 2: variable concentración de NaOH.

Concentración NaOH	% Simeticona	% RSD
0.1 N	22.3	32.1
0.5 N	55.0	3.4

*1N	67.8	2.8
2 N	74.0	4.2

Condiciones del ensayo: tiempo de extracción = 60 min.; número de extracciones 2; solvente = tolueno; tipo de agitación = magnética. *tiempo de extracción = 40 minutos.

K **Variable número de extracciones:** En la tabla 21 se observa que al aumentar el número de extracciones se mejoraba un poco los porcentajes de recuperación, pero no se podía seguir aumentando las extracciones porque los porcentajes de desviación estándar relativa (% RSD) también aumentaban, obteniéndose buenos % RSD con dos extracciones, condición que se tuvo en cuenta para el siguiente ensayo.

Tabla 21. Ensayo 3: variable número de extracciones.

Tiempo total de extracción	Número de extracciones	% Simeticona	% RSD
40 min.	1	38.0	17.5
30 min.	2	68.5	1.6
90 min.	3	71.0	9.2

Condiciones del ensayo: NaOH 1N; solvente: tolueno; tipo de agitación: magnética

K **Variable solvente orgánico:** Para este ensayo se probó con hexano, obteniéndose porcentajes de % RSD mayores a 2 % como se observa en la tabla 22, ya que los resultados obtenidos con este solvente no son mejores que los que se venían obteniendo con tolueno, es decir son muy similares, se decidió seguir trabajando con tolueno, por lo que se descarta el ensayo con hexano, además con tolueno se obtienen % RSD más bajos que con hexano.

Tabla 22. Ensayo 4: variable solvente orgánico.

Concentración NaOH	Solvente	% Simeticona	% RSD
*0.5 N	Hexano	65.0	17.2
0.5 N	Tolueno	55.0	3.4
2 N	Hexano	70.3	4.8
2 N	Tolueno	74.0	4.2

Condiciones del ensayo: Número de extracciones: 2; tiempo de extracción total: 60 minutos; tipo de agitación: magnética. * Tiempo de extracción total: 90 minutos

K **Variable acidez:** Se cambió el hidróxido de sodio por ácido clorhídrico, aunque los porcentajes de recuperación mejoraron notablemente como se puede observar en la primera casilla con HCl 4.9 N de la tabla 23 (ver anexo IX), este se descartó debido a que las bandas de los espectros obtenidos se deformaron, cambiando el área bajo la curva y esto puede afectar la cuantificación de simeticona. Se intentó mejorar las bandas disminuyendo la concentración del ácido sin obtener buenos resultados, entonces se probó con cloruro de sodio y se aprecia que el ión cloruro estaba presentando un tipo de interferencia en la región de trabajo, debido posiblemente a que el cloruro altera el dipolo del metilo, al presentarse una interacción ión dipolo, por lo cual se descartó el uso de ácido clorhídrico para este ensayo.

Tabla 23. Ensayo 5: variable acidez.

Concentración HCl	Tiempo de extracción	% Simeticona	% RSD
4.9 N	45 min.	98.6	3.0
1 N	40 min.	58.8	1.6
2.65 N (NaCl)	40 min.	51.6	2.7

Condiciones del ensayo: Numero de extracciones: 1; solvente: tolueno; tipo de extracción: magnética.

K **Variable tipo de agitación:** en la tabla 24 están reportados los resultados donde se probó con otro tipo de agitación, observándose un aumento considerable en el porcentaje de recuperación, pero el problema ahora es que

los que tienen buenos % RSD la recuperación es alta y los que tienen buenos porcentajes de recuperación el % RSD es alto. Este debido posiblemente a que con la agitación mecánica hay mayor superficie de contacto entre el solvente y la muestra, logrando con mucho tiempo de agitación que no solo se libere el principio activo sino algún otro componente de la matriz de la muestra que absorba en la región de trabajo haciendo que se aumente el porcentaje de recuperación de la simeticona. Aunque con este ensayo no se obtuvieron los resultados esperados, fue la mayor aproximación que se tubo, por lo que se decidió tener en cuenta las mejores condiciones de este ensayo como hidróxido de sodio, NaOH 0.1 N, tipo de agitación mecánica y como solvente orgánico tolueno para ensayos posteriores.

Tabla 24. Ensayo 6: variable tipo de agitación.

Concentración NaOH	Tiempo de extracción	% Simeticona	% RSD
0.1 N	40 min.	90.6	17.6
0.1 N	60 min.	121.7	0.57
0.5 N	120 min.	118.8	2.7

Condiciones del ensayo: Solvente: tolueno; número de extracciones: 1; tipo de agitación: mecánica.

4.2.2. Ensayo definitivo: en este ensayo para la cuantificación de simeticona se utilizó una curva de calibración, (ver tabla 25), obteniendo con esto buenos resultados y dejando este procedimiento como el ideal para su respectiva estandarización.

Tabla 25. Cuantificación de simeticona en hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona. Extracción con tolueno. (Ver espectros en anexo V)

Concentración st (mg)	Peso mt (g)	ABS	% simeticona	% \bar{X}	% RSD
20		0.0388		105.2	1.4

40		0.0523		
60		0.1074		
80		0.1274		
100		0.1840		
120		0.1910		
140		0.2516		
160		0.2906		
	13.4009	0.1862	106.0	
	13.4092	0.1866	106.2	
	13.4011	0.1816	103.5	

4.2.3. Estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona (Ver espectros en anexo VI): La Estandarización de este método se desarrolló con un placebo elaborado por el laboratorio de control de calidad, y el estándar suministrado por este mismo.

K Ensayo de selectividad: el criterio de aceptación para este ensayo es que no debe haber señales en los placebos tratados que interfieran con el analito y las muestras no deben aumentar en concentración (%).

En la tabla 26 se encuentran reportados los resultados del ensayo de selectividad (ver anexo VI, espectros 26 - 32)

Tabla 26. Ensayo de selectividad por estudio indicativo de estabilidad.

Tratamiento	Porcentaje de simeticona		
	Placebo	Estándar	Muestra
Sin Tratamiento	-	94.0	93.7
Hidrólisis Térmica	-	92.3	102.2
Hidrólisis Ácida	-	92.4	98.2
Hidrólisis Básica	-	92.2	94.9
Oxidación	-	92.8	95.3
Fotólisis	-	87.5	96.6

Por la similitud en los porcentajes de simeticona obtenidos se podría decir que el método es selectivo. Los compuestos de degradación no interfieren con el principio activo a la longitud de onda de trabajo. Esto se puede decir ya que las bandas presentes tienen una absorbancia similar, sin embargo para confirmar esto tendría que cuantificarse con una técnica alternativa como RMN de silicio o con masas.

K Ensayo de precisión del método: La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar relativa (RSD o CV) y puede ser una medida ya sea del grado de repetitividad y reproducibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación que se describen a continuación:

☞ **Repetitividad:** En la tabla 7, se muestra los CV (%) permitidos según Horwitz, [Raymond et al. 1992], que para este caso en el que el porcentaje de analito en la muestra es de 100% le corresponde un coeficiente de variación (CV) de 2%.

De acuerdo con esto el porcentaje obtenido de 99.1 % y un CV o % RSD de 1.17 % (ver tabla 27, anexo VI, espectros 35 y 36), se puede considerar como bueno, por tanto el método es repetitivo.

☞ **Reproducibilidad:** en la tabla 27 (ver anexo VI, espectros 33 y 34) se observa un porcentaje de simeticona de 102.2 % y un % RSD de 0.71 lo que indica que el método es reproducible.

Tabla 27. Repetitividad y Reproducibilidad del método.

h	E n s a y o s (n)						Estadísticos			
	1	2	3	4	5	6	\bar{X}	s	$s \sqrt{2}$	% RSD
Repetitividad	100.0	99.1	100.8	98.6	98.7	97.5	99.1	1.15	1.63	1.17
Reproducibilidad	103.0	102.8	101.2	101.6	102.0	102.4	102.2	0.73		0.71

Intervalo de confianza de la media: $\bar{X} \pm t \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right)$, con $t_{\text{tab}} = 2.57$

Limite superior = 100.3

Limite inferior = 97.9

Intervalo de confianza individual: $X \pm ts$

Limite superior = 103.8

Limite inferior = 94.5

Al realizar un análisis de varianza se obtiene que:

h (numero de analistas): 2

n (numero de ensayos): 6

Grado de confianza: 95.0%

Hipótesis: Ho: No existe diferencia significativa entre los resultados de los dos analistas.

Si $F_{\text{calc}} < F_{\text{crítico}}$, se aprueba Ho.

Resumen:

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Repetitividad	6	594.7	99.1	1.33
Reproducibilidad	6	612.9	102.2	0.527

Análisis de varianza:

<i>Variaciones</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>F-Crít</i>
Entre grupos	4.601	1	4.601	4.94	4.96

Dentro de los grupos	9.30	10	0.930
Total	13.90	11	

El análisis de varianza muestra que el valor de F calculado = 4.94 es menor que el valor tabulado F-Cirt = 4.96, lo que indica con un 95 % de confianza, que no existen diferencias significativas entre los resultados de los dos analistas. Es decir, el método analítico es preciso.

☞ **Ensayo de exactitud:** en la tabla 28 se presentan las respuestas de la curva de calibración del estándar (ver anexo VI, espectro 37) con las que se va a comparar las muestras.

Las concentraciones de los estándares se encuentran en el rango de concentración de 40 % a 180 %.

Tabla 28. Ensayo de exactitud respuesta de curva de calibración.

Curva estándar	40 %	60 %	100 %	140 %	180 %
Abs	0.0340	0.1213	0.1966	0.2548	0.3302

En la tabla 29 se encuentran registradas la absorbancia promedio de las muestras sintéticas con 3 concentraciones diferentes (ver anexo VI, espectro 38), la concentración final hallada con respecto al estándar del 100 % de la tabla 28 y su respectivo porcentaje de recuperación.

Tabla 29. Ensayo de exactitud respuesta de muestra.

Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado
80	0.1633	83.0	103.8
		s	2.28
		%RSD	2.20
Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado

100	0.1969	100.1	100.1
		s	1.18
		%RSD	1.18
Concentración inicial %	Abs	Concentración final %	% Recuperado
120	0,2373	120.0	100.0
		s	0.64
		%RSD	0.64

Comparando los 3 niveles de concentración se puede ver que:

$n = 9$; Promedio = 101.3; Desviación estándar = 2.3; %RSD = 2.3;
 Confianza = 95%; grados de libertad = 8; $t_{\text{tab}} = 2.31$

$$t_{\text{exp}} = \frac{|100 - \%R| \sqrt{n}}{\%RSD}; \quad t_{\text{exp}} = 1.71$$

Y como: $t_{\text{exp}} = 1.71$ es menor que $t_{\text{tab}} = 2.31$ se puede considerar que no existe diferencia significativa entre el porcentaje recuperado promedio y el 100,0%, la exactitud es apropiada.

Con el test de Cochran se puede confirmar la exactitud del método ya que:

$$G_{\text{exp}} = \frac{S_{\text{máxima}}^2}{\sum S_i^2} = \frac{5.21}{7.01}; \quad G_{\text{exp}} = 0,744$$

El valor $G_{\text{exp}} = 0.744$ es menor que el valor $G_{\text{tab}} = 0.871$, por lo tanto el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

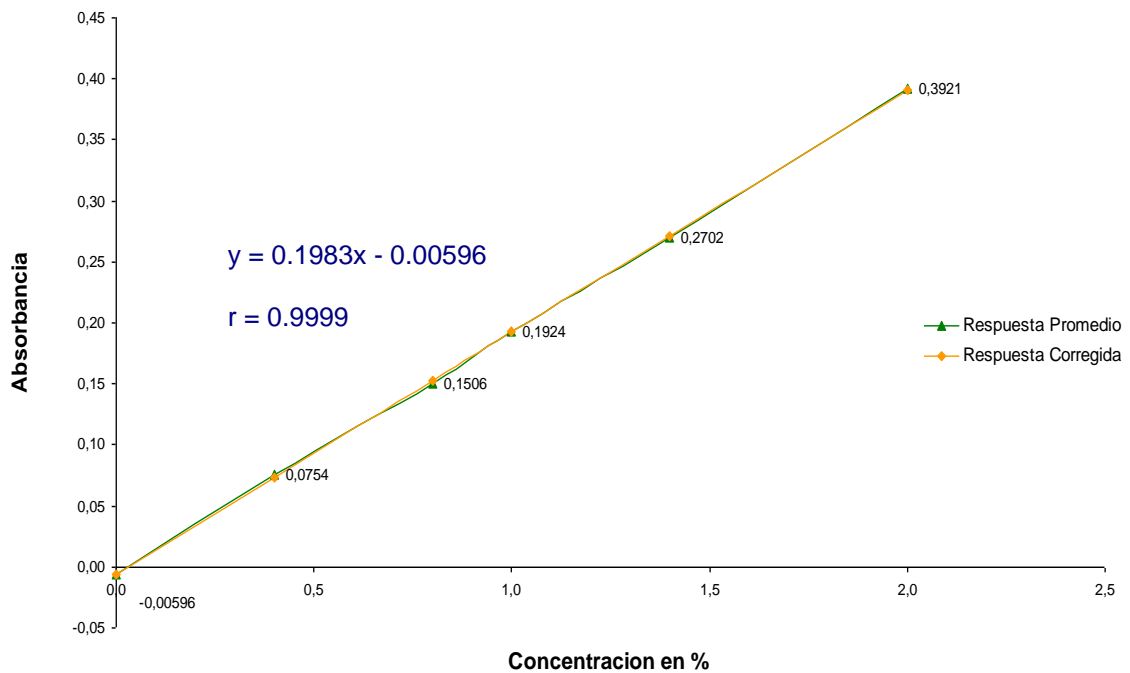
K Ensayo de linealidad: se prepararon 5 estándares con las concentraciones que se indican en la tabla 30, con las señales respectivas (ver anexo VI, espectro 39):

Tabla 30. Ensayo de linealidad.

Concentración %	Absorbancia
40	0.0754
80	0.1506
100	0.1924
140	0.2702
200	0.3921

Se graficó concentración del estándar versus la respuesta en absorbancia del equipo como lo indica a continuación la figura 11:

Figura 11. Concentración vs respuesta ensayo de linealidad, de simeticona en suspensión.



Se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0.9999 indicando esto una linealidad excelente, la ecuación de la recta obtenida con este ensayo es:

$$y = 0.1983x - 0.00596$$

Donde la pendiente $b = 0.1983$, el intercepto $a = -0.00596$ que también se puede ver en la figura 11.

Se realizó el test de verificación de la pendiente con el cual se halla el intervalo de confianza de la pendiente así:

$$s_{xy}^2 = \frac{\sum y_i^2 - a \sum y_i - b \sum x_i y_i}{n - 2}; \quad S_{xy}^2 = 1.62E-4$$

$$S_b = \frac{\sqrt{S_{xy}^2}}{\sqrt{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}}; \quad S_b = 6.028E-3$$

Teniendo en cuenta:

Ho: La pendiente es estadísticamente diferente de cero y

Nivel de confianza = 95 %

Grados de libertad = 13

$$t_{\text{exp}} = \frac{b}{S_b} = \frac{0.1983}{6.02870E-3} \quad t_{\text{exp}} = 32.9$$

En el análisis estadístico de la pendiente $t_{\text{exp}} = 32.9$ mayor que $t_{\text{tab}} = 2.16$, indica que la pendiente es estadísticamente diferente de cero con un 95.0% de confianza.

Obteniéndose un intervalo de confianza de la pendiente de:

$$b \pm t_{\text{tab}} S_b; \quad 0.1853 \leq b \leq 0.2113$$

Se realizó el test de proporcionalidad del intercepto, hallándose un intervalo de confianza del intercepto de:

$$a = a \pm t_{\text{tab}} S_a$$

$$; - 0.02218 \leq a \leq 0.01026$$

Con el análisis de varianza de un factor se obtiene:

Variaciones	SC	gl	MC	F	F-Crít
Linealidad	0.1755	1	0,1755	1082.1	4,67
Residuales	0.00211	13	0.00016		
Total	1.78E-01	14			

El análisis de varianza de un factor muestra que el valor F-calculado = 1082.1 es mayor que F-crítico = 4.67, es decir, que la concentración y la respuesta del instrumento, siguen una relación lineal.

κ **Ensayo de robustez:** En la tabla 31 se puede observar las variables empleadas para el análisis de la robustez del método según Youden-Steiner, marcadas con mayúsculas las variables propuestas de acuerdo al comportamiento histórico de la técnica empleada y con minúsculas las modificaciones de estas variables:

Tabla 31. Ensayo de robustez, variables de alto y bajo nivel.

Variable	Tipo de variable
A	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona
a	Tomar un volumen equivalente a 50 mg de simeticona
B	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar
b	Adicionar 50 mL de NaOH 0.01 M y agitar
C	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 45 min.
c	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 60 min.
D	Centrifugar a 6500 rpm por 15 min.
d	Centrifugar a 5000 rpm por 20 min.
E	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄
e	Tomar 15 mL de la capa orgánica y no add. Na ₂ SO ₄

F	Centrifugar a 2800 rpm por 5 min.
f	Centrifugar a 2800 rpm por 10 min.
G	Medir en IR con jeringas nuevas
g	Medir en IR con jeringas usadas

En el anexo VII se encuentran descritos los 8 ensayos que resultaron del modelo de Youden-Steiner, para la preparación de las muestras del ensayo de robustez.

En la tabla 32 se encuentran consignados los resultados de los ensayos propuestos en el anexo VII del modelo sugerido por Youden-Steiner. Los porcentajes se hallaron con una curva de calibración, cuyos datos se pueden ver en el anexo VI, espectros 40 y 41.

Tabla 32. Resultados de ensayo de robustez.

Parámetro	% Simeticona
s	99.5
t	98.1
u	98.4
v	95.4
w	87.0
x	93.4
y	86.1
z	88.2

En la tabla 33 se reportan los cálculos de las diferencias de respuesta para cada parámetro de la tabla 32. De acuerdo con los resultados obtenidos se pudo observar que al comparar las diferencias halladas (V_A, V_B, \dots) en valor absoluto con el valor calculado, $s\sqrt{2}$, siendo s la desviación estándar hallada en el estudio de repetitividad, se puede decir que el procedimiento se debe seguir al pie de la letra porque al disminuir la concentración de la base, cambiar el

tiempo de extracción, variar las condiciones de centrifugación para la extracción, omitir la adición de sulfato de sodio anhidro, afectan el resultado de las lecturas. Esto se puede observar en la tabla 33, por lo tanto se considera que el método no es tan robusto y no soporta todas las variaciones propuestas en la tabla 31.

Tabla 33. Cálculos de la diferencia de respuesta para cada parámetro.

Variable	Diferencia	Diferencia
A-a	VA	9.18
B-b	VB	2.48
C-c	VC	1.02
D-d	VD	0.58
E-e	VE	3.22
F-f	VF	0.40
G-g	VG	0.67

5. CONCLUSIONES

- ❖ Se optimizó las técnicas analíticas para la cuantificación de simeticona en dos medicamentos: “pancreatina simeticona tabc” e “hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona Mk”. Este constituye un gran aporte para la empresa, porque se alcanzaron los parámetros de calidad exigidos por el INVIMA para productos comerciales de esta clase.
- ❖ El espectro de infrarrojo (ir) de la simeticona fue constatado con el reportado en la literatura, permitiendo la cuantificación de esta sustancia en los medicamentos “pancreatina simeticona tabc” e “hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona Mk”.
- ❖ En la cuantificación de simeticona en suspensión no se debe emplear ácido clorhídrico en el ensayo, ya que este genera interferencia en la región de trabajo.
- ❖ Se estandarizó los métodos de cuantificación para el principio activo, simeticona, en los medicamentos “Pancreatina Simeticona tabc” e “Hidróxido de Aluminio, Hidróxido de Magnesio, Simeticona Mk”, por espectrofotometría de infrarrojo.
- ❖ La estandarización de los métodos desarrollados se llevó a cabo con éxito ya que los resultados de los ensayos hechos cumplieron con las especificaciones exigidas por el laboratorio de control de calidad de Tecnoquímicas S. A.

- ❖ En las dos técnicas se obtuvieron coeficientes de correlación mayores de 0.995, encontrándose una relación lineal entre la respuesta del instrumento (absorbancia) y la concentración. Los métodos son lineales en un rango de concentraciones de 40 % a 200 % (w/v).
- ❖ Se pudo observar que los métodos son exactos, confirmándose que el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados.
- ❖ Las técnicas son precisas ya que el % RSD obtenido en los dos métodos es menor que 2 %. El análisis de varianza de un solo factor (F), con F calculado inferior al tabulado, indica para la simeticona en suspensión y la simeticona en tabletas con 95 % de confianza, que no existen diferencias significativas entre los resultados de repetitividad y de reproducibilidad. Los métodos analíticos son precisos.
- ❖ La técnica analítica para cuantificar simeticona en tabletas cubiertas es un método muy robusto ya que soporta todas las variaciones propuestas. Lo que no ocurre con la cuantificación de simeticona en suspensión ya que este método es más delicado y se ve afectado por la variación en la concertación del hidróxido de sodio, el tiempo de extracción, la centrifugación de la muestra, y la adición de sulfato de sodio anhidro.

6. RECOMENDACIONES

La simeticona en tabletas se debe macerar suavemente, y es indispensable el tamizar el macerado para eliminar la cubierta de las tabletas y obtener mayor uniformidad en la muestra, mejorando así la reproducibilidad y el porcentaje de recuperación.

Para la cuantificación de simeticona en suspensión se debe agitar bien el frasco antes de tomar la muestra para homogeneizar, ya que este se puede precipitar y variar así la concentración de simeticona en el frasco.

La extracción de simeticona en el medicamento Hidróxido de Aluminio, Hidróxido de Magnesio, Simeticona Mk se debe llevar a cabo, tal como lo indica el protocolo estandarizado, ya que este no es tan robusto.

BIBLIOGRAFÍA

American Society of Health-System Pharmacists. Medline plus. Simeticona. [01/04/2000]. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/medmaster/a682683-es.html>

BANERJEE B, PARKER J, WAITS W, DAVIS B J. Effectiveness of preprocedure simethicone drink in improving visibility during esophagogastroduodenoscopy: a double-blind, randomized study. *Clin Gastroenterol* (1992) Oct 15:3 264-5p.

BERTONI G, GUMINA C, CONIGLIARO R, Ricci E, STAFFETTI J, MORTILLA MG, PACCHIONE D Randomized placebo-controlled trial of oral liquid simethicone prior to upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy* (1992) May 24:4 268-70p.

Centro de investigación y desarrollo de medicamentos. Revista cubana. Farm 2002. 36. (I) disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_1_02/faro4102.html

Centro de investigación y desarrollo de medicamentos. Revista cubana. Farm 1996. 30. (I) disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol30_1_96/faro8196.html

Enciclopedia de medicamentos. Simeticona. Disponible en: http://www.salud.com/medicamentos_I_S.html

Enciclopedia de medicamentos. Simeticona. Disponible en: www.salud.com/s/medicamentos_interna_die_1838_id_cat_108_1_a.html

HARRIS D. C. Análisis químico cuantitativo. Méjico: Grupo editorial Iberoamérica. 1992. 35-67p

LEVINE Ira. Fisicoquímica: Espectroscopia y Fotoquímica. Cuarta Edición. Madrid España: McGraw-Hill, 1996. 797-799p.

MILLER J. C., Y MILLER J. N. Estadística para química analítica. Segunda edición. Estados Unidos: Addison-Wesley Iberoamericana, 1993. 20-119p.

Monografía. Validación de métodos analíticos. Sección catalana de la AEFI: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Comisión de normas de buena fabricación y control de calidad. Marzo de 2001.

PARIKH VA, KHANDUJA KS. Use of simethicone during colonoscopy. *Dis Colon Rectum* (1995) Sep 38:9 1007-8p.

QUATROCCHI O. A., ABELAIRA S. I., LABU R. F. Introducción a la HPLC aplicación y practica. Buenos Aires: impreso en la Argentina artes graficas Farro S. A. California (1992). p 301 – 329p.

RAYMOND E., et al. Probabilidad y estadística. Cuarta edición. México: McGraw-Hill, interamericana de México, 1992. 740-755p

SUDDUTH RH, DEANGELIS S, SHERMAN KE, McNALLY PR. The effectiveness of simethicone in improving visibility during colonoscopy when given with a sodium phosphate solution: a double-blind randomized study. *Gastrointest Endosc* (1995) Nov 42:5 413-5p.

SKOOG, HOLLER, NIEMAN. Principios de Análisis Instrumental: Componentes de los instrumentos para espectroscopia óptica. Quinta Edición. Madrid España: McGraw-Hill, 2001. 176-201, 420-432p.

SHERING PLOUGH. Ditopax-F. Diccionario de especialidades farmacéuticas. Edición 49 México 2003. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/bmnd/plm/mex/productos/10269.htm>

SHERING PLOUGH. Onotón. Diccionario de especialidades farmacéuticas. Edición 49 México 2003. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/bmnd/plm/mex/productos/8854.htm>

SHERING PLOUGH. Espaven enzimático. Diccionario de especialidades farmacéuticas. Edición 49 México 2003. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/bmnd/plm/mex/productos/9089.htm>

The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, Whitehouse, 1996.

The United States Pharmacopeia, United States Pharmacopeial Convention 26th revision, 2003.

The British Pharmacopeia, edition 5, 2005.

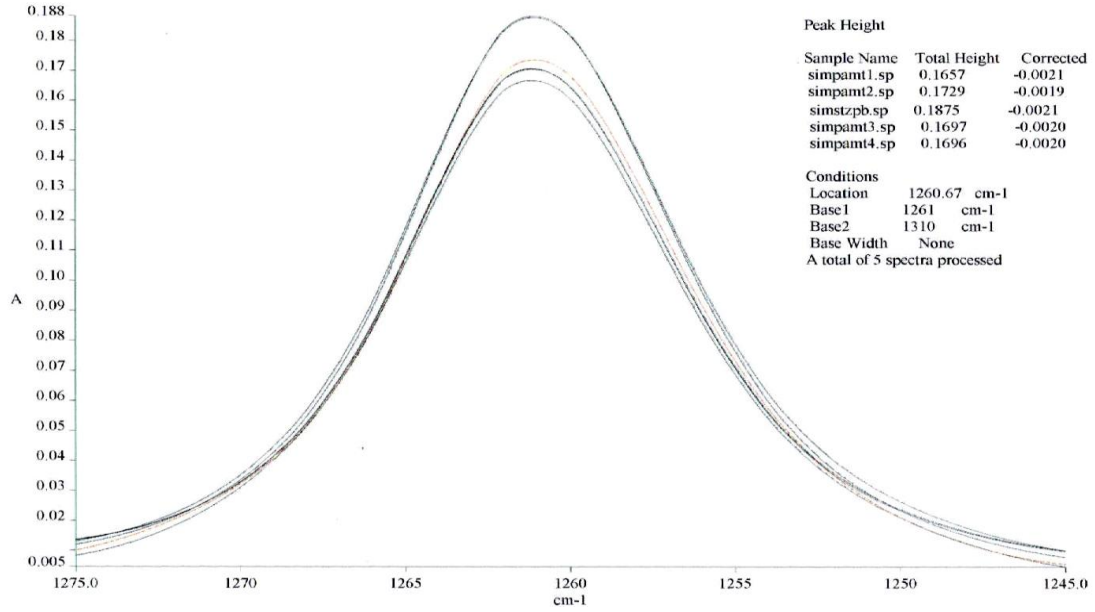
VARAS MJ, LOPEZ A. Improved image quality during abdominal ultrasonography by clebopride + simethicone. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* (1991) Jan-Feb 13:1 69-72p.

ANEXOS

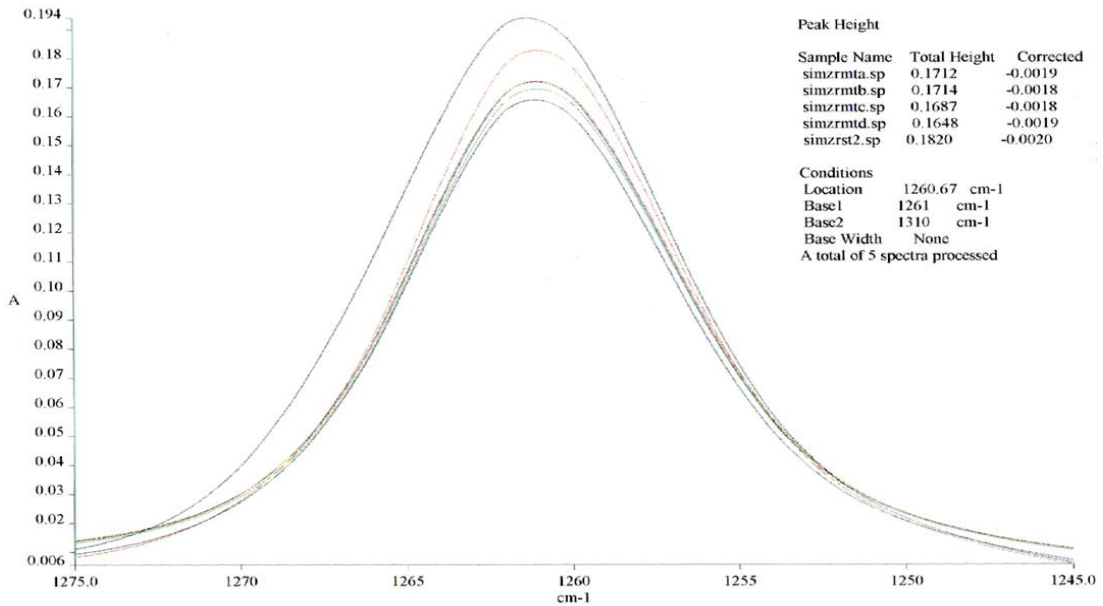
ANEXO I

Espectros de tabla 9. Cuantificación de simeticona en el medicamento:
"Pancreatina Simeticona tabc"; muestras sin tratamiento.

Espectro 1. Bandas de absorción de muestra de simeticona, con % RSD de 1.7



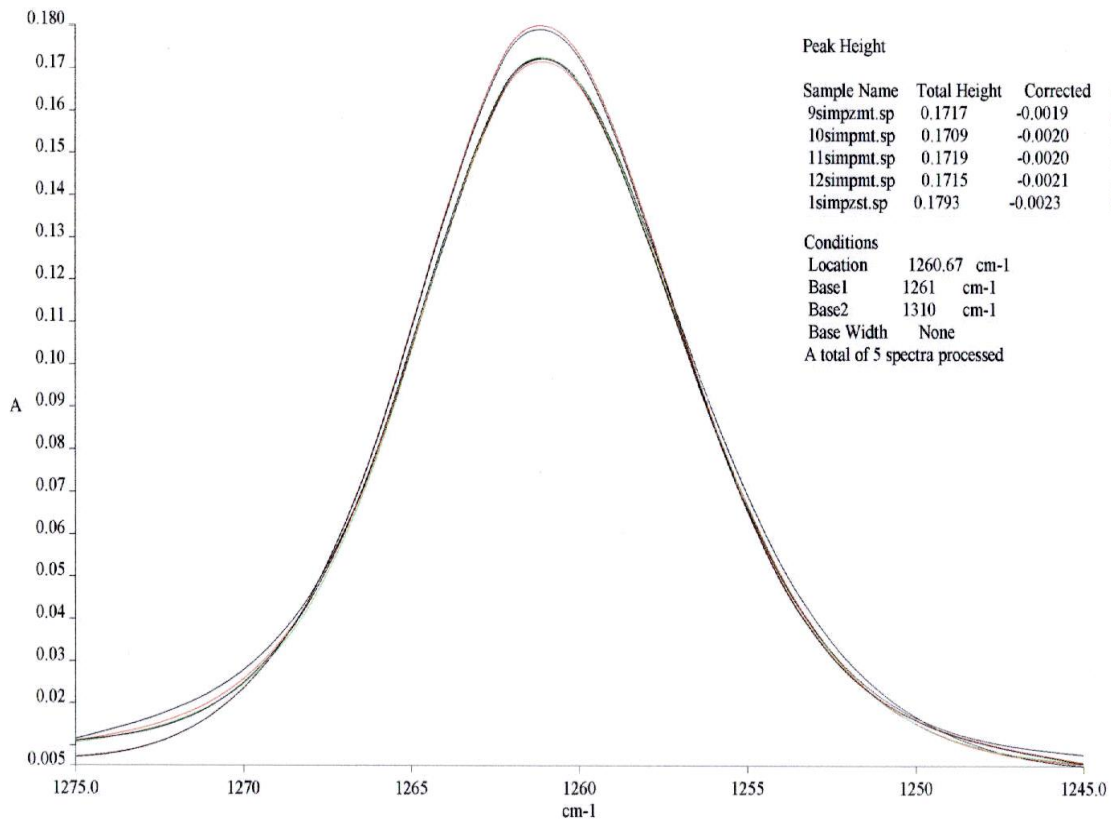
Espectro 2. Bandas de absorción de muestra de simeticona, de % RSD de 0.89



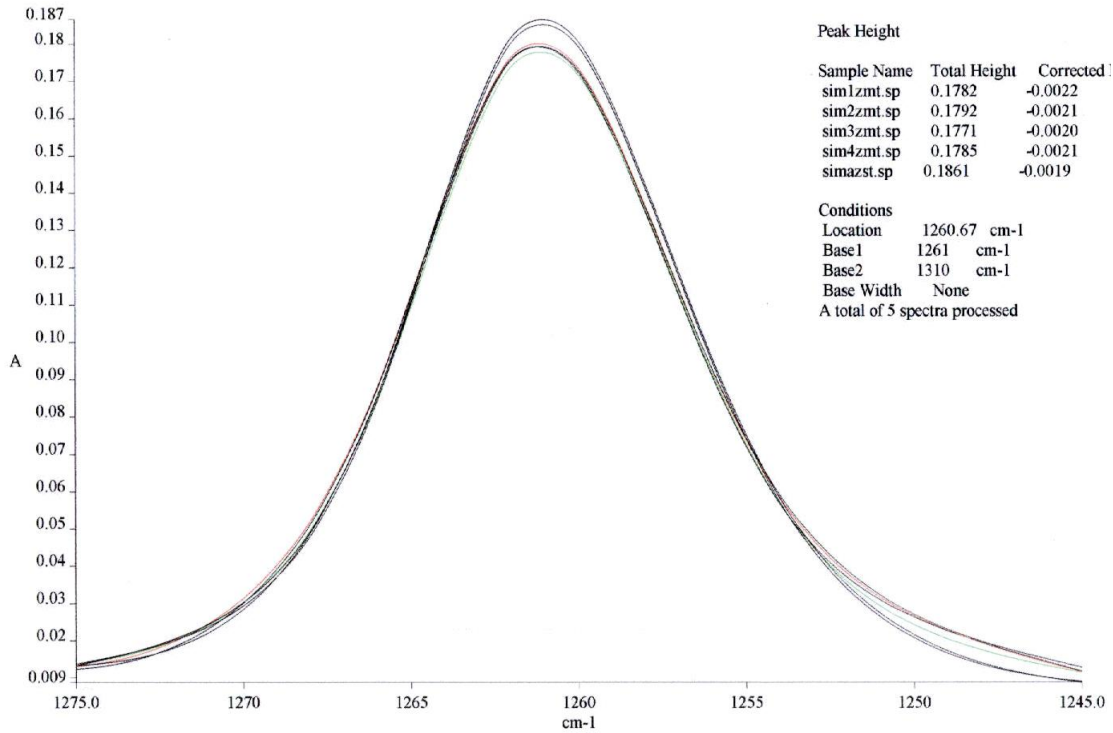
ANEXO II

Espectros de tabla 10. Cuantificación de simeticona en el medicamento: "Pancreatina Simeticona tabc"; muestras de condición: 25 °C, 37°C, 40°C, mes 1, 2, 3.

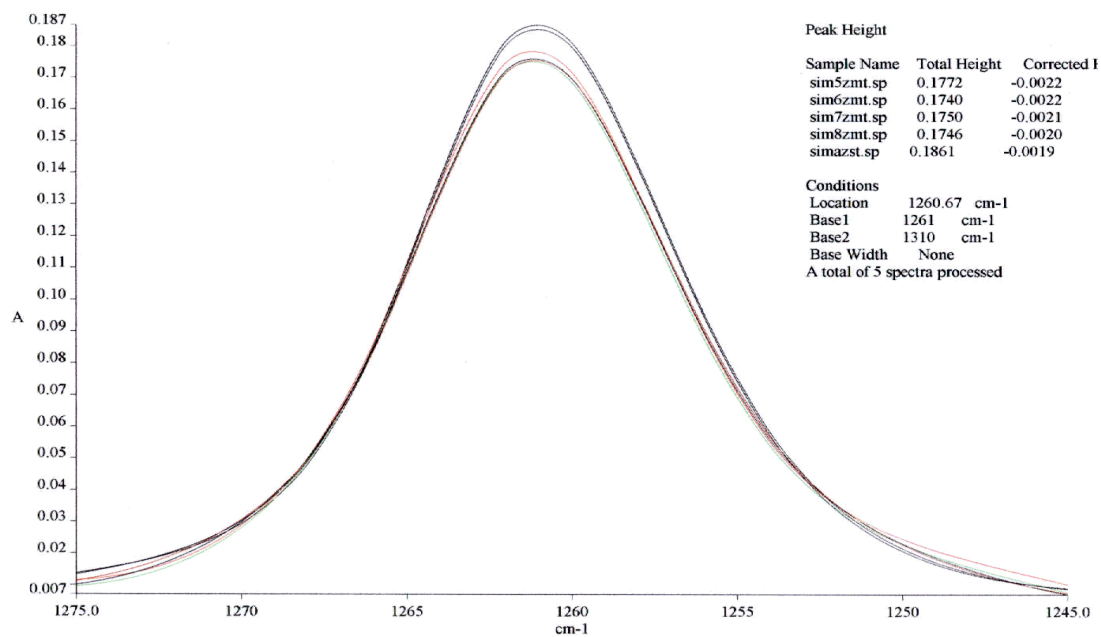
Espectro 3. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 25 °C durante 1mes.



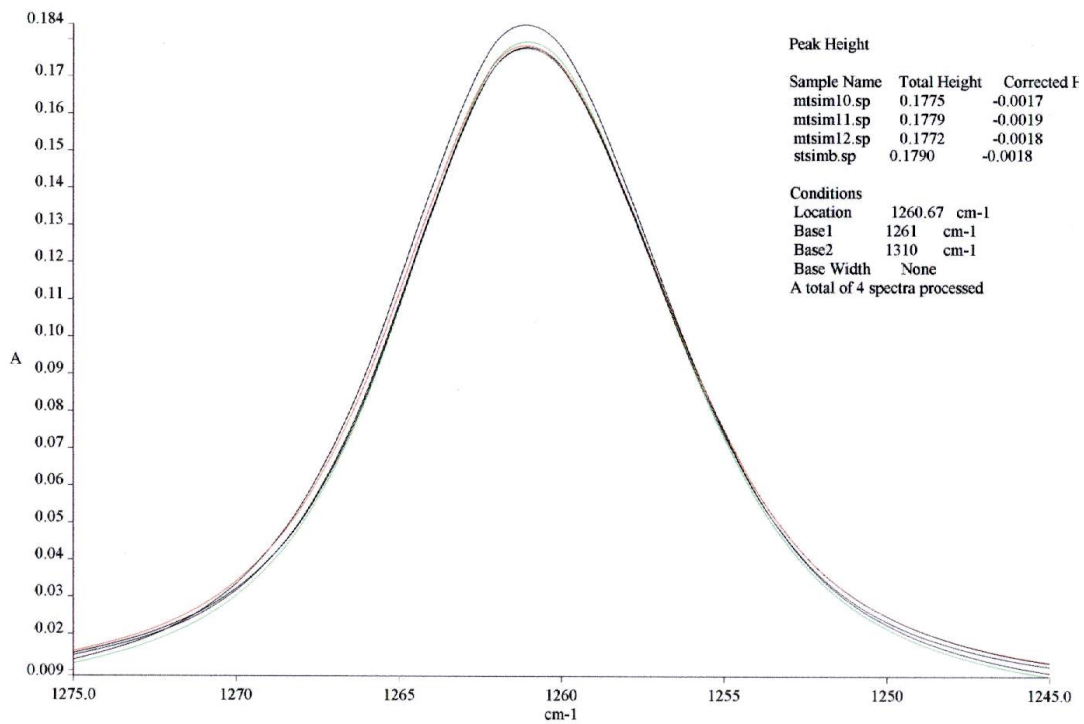
Espectro 4. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 37 °C, mes 1.



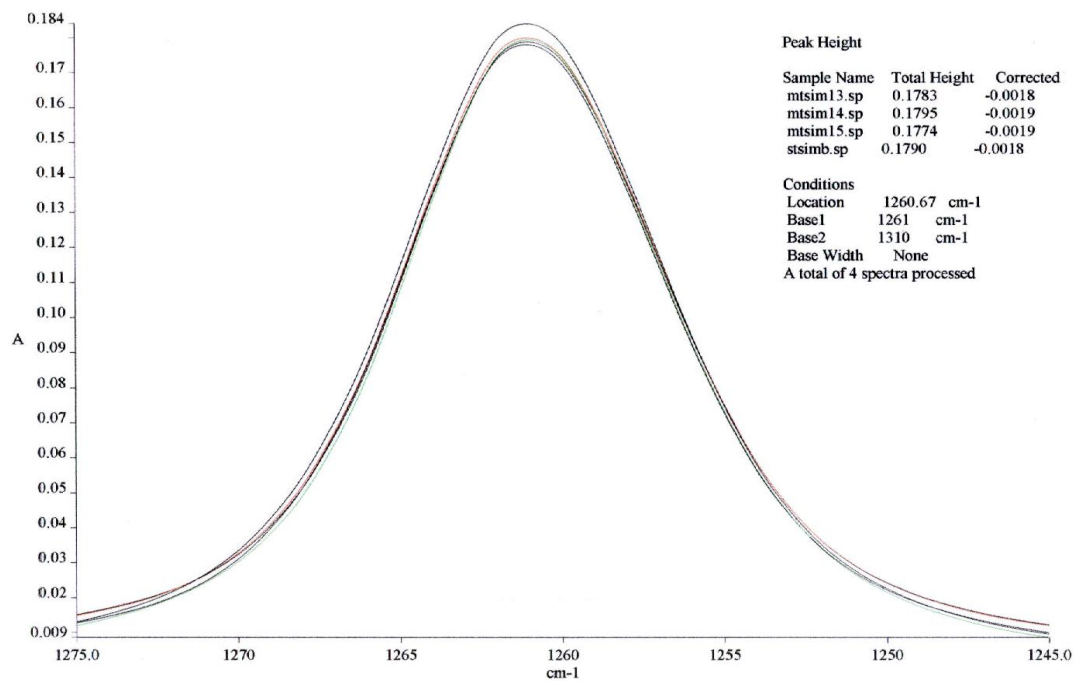
Espectro 5. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 40 °C mes 1.



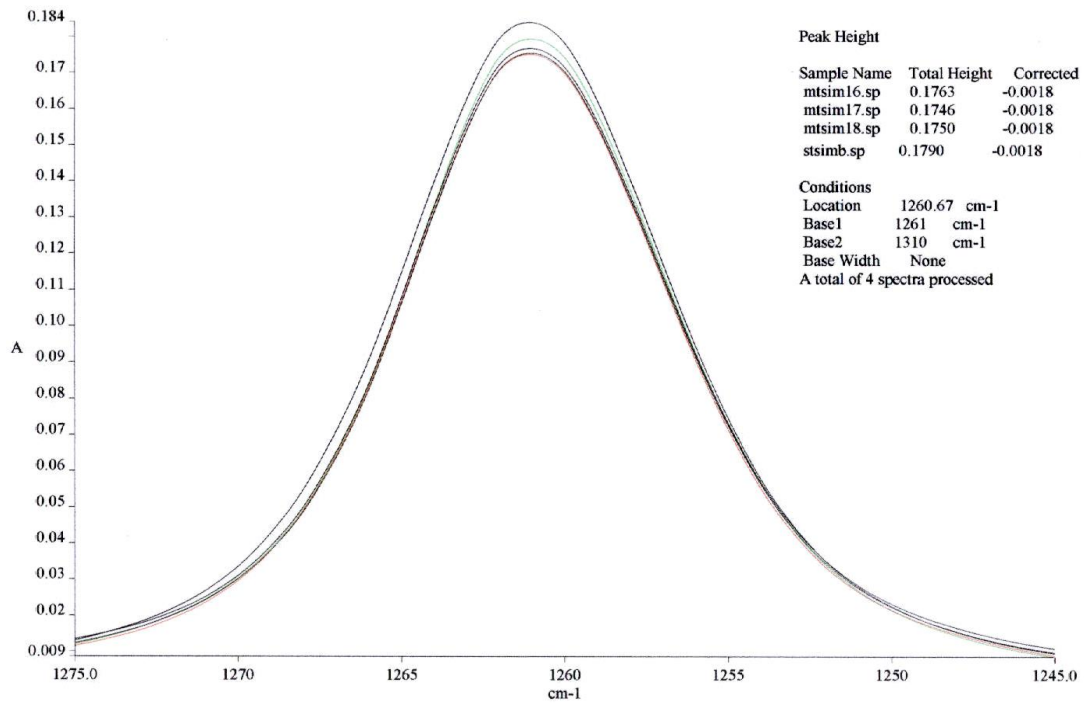
Espectro 6. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 25 °C del mes 2.



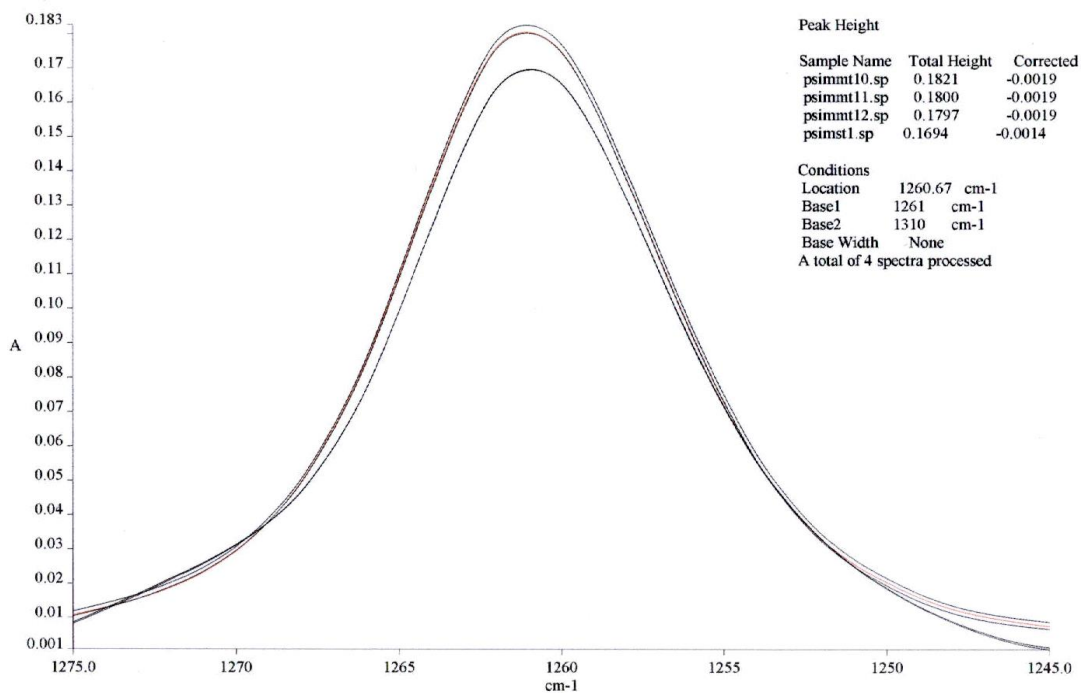
Espectro 7. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 37 °C, mes 2.



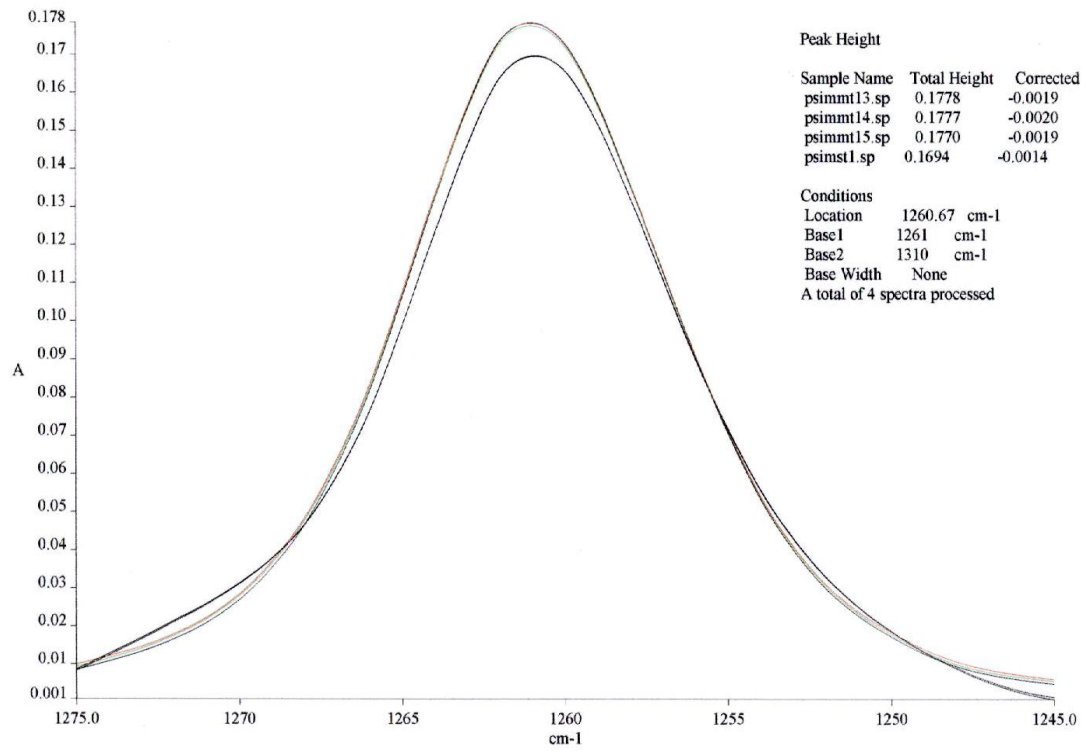
Espectro 8. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 40 °C, mes 2.



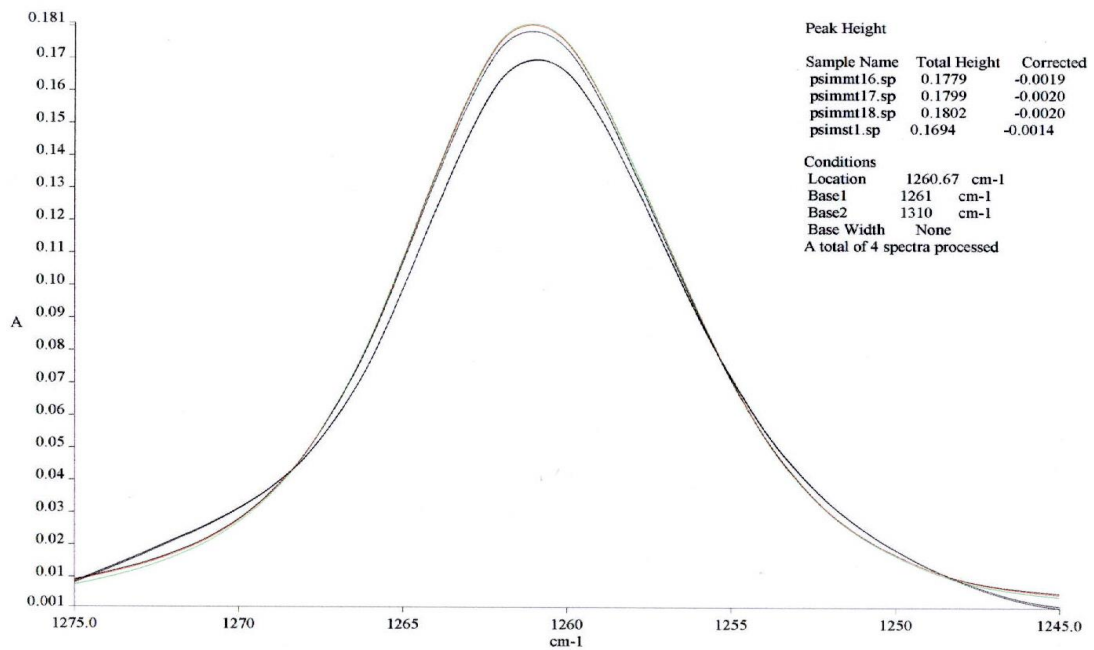
Espectro 9. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 25 °C del mes 3.



Espectro 10. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 37 °C mes 3.



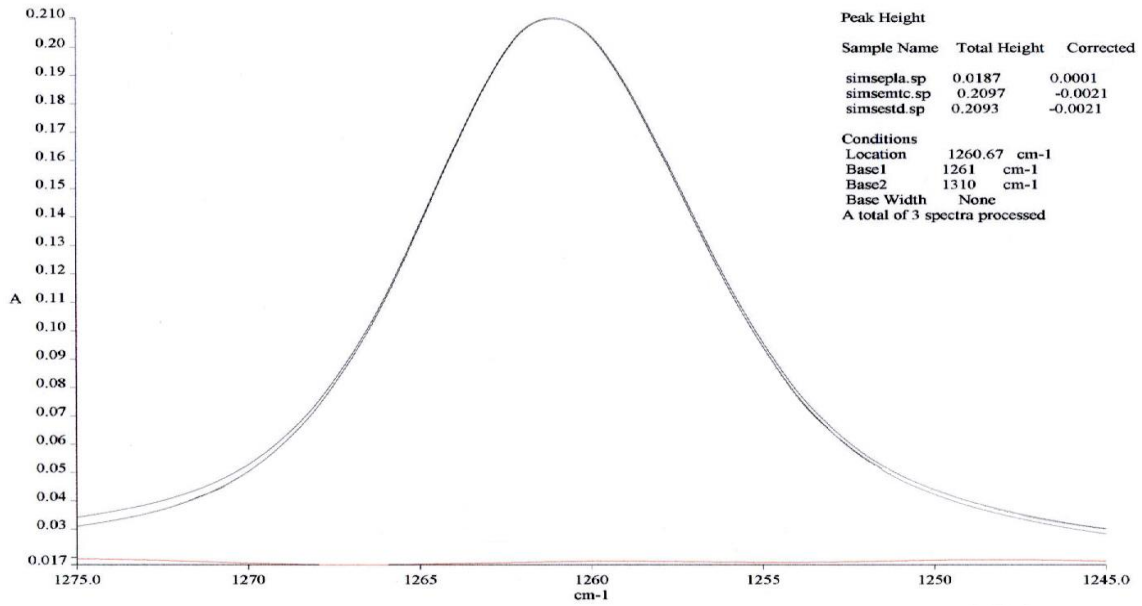
Espectro 11. Bandas de absorción de muestra de simeticona. Condición de almacenamiento: 40 °C mes 3.



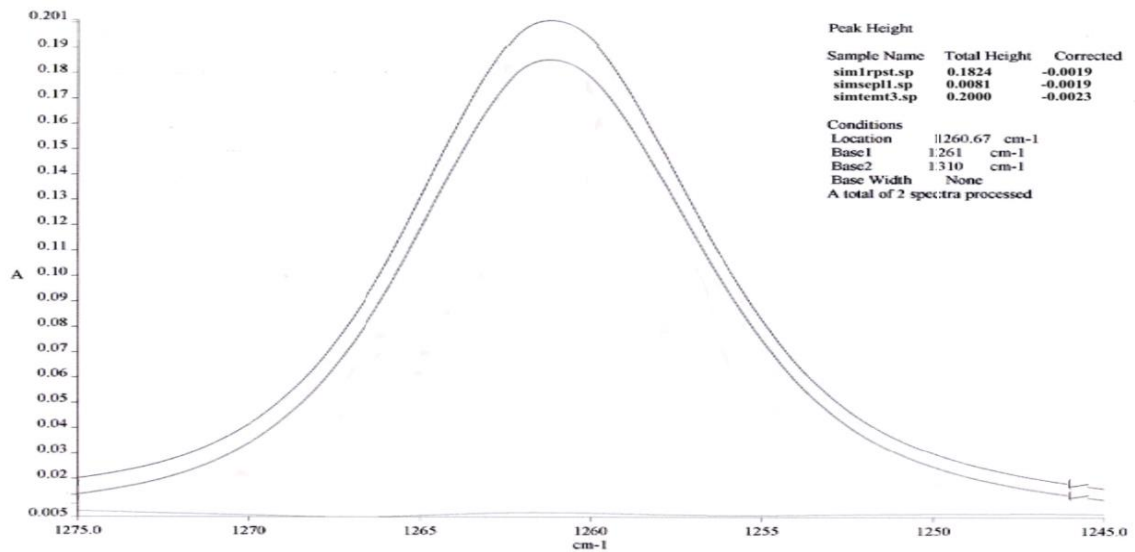
ANEXO III

Espectros de estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: "pancreatina simeticona tableta cubierta".

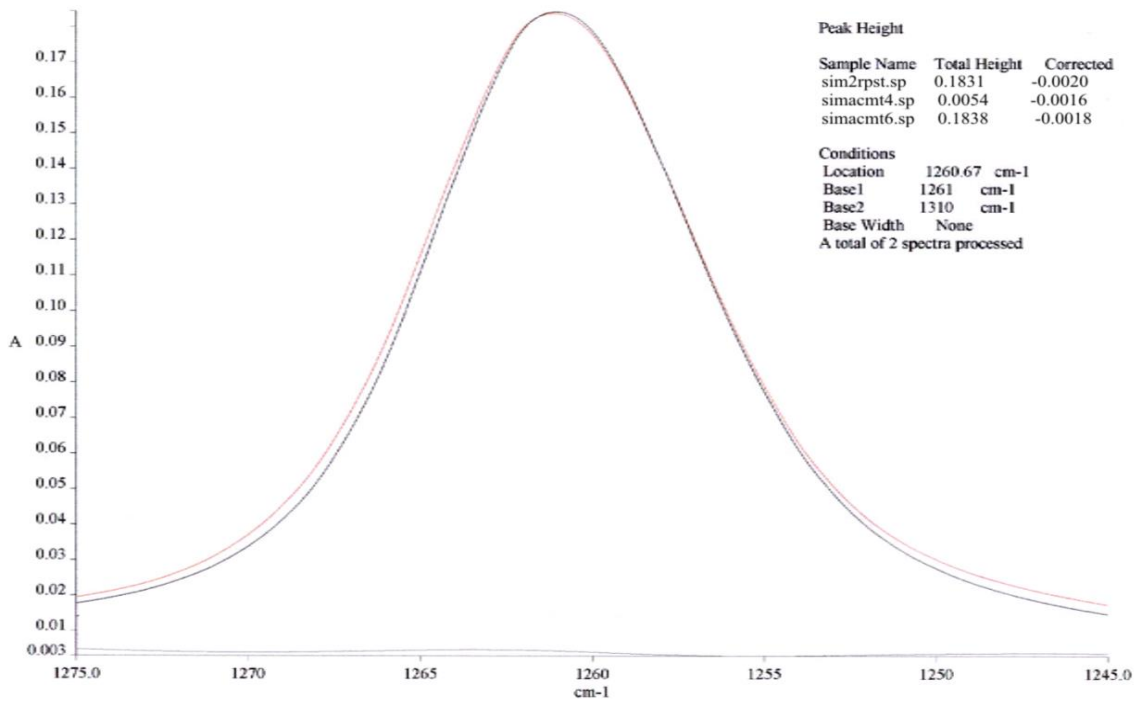
Espectro12. Bandas de absorción de tabla 11, muestra sin tratamiento. Ensayo de selectividad.



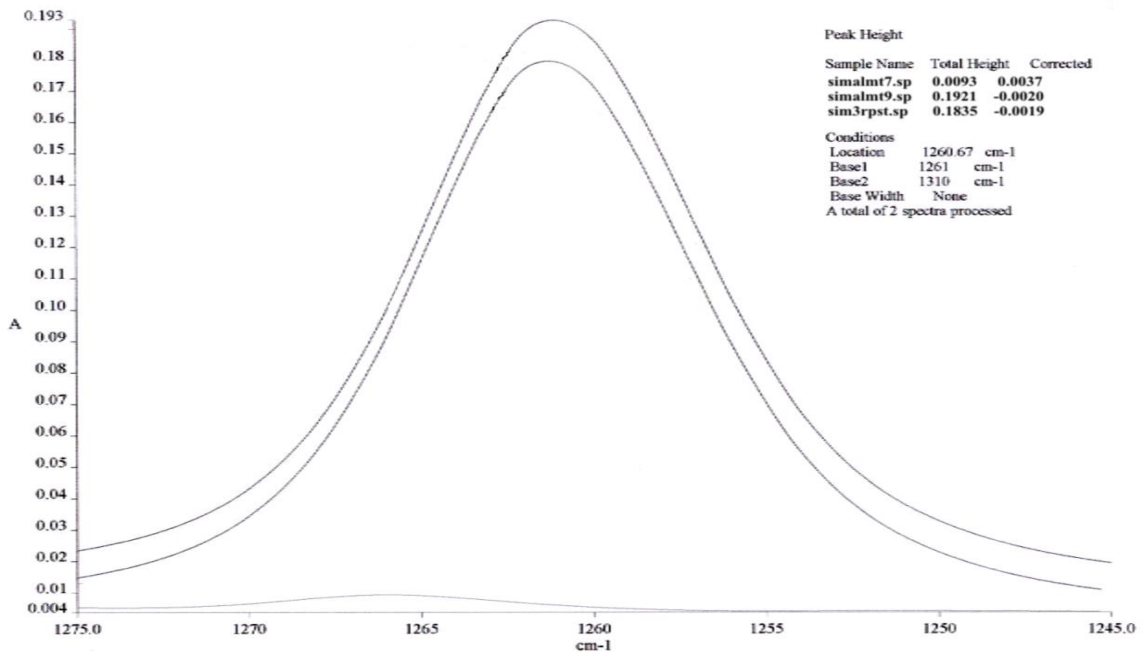
Espectro13. Bandas de absorción de tabla 11, muestra hidrólisis térmica. Ensayo de selectividad.



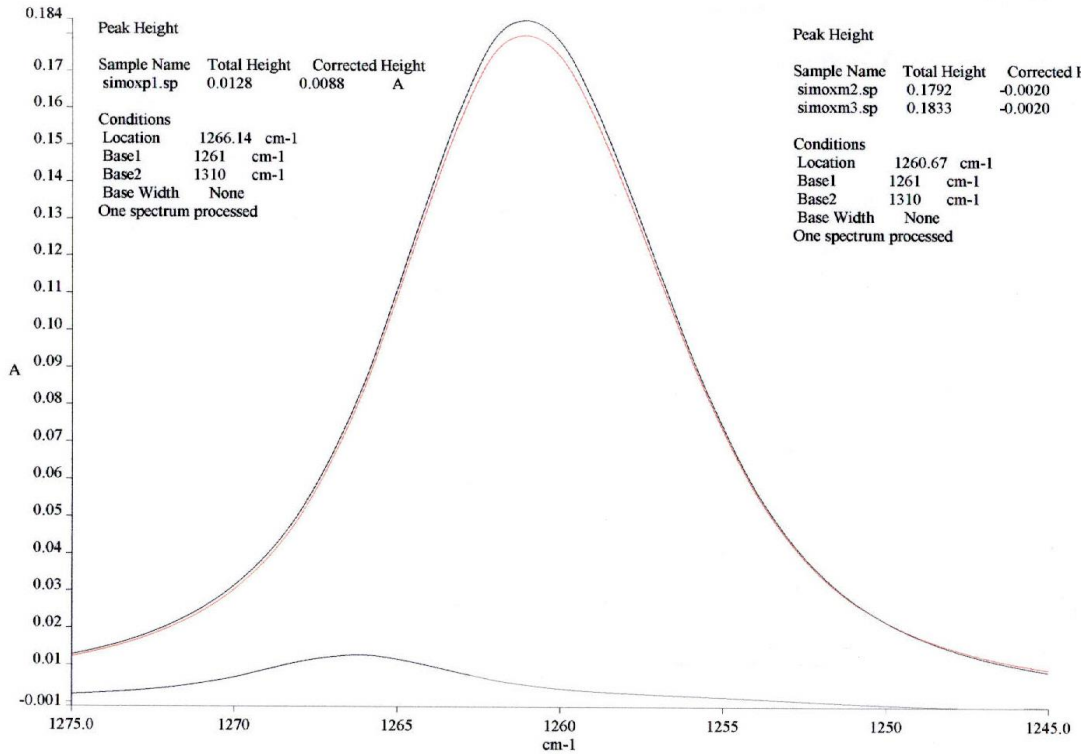
Espectro 14. Bandas de absorción de tabla 11, muestra hidrólisis ácida. Ensayo de selectividad.



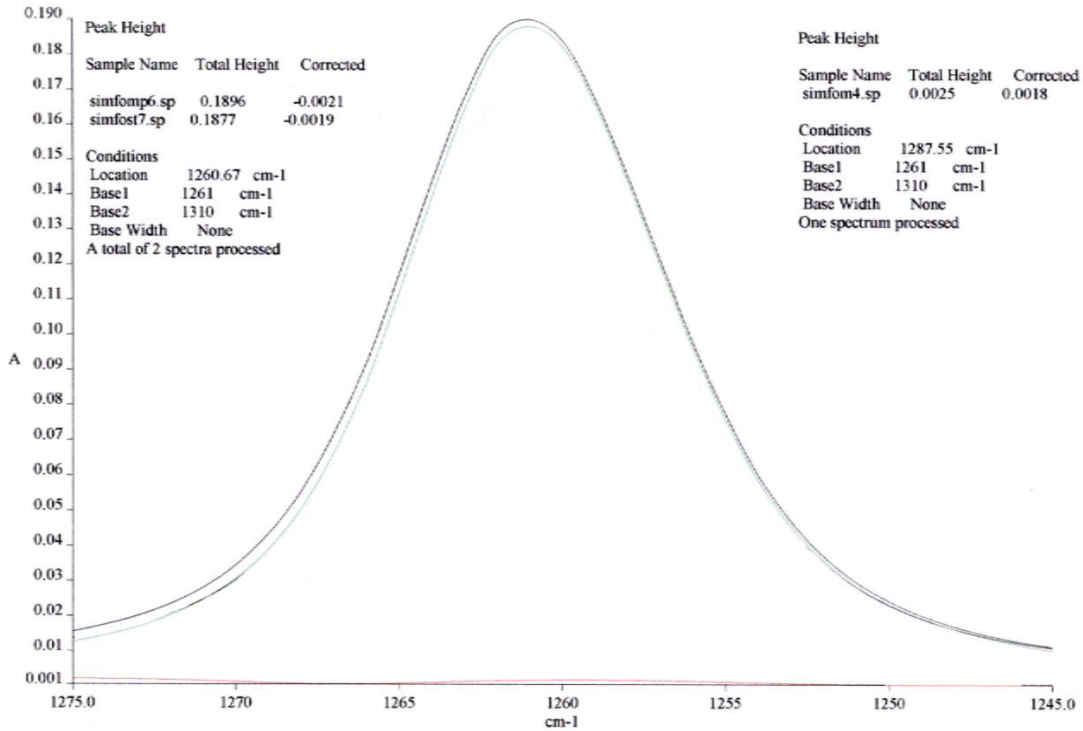
Espectro 15. Bandas de absorción de tabla 11, muestra hidrólisis básica. Ensayo de selectividad.



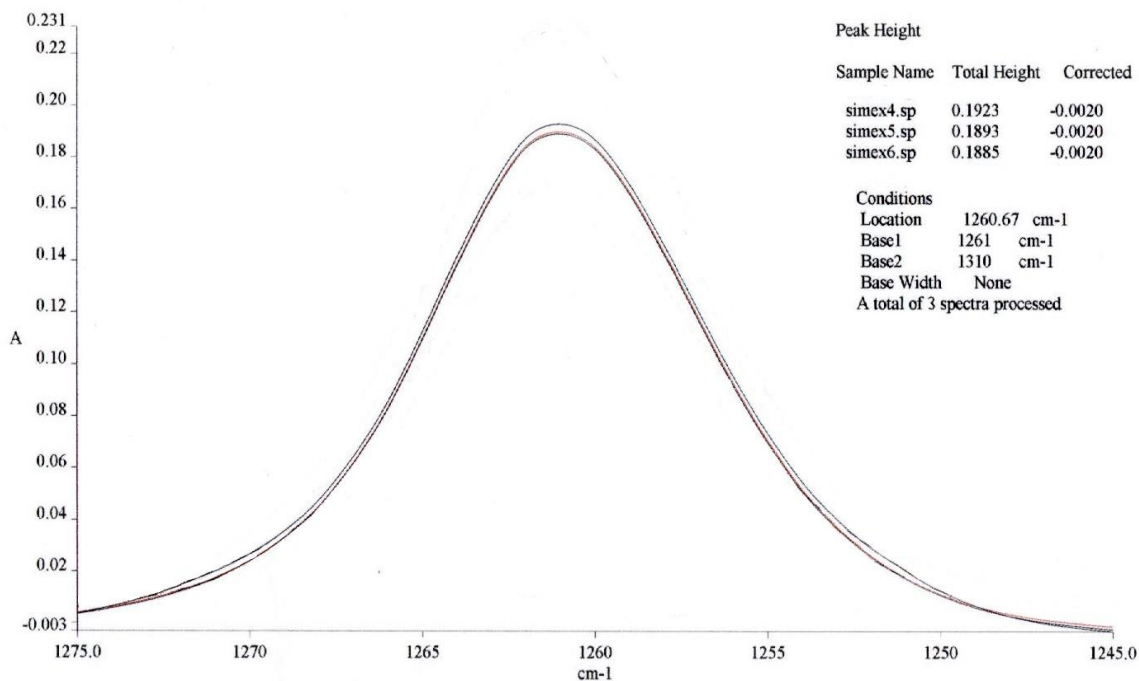
Espectro 16. Bandas de absorción de tabla 11, muestra oxidación. Ensayo de selectividad.



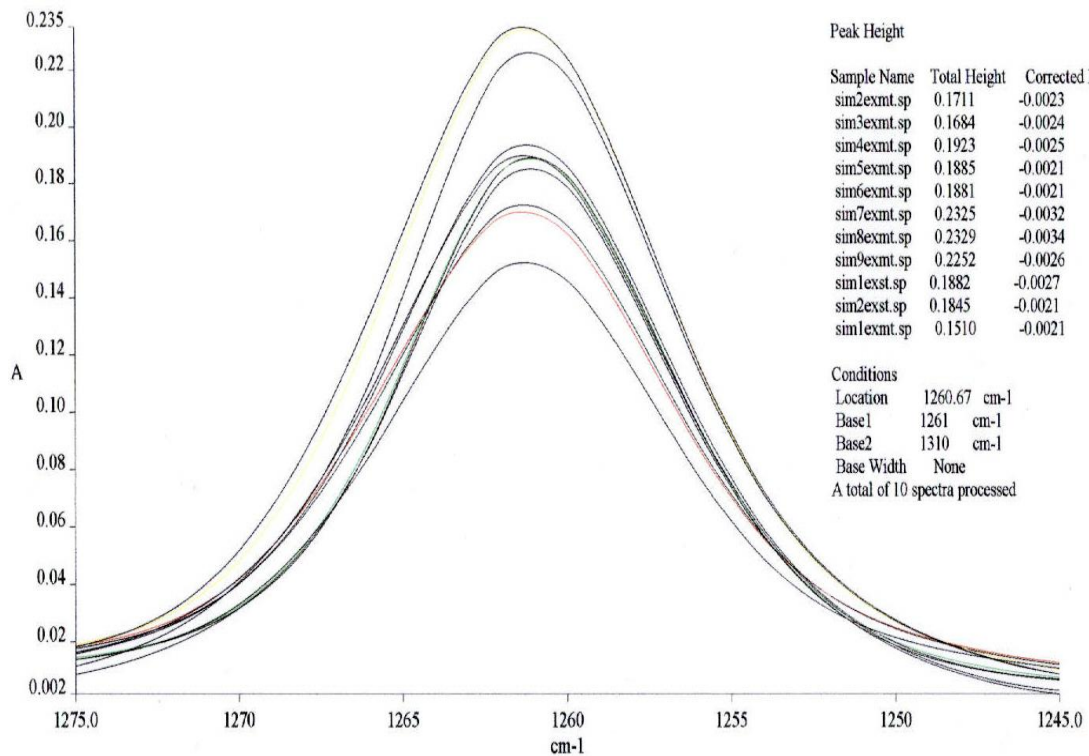
Espectro 17. Bandas de absorción de tabla 11, muestra fotólisis. Ensayo de selectividad.



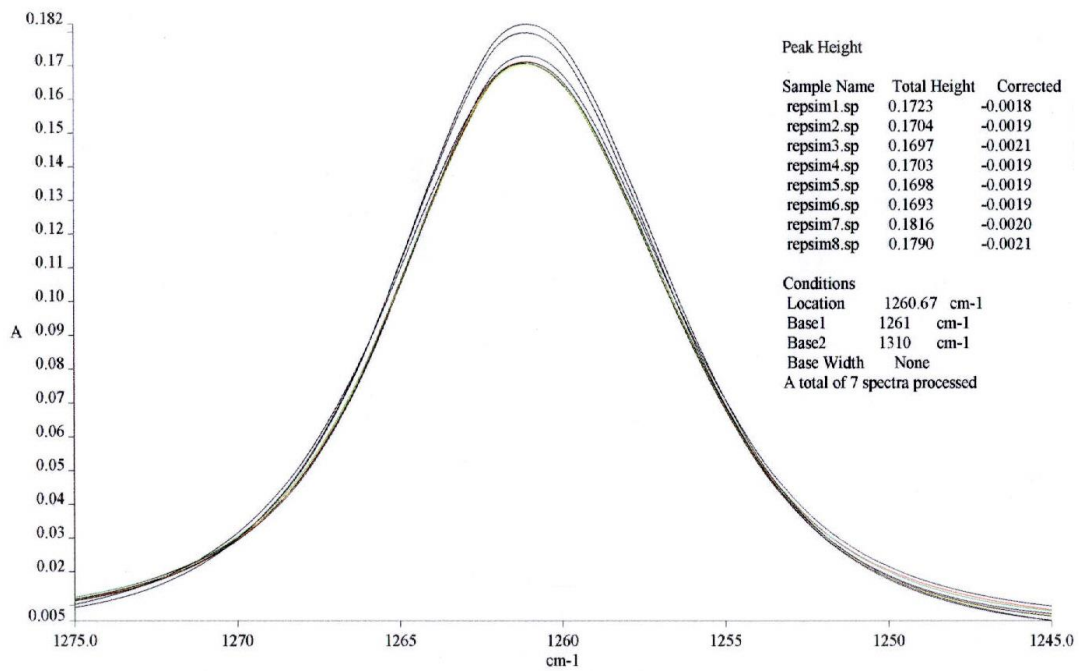
Espectro 18. Bandas de absorción de tabla 12, ensayo de exactitud, respuesta de estándar.



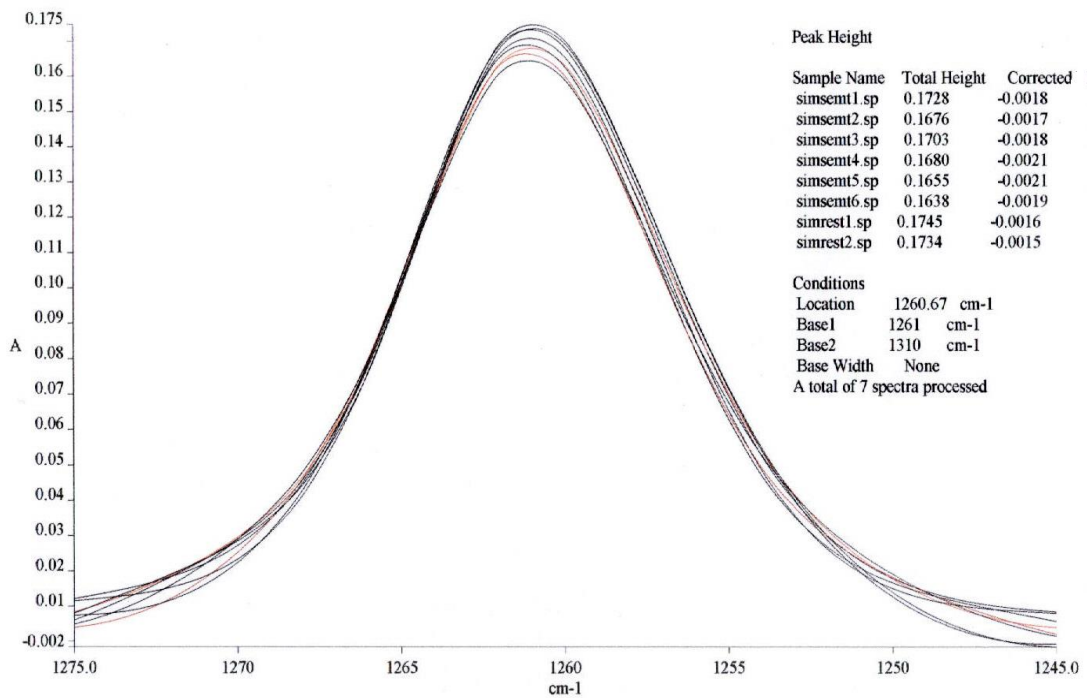
Espectro 19. Bandas de absorción de tabla 13, ensayo de exactitud, respuesta de la muestra.



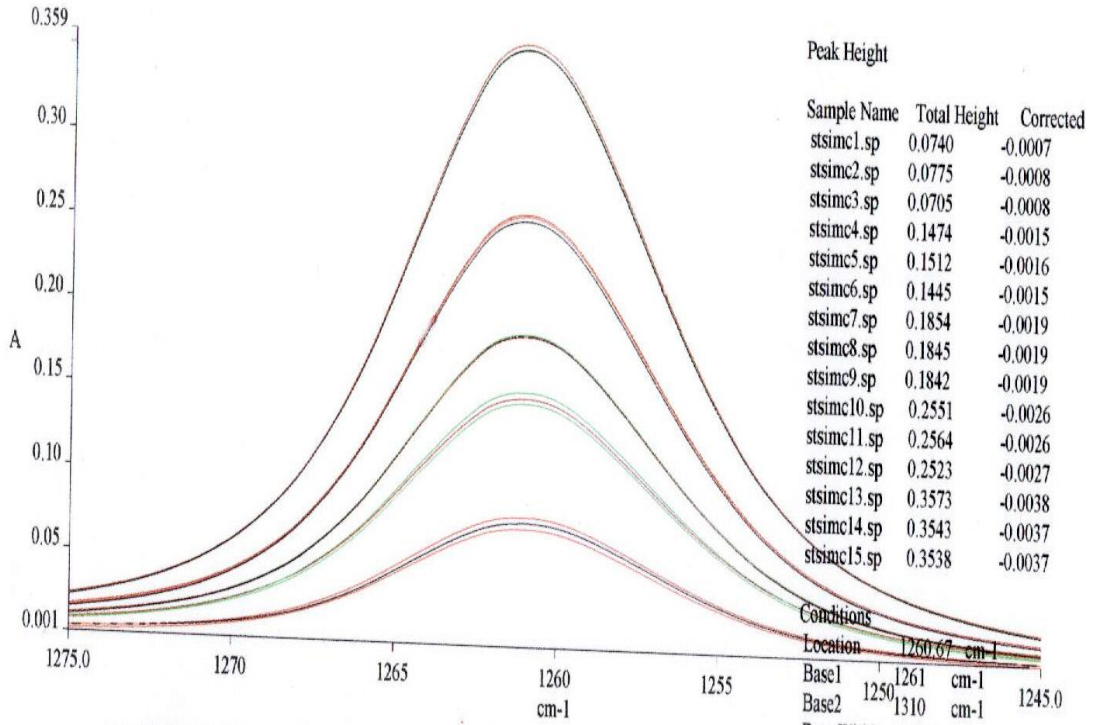
Espectro 20. Bandas de absorción de tabla 14, muestra de reproducibilidad, ensayo de precisión del método.



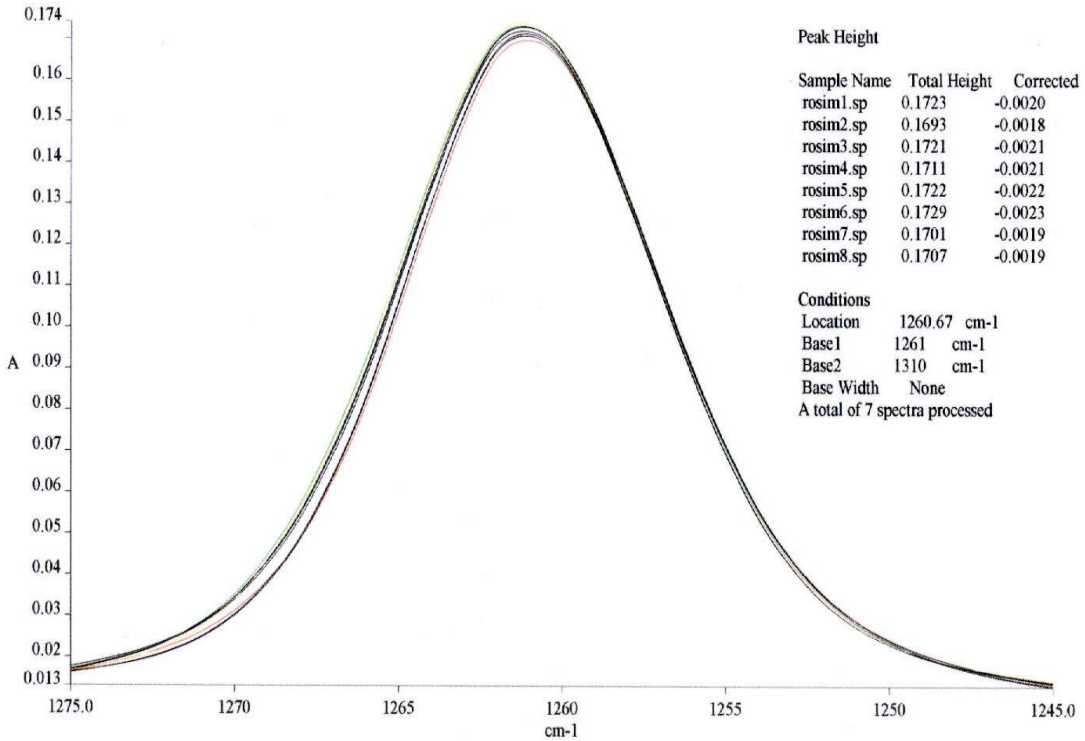
Espectro 21 Bandas de absorción de tabla 14, muestra repetitividad. Ensayo de precisión del método.



Espectro 22. Bandas de absorción de tabla 15, ensayo de linealidad.



Espectro 23 Bandas de absorción de tabla 17, ensayo de robustez.



ANEXO IV

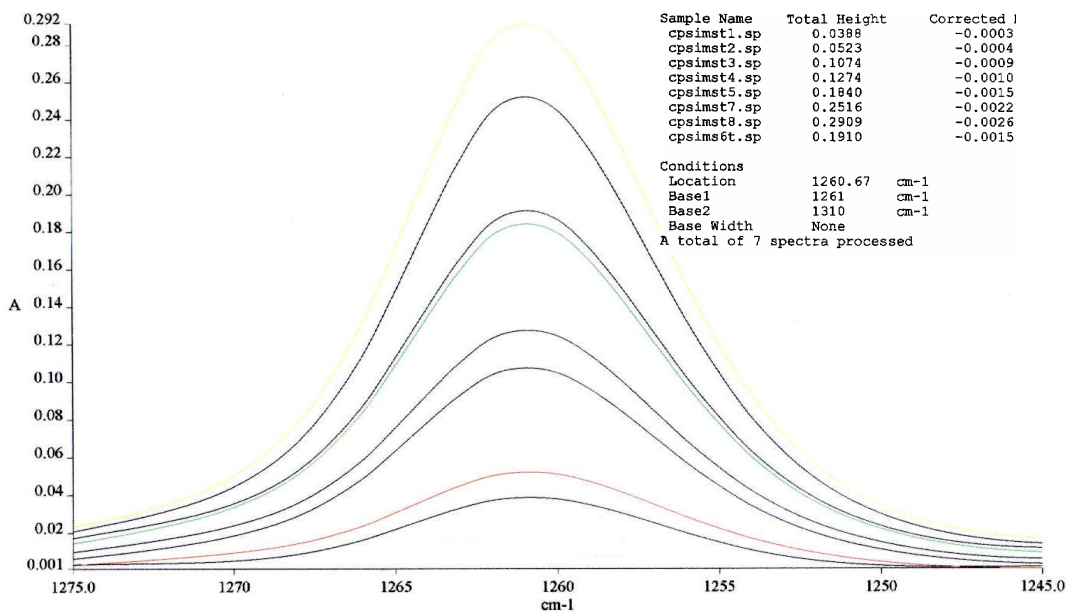
Tabla A. Modelo de Youden-Steiner. La preparación de las muestras del ensayo de robustez del medicamento pancreatina II MK, se hizo de acuerdo a las siguientes condiciones:

M1= S		M2= T	
A	Adicionar HCl 4,9 N	A	Adicionar HCl 4,9 N
B	Dejar en reposo 30 minutos	B	Dejar en reposo 30 minutos
C	Centrifugar durante 10 minutos	c	Centrifugar durante 5 minutos
D	Centrifugar a 1400 rpm.	D	Centrifugar a 1400 rpm.
E	Tamizar por malla 40	e	Tamizar por malla 60
F	Agitar magnéticamente durante 5 minutos	f	Agitar magnéticamente durante 10 minutos
G	Tiempo de extracción 40 minutos	g	Tiempo de extracción 20 minutos
M3= U		M4= V	
A	Adicionar HCl 4,9 N	A	Adicionar HCl 4,9 N
b	Dejar en reposo 60 minutos	b	Dejar en reposo 60 minutos
C	Centrifugar durante 10 minutos	c	Centrifugar durante 5 minutos
d	Centrifugar a 2800 rpm.	d	Centrifugar a 2800 rpm.
E	Tamizar por malla 40	e	Tamizar por malla 60
f	Agitar magnéticamente durante 10 minutos	F	Agitar magnéticamente durante 5 minutos
g	Tiempo de extracción 20 minutos	G	Tiempo de extracción 40 minutos
M5= W		M6= X	
a	Adicionar HCl 7,35 N	a	Adicionar HCl 7,35 N
B	Dejar en reposo 30 minutos	B	Dejar en reposo 30 minutos
C	Centrifugar durante 10 minutos	c	Centrifugar durante 5 minutos
d	Centrifugar a 2800 rpm.	d	Centrifugar a 2800 rpm.
e	Tamizar por malla 60	E	Tamizar por malla 40
F	Agitar magnéticamente durante 5 minutos	f	Agitar magnéticamente durante 10 minutos
g	Tiempo de extracción 20 minutos	G	Tiempo de extracción 40 minutos
M7= Y		M8= Z	
a	Adicionar HCl 7,35 N	a	Adicionar HCl 7,35 N
b	Dejar en reposo 60 minutos	b	Dejar en reposo 60 minutos
C	Centrifugar durante 10 minutos	c	Centrifugar durante 5 minutos
D	Centrifugar a 1400 rpm.	D	Centrifugar a 1400 rpm.
e	Tamizar por malla 60	E	Tamizar por malla 40
f	Agitar magnéticamente durante 10 minutos	F	Agitar magnéticamente durante 5 minutos
G	Tiempo de extracción 40 minutos	g	Tiempo de extracción 20 minutos

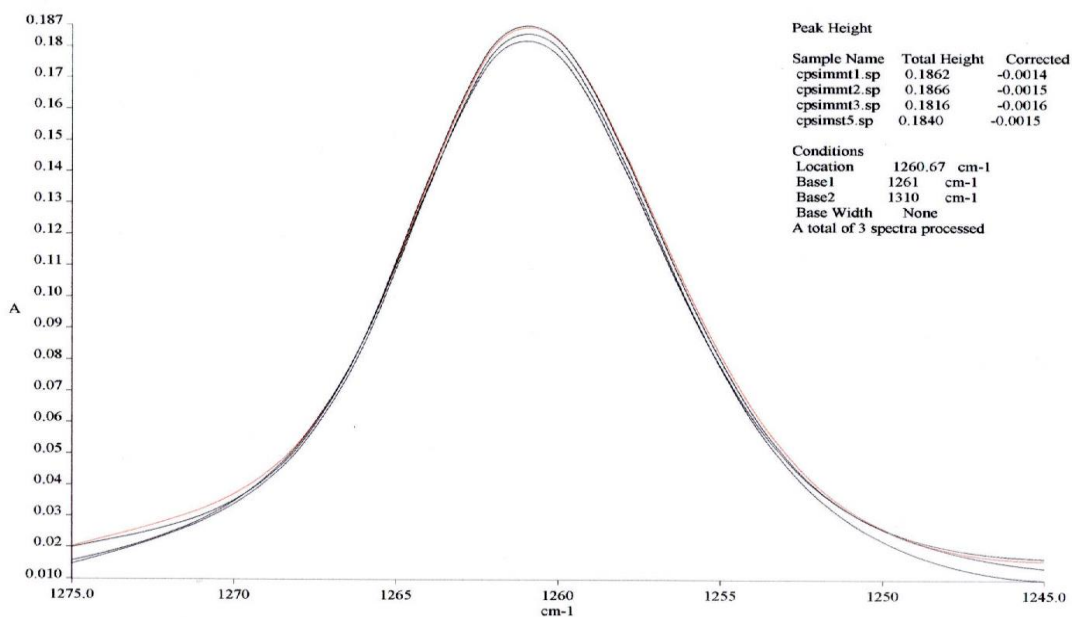
ANEXO V

Espectros de tabla 25. Cuantificación de simeticona en el medicamento: "hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona"; extracción con tolueno.

Espectro 24. Bandas de absorción de curva de calibración.



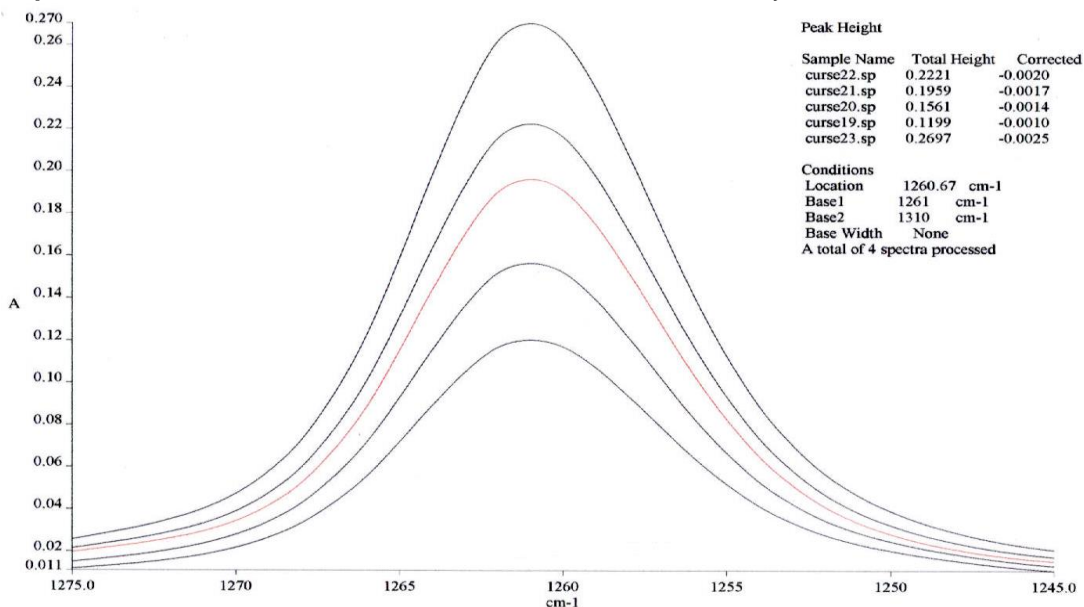
Espectro 25. Bandas de absorción de respuesta de muestra.



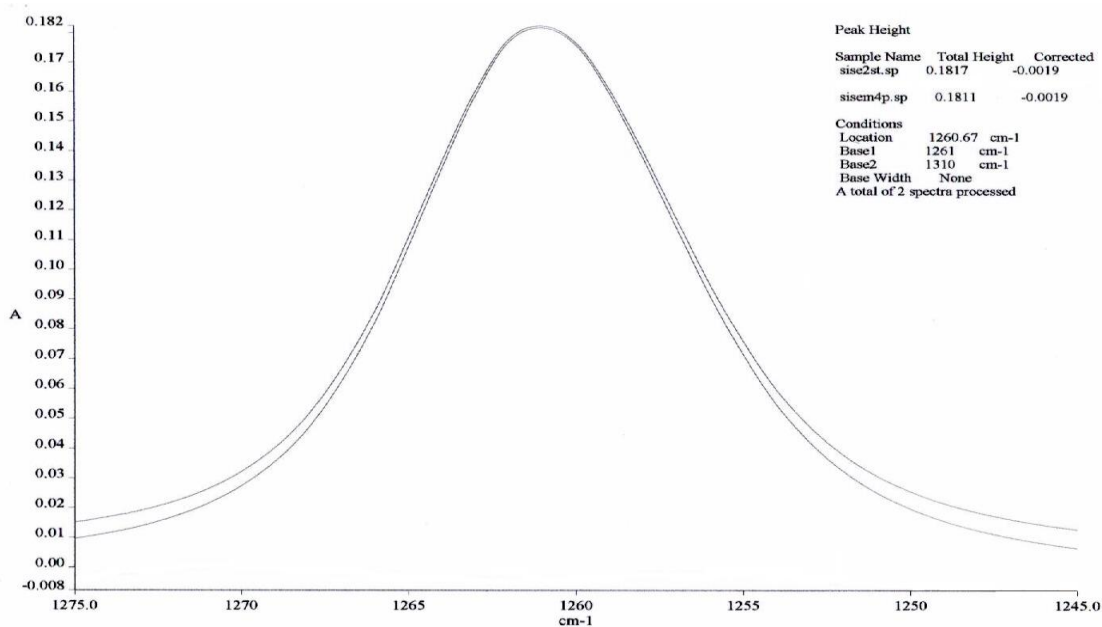
ANEXO VI

Espectros de estandarización del método de cuantificación de simeticona en el medicamento: “hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona MK”.

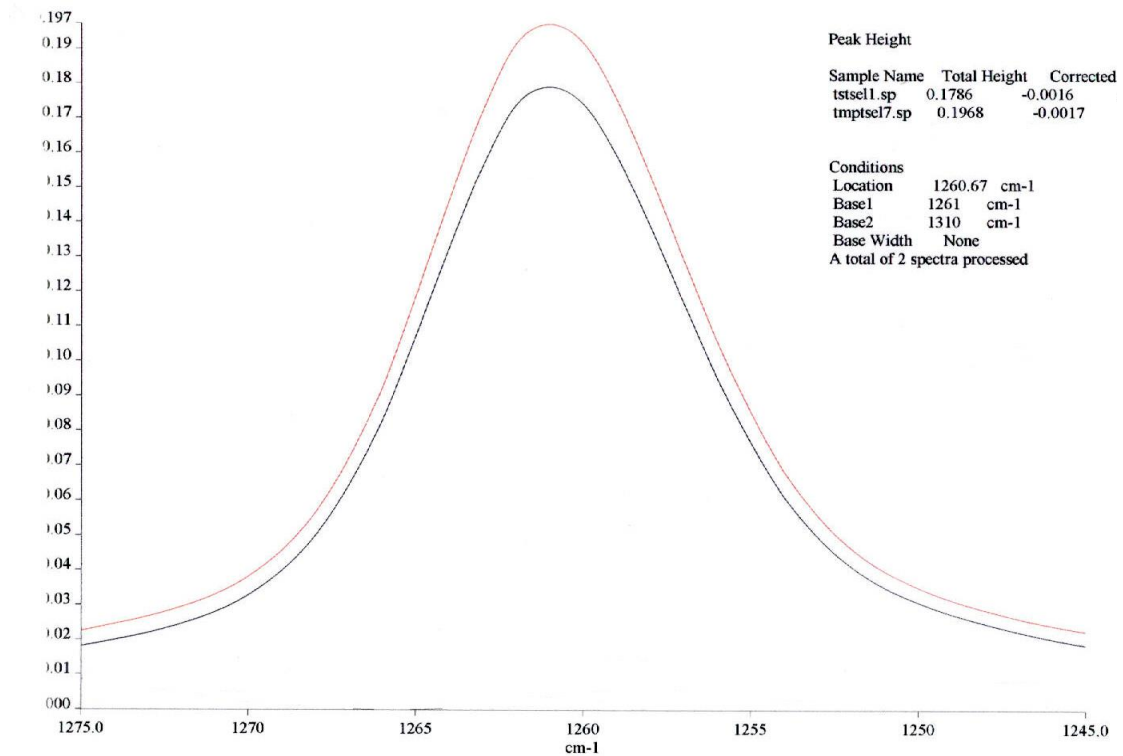
Espectro 26. Bandas de absorción de curva de calibración, ensayo de selectividad.



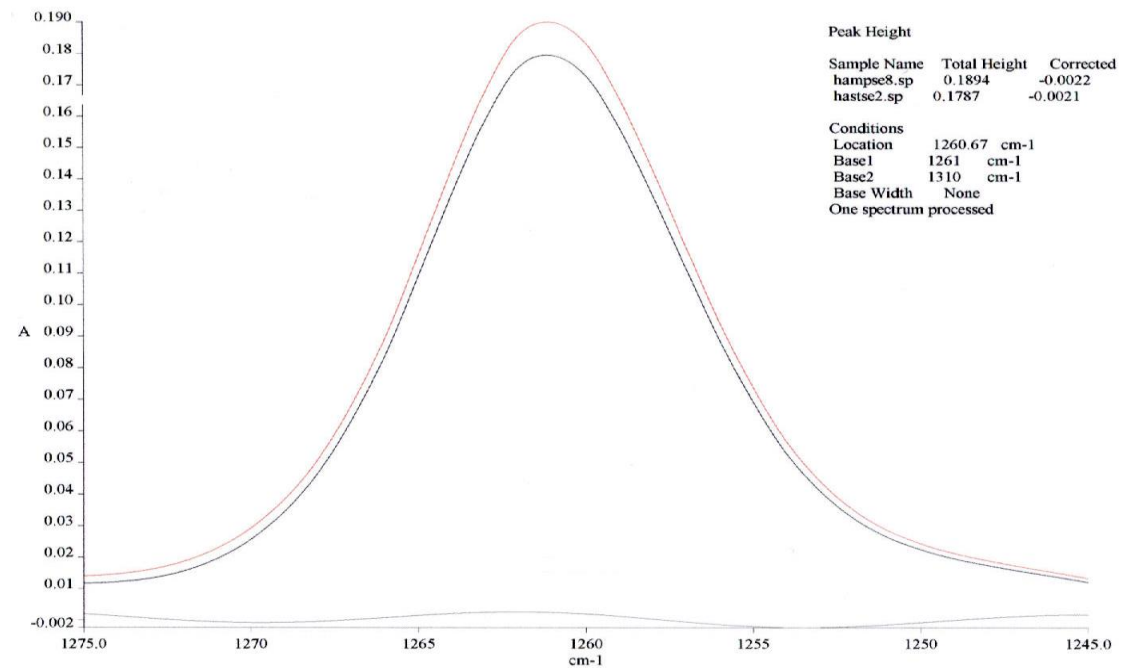
Espectro 27. Bandas de absorción de tabla 26, muestra sin tratamiento. Ensayo de selectividad.



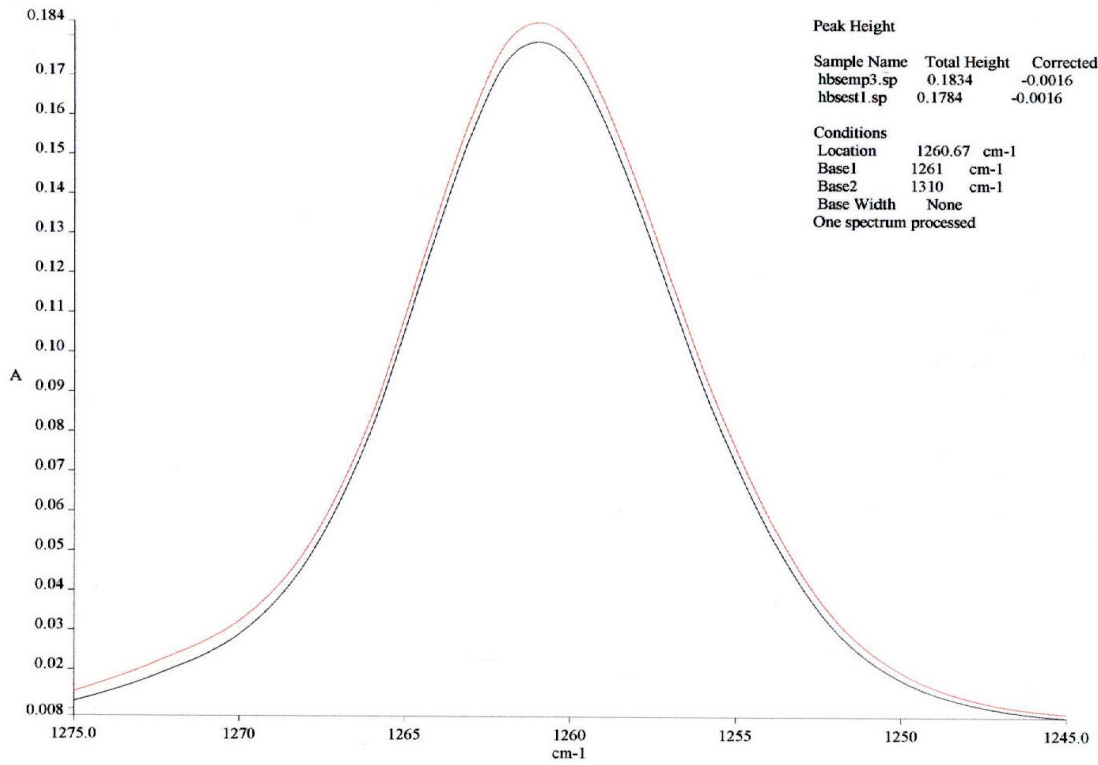
Espectro 28. Bandas de absorción de tabla 26 muestra hidrólisis térmica. Ensayo de selectividad.



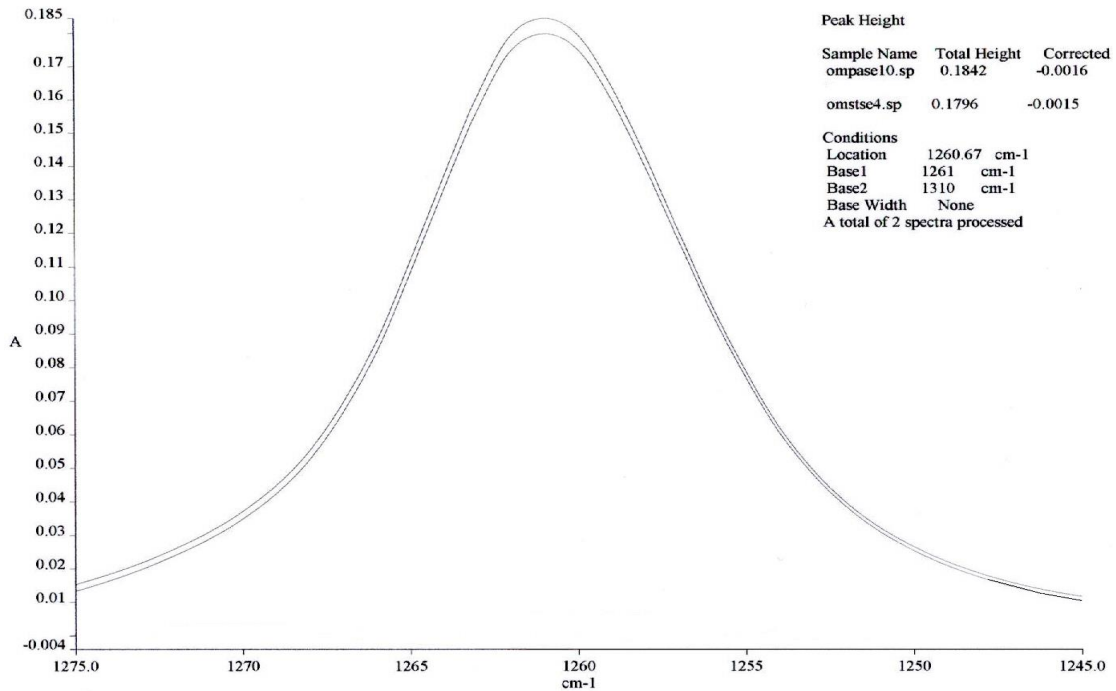
Espectro 29. Bandas de absorción de tabla 26, muestra hidrólisis ácida. Ensayo de selectividad.



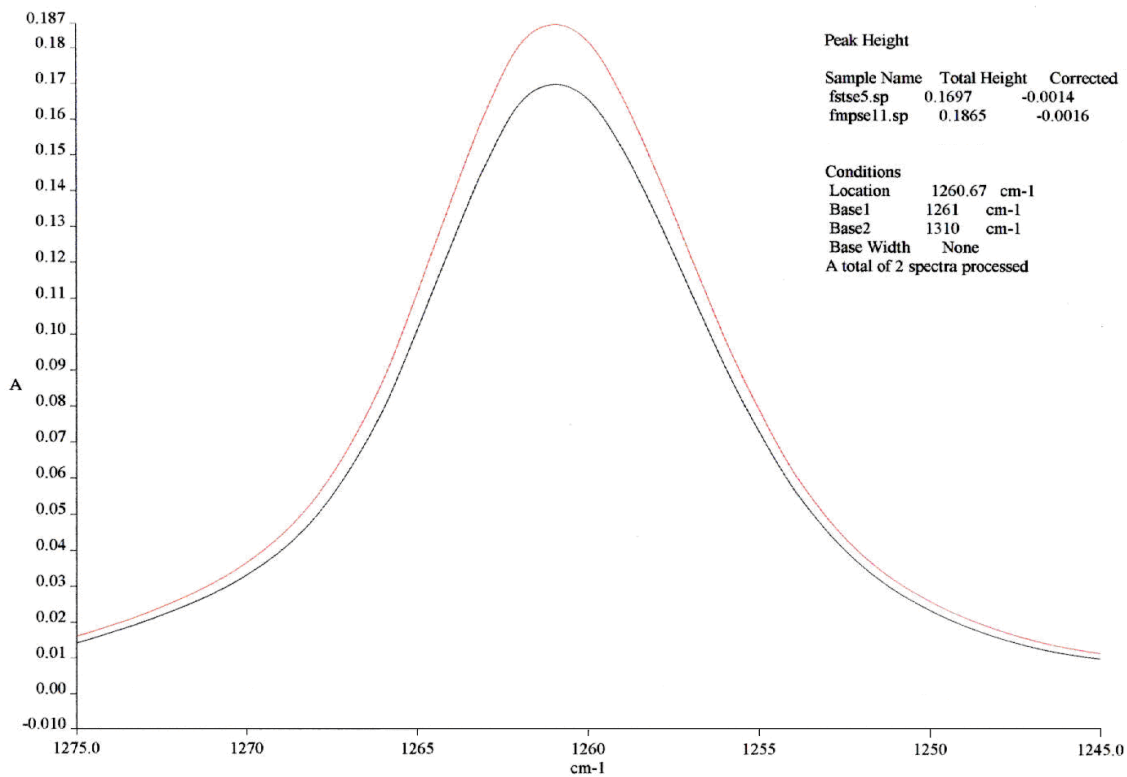
Espectro 30. Bandas de absorción de tabla 26, muestra hidrólisis básica. Ensayo de selectividad.



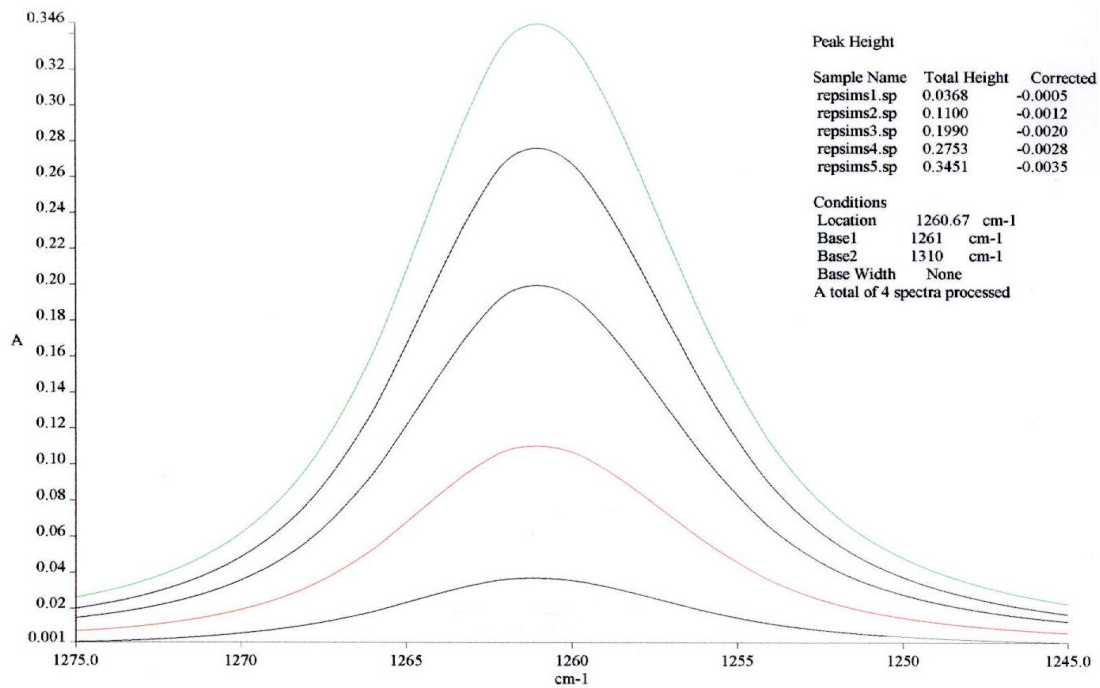
Espectro 31. Bandas de absorción de tabla 26, muestra oxidación. Ensayo de selectividad.



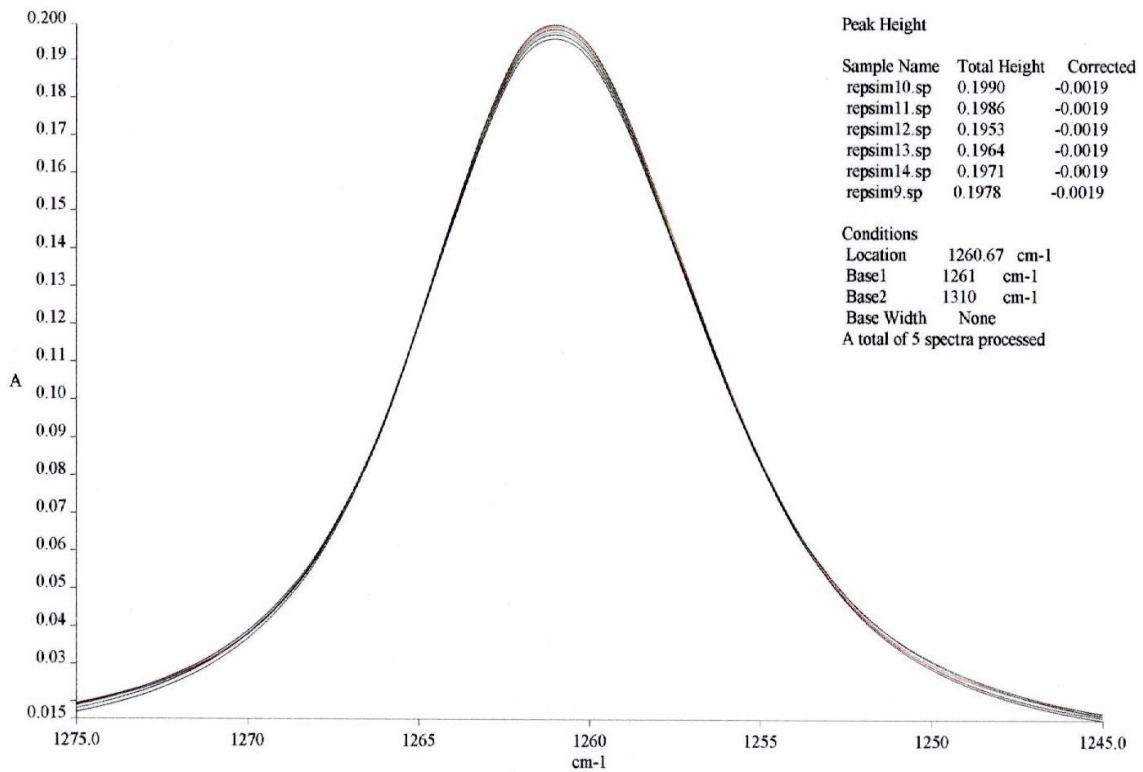
Espectro 32. Bandas de absorción de tabla 26, muestra fotólisis. Ensayo de selectividad.



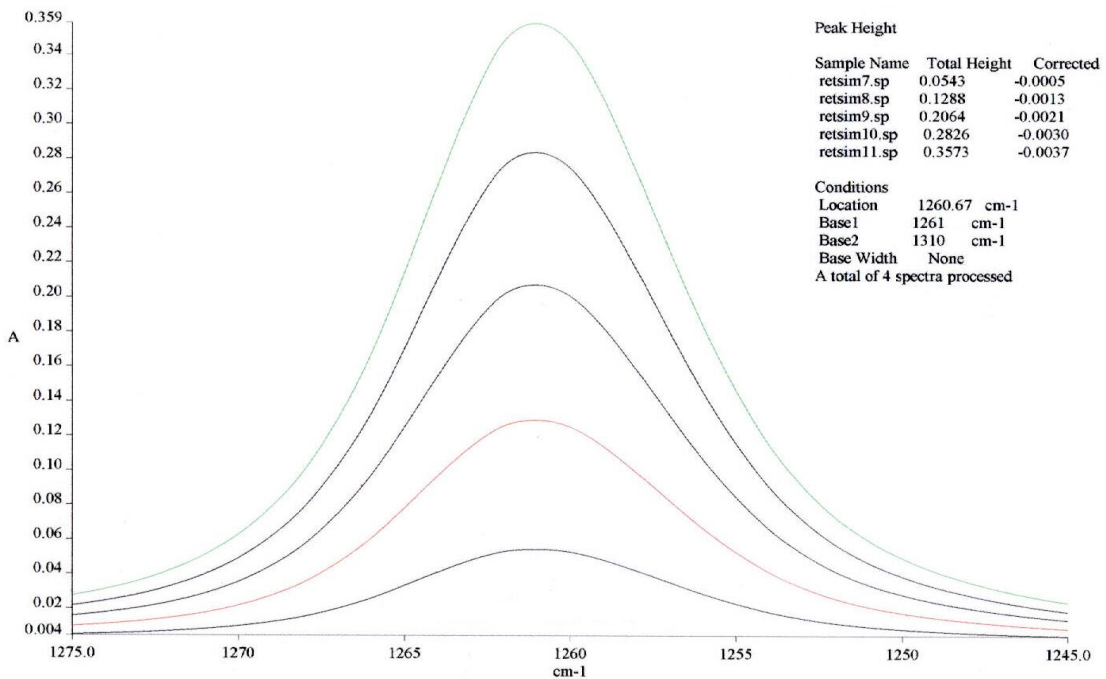
Espectro 33. Bandas de absorción de curva de calibración muestra reproducibilidad.



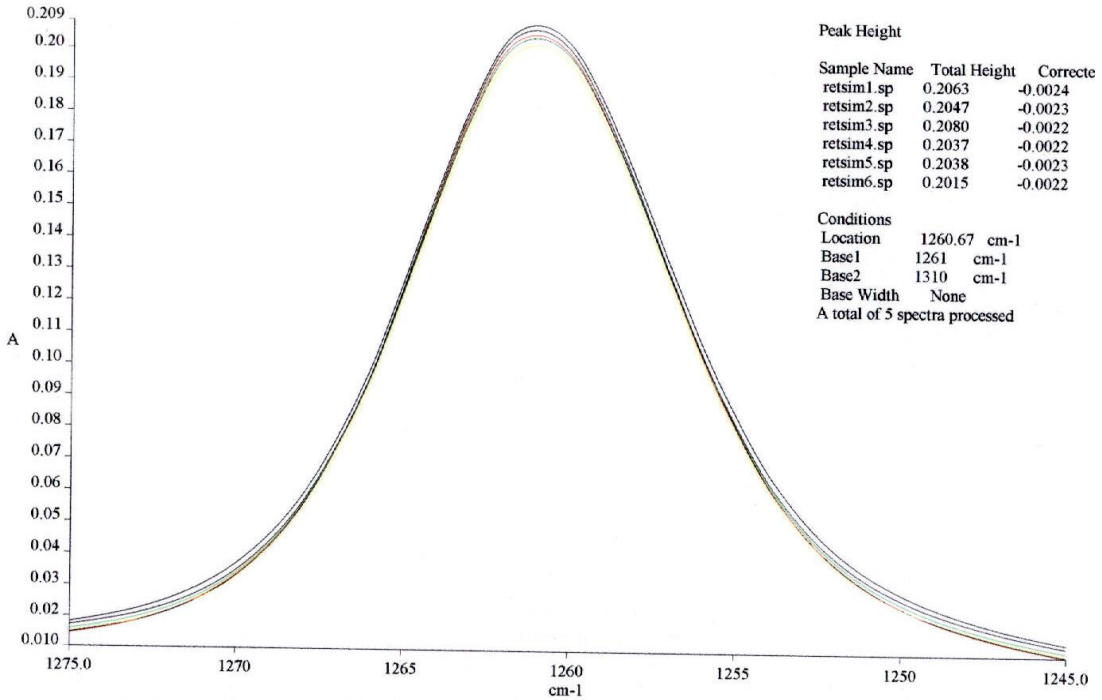
Espectro 34. Bandas de absorción de tabla 27, muestra de reproducibilidad. Ensayo de precisión del método.



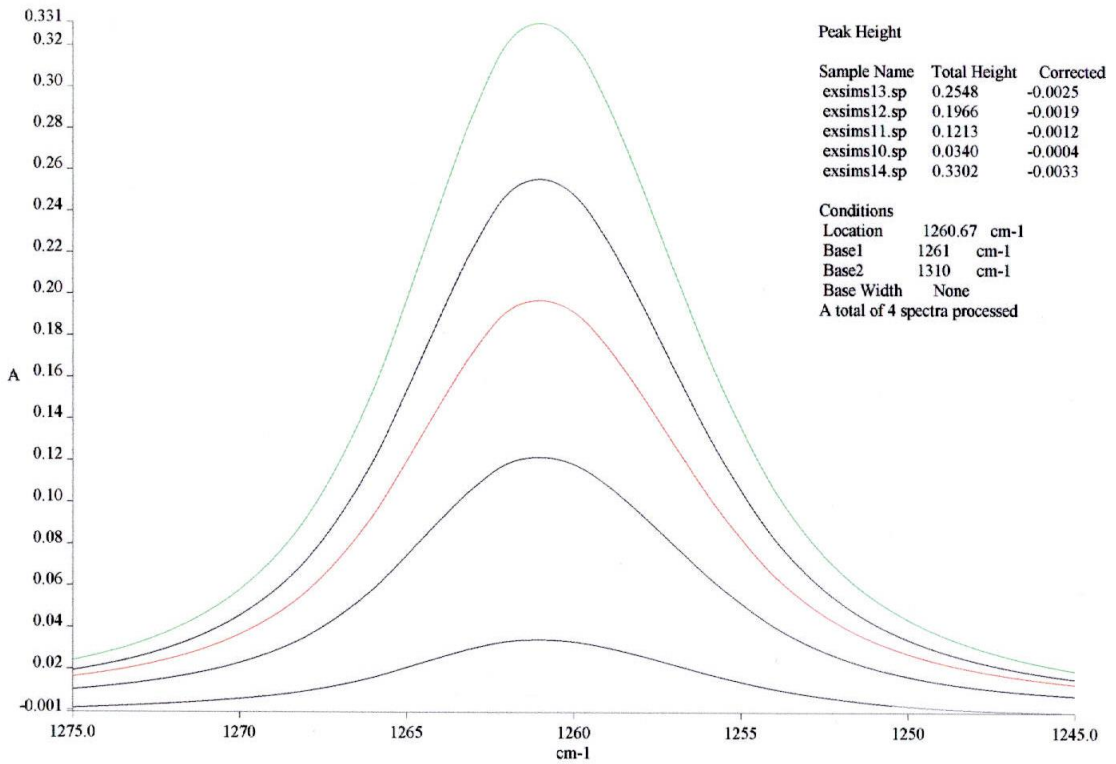
Espectro 35. Bandas de absorción de curva de calibración muestra repetitividad.



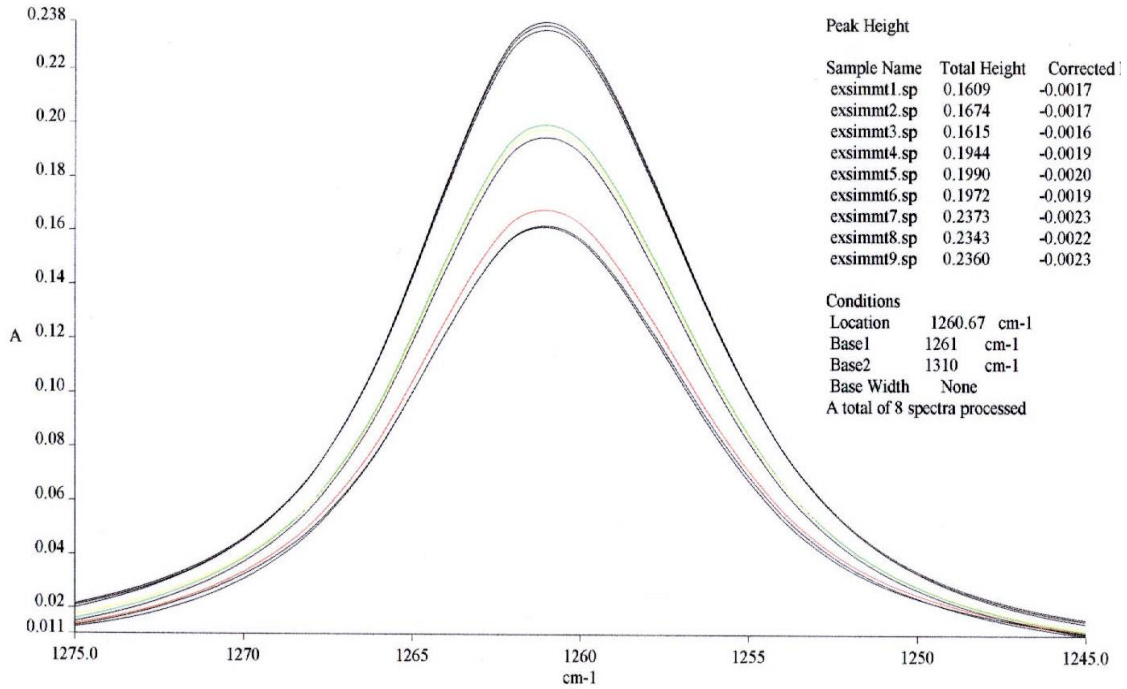
Espectro 36. Bandas de absorción de tabla 27, muestra repetitividad. Ensayo de precisión.



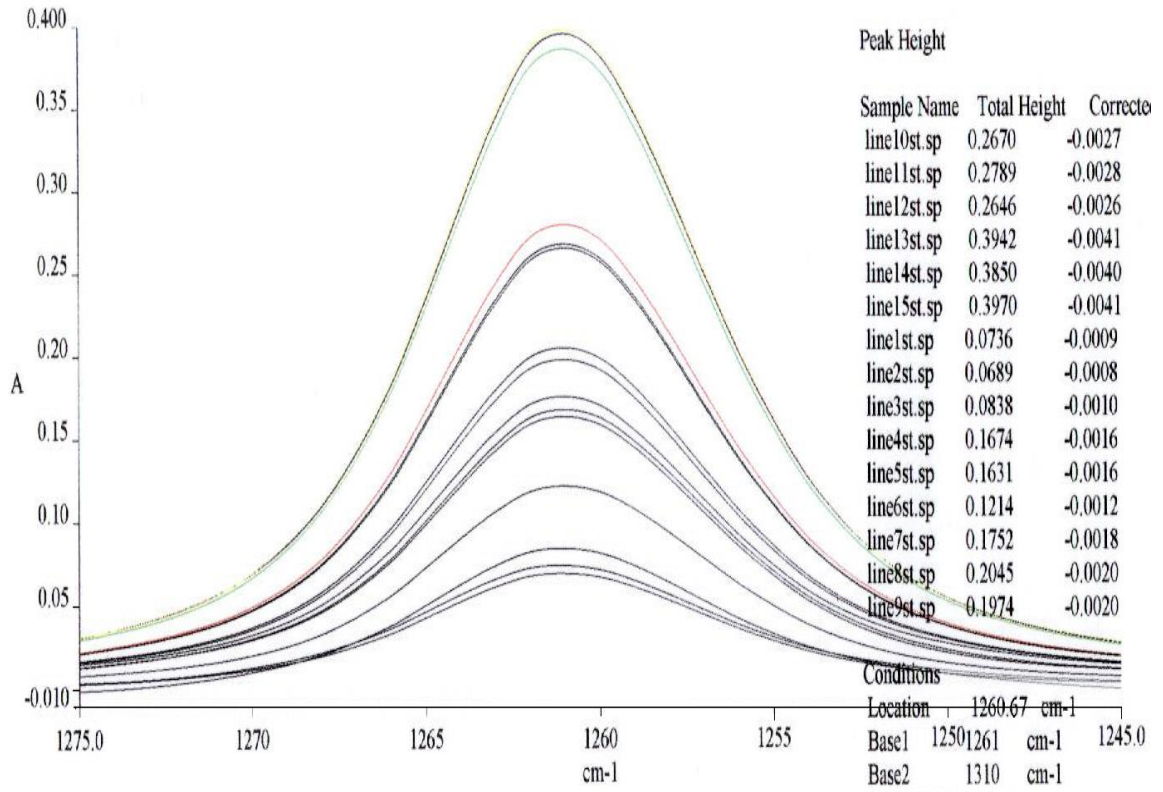
Espectro 37. Bandas de absorción de tabla 28 ensayo de exactitud. Respuesta del estándar.



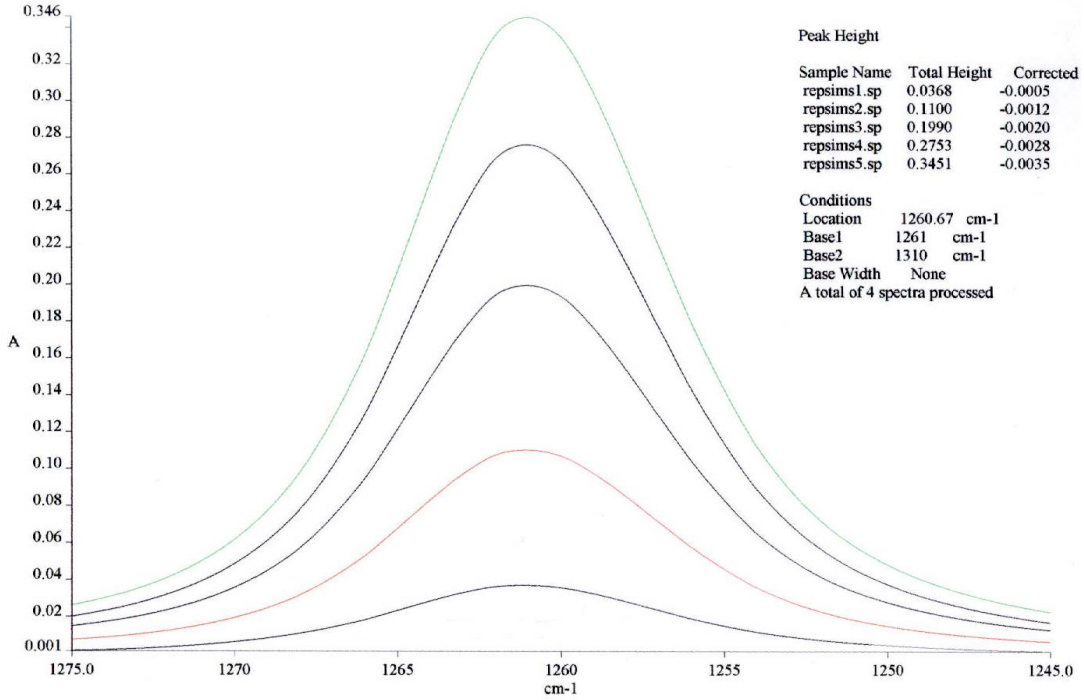
Espectro 38. Bandas de absorción de tabla 29, ensayo de exactitud, respuesta de la muestra.



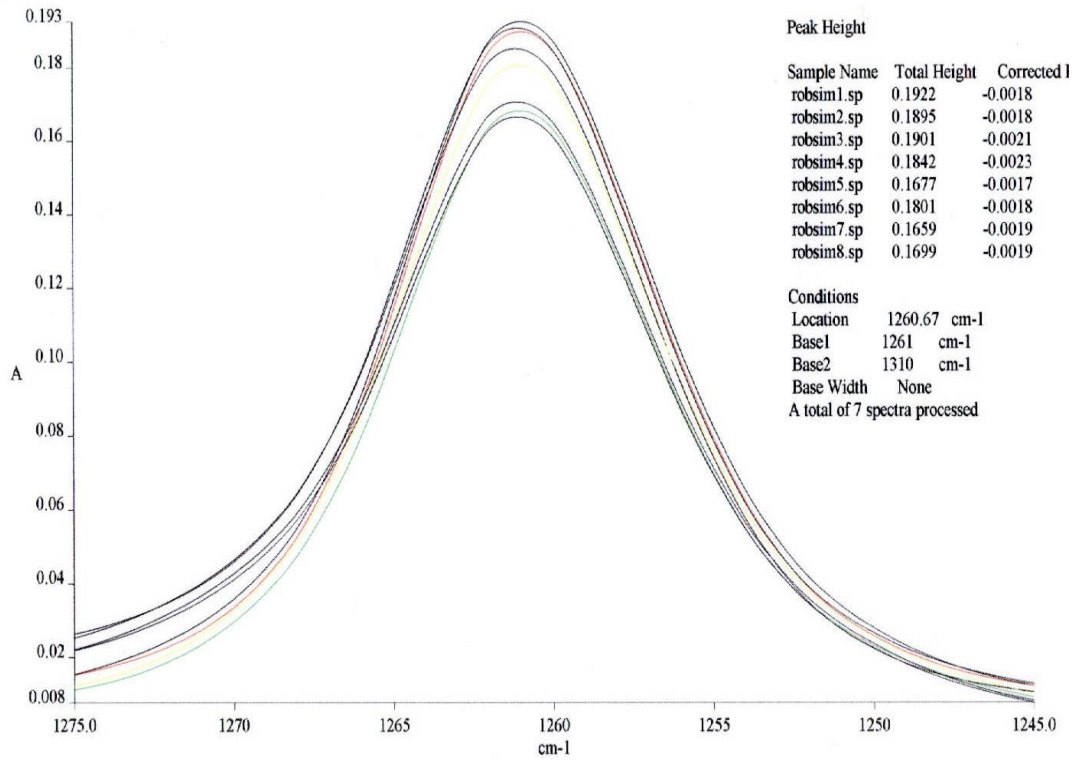
Espectro 39. Bandas de absorción de tabla 30, ensayo de linealidad.



Espectro 40. Bandas de absorción de curva de calibración ensayo robustez.



Espectro 41. Bandas de absorción de tabla 32 ensayo robustez.



ANEXO VII

Tabla B. Modelo de Youden-Steiner, para la preparación de las muestras del ensayo de robustez del medicamento hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, simeticona.

	M1= S		M2= T
A	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona	A	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona
B	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar	B	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar
C	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 45 min.	c	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 60 min.
D	Centrifugar a 6500 rpm por 15 min.	D	Centrifugar a 6500 rpm por 15 min.
E	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄	e	Tomar 15 mL de la capa orgánica y no add. Na ₂ SO ₄
F	Centrifugar a 2800 rpm por 5 min.	f	Centrifugar a 2800 rpm por 10 min.
G	Medir en IR con jeringas nuevas	g	Medir en IR con jeringas usadas
	M3= U		M4= V
A	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona	A	Sacar densidad y pesar el equivalente a 50 mg de simeticona
b	Adicionar 50 mL de NaOH 0.01 M y agitar	b	Adicionar 50 mL de NaOH 0.01 M y agitar
C	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 45 min.	c	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 60 min.
d	Centrifugar a 5000 rpm por 20 min.	d	Centrifugar a 5000 rpm por 20 min.
E	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄	e	Tomar 15 mL de la capa orgánica y no add. Na ₂ SO ₄
f	Centrifugar a 2800 rpm por 10 min.	F	Centrifugar a 2800 rpm por 5 min.
g	Medir en IR con jeringas usadas	G	Medir en IR con jeringas nuevas
	M5= W		M6= X
a	Tomar un volumen equivalente a 50 mg de simeticona	a	Tomar un volumen equivalente a 50 mg de simeticona
B	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar	B	Adicionar 50 mL de NaOH 0.1 M y agitar
C	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 45 min.	c	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 60 min.
d	Centrifugar a 5000 rpm por 20 min.	d	Centrifugar a 5000 rpm por 20 min.
e	Tomar 15 mL de la capa orgánica y no add. Na ₂ SO ₄	E	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄
F	Centrifugar a 2800 rpm por 5 min.	f	Centrifugar a 2800 rpm por 10 min.
g	Medir en IR con jeringas usadas	G	Medir en IR con jeringas nuevas
	M7= Y		M8= Z
a	Tomar un volumen equivalente a 50 mg de simeticona	a	Tomar un volumen equivalente a 50 mg de simeticona
b	Adicionar 50 mL de NaOH 0.01 M y agitar	b	Adicionar 50 mL de NaOH 0.01 M y agitar
C	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 45 min.	c	Adicionar 25 mL de Tolueno y agitar en shaker por 60 min.
D	Centrifugar a 6500 rpm por 15 min.	D	Centrifugar a 6500 rpm por 15 min.
e	Tomar 15 mL de la capa orgánica y no add. Na ₂ SO ₄	E	Tomar 15 mL de la capa orgánica con 500 mg de Na ₂ SO ₄
f	Centrifugar a 2800 rpm por 10 min.	F	Centrifugar a 2800 rpm por 5 min.
G	Medir en IR con jeringas nuevas	g	Medir en IR con jeringas usadas

Anexo VIII

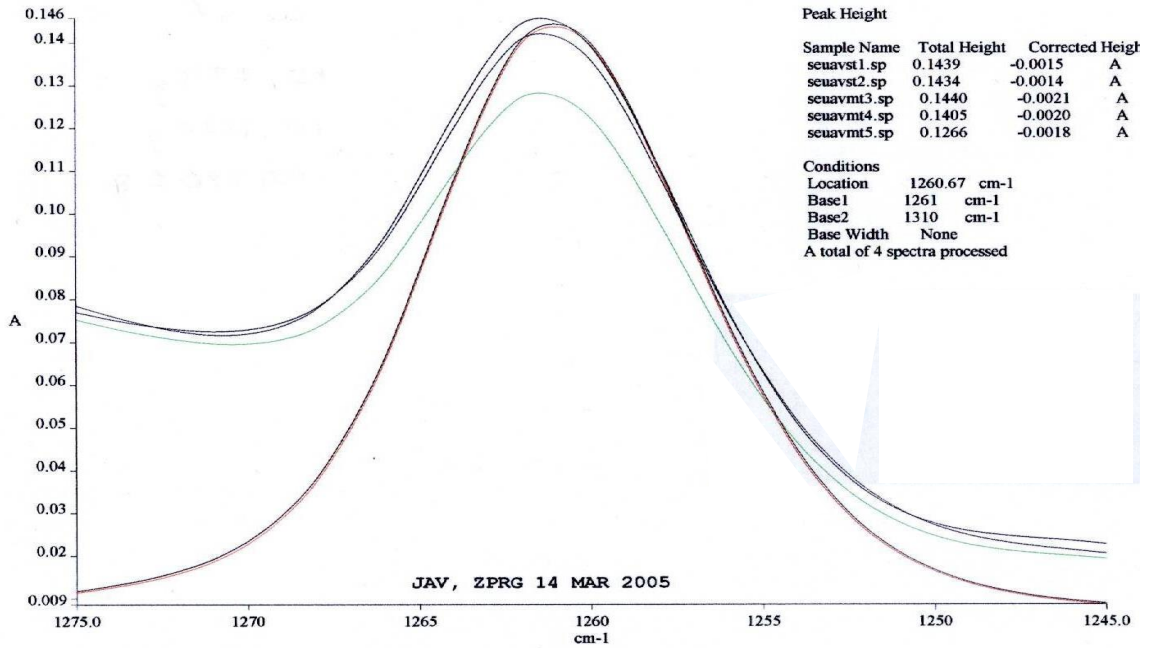
Tabla C. Valores de la t de Student

Grados de libertad	Nivel de confianza (%)				
	50	80	90	95	99
1	1.000	3.078	6.314	12.706	63.657
2	0.816	1.886	2.920	4.303	9.925
3	0.765	1.638	2.353	3.182	5.841
4	0.741	1.533	2.132	2.776	4.604
5	0.727	1.476	2.015	2.571	4.032
6	0.718	1.440	1.943	2.447	3.707
7	0.711	1.415	1.895	2.365	3.500
8	0.706	1.397	1.860	2.306	3.355
9	0.703	1.383	1.833	2.262	3.250
10	0.700	1.372	1.812	2.228	3.169
15	0.691	1.341	1.753	2.131	2.947
20	0.687	1.325	1.725	2.086	2.845
∞	0.674	1.282	1.645	1.960	2.576

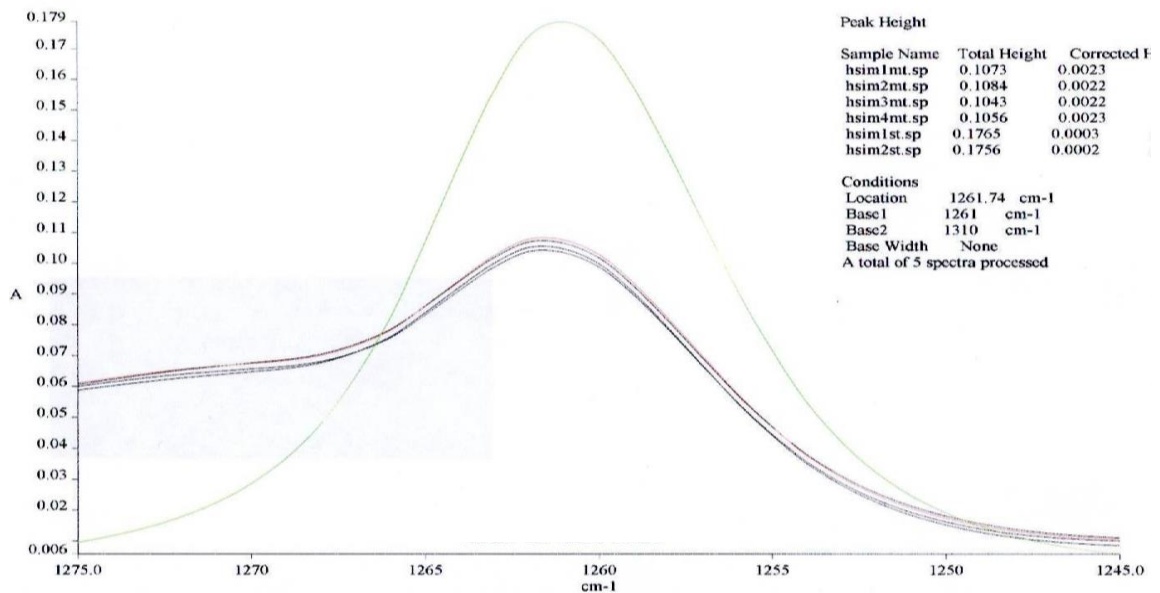
Anexo IX

Espectros de tabla 23. Ensayo 5: variable acidez.

Espectro 42. Bandas de absorción de tabla 23. HCl 4,9 M.



Espectro 43. Bandas de absorción de tabla 23. HCl 1 N



Espectro 44. Bandas de absorción de tabla 23. NaCl 2,6 M

