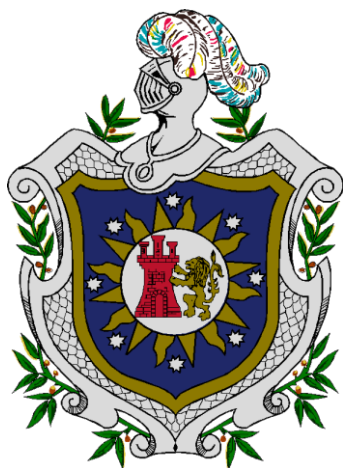


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN – LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



“A la libertad por la Universidad”

Monografía para optar al título de:

LICENCIADO QUÍMICO FARMACÉUTICO.

“Validación de la metodología analítica para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible”.

AUTOR:

- Br. Eliu Rafael Machado Hernández.

TUTOR:

- M.Sc. César Antonio Peralta Mayorga.

León, Nicaragua noviembre del 2017.



AGRADECIMIENTOS.

Primero dar gracias a Dios por haber sido su voluntad culminar con este trabajo una importante etapa en mi vida de formación profesional y por haberme brindado salud, conocimientos y entendimiento a lo largo de mis 5 años de carrera.

También agradecerle por haber mantenido a mis padres y mis hermanos con vida y que pudieran ver en mí el fruto del esfuerzo y dedicación mutua ya que gracias al apoyo, motivación, educación y ejemplo que me brindaron hasta el día de hoy he podido terminar esta meta de manera satisfactoria.

Agradecer a cada uno de los docentes que tuvo la paciencia y dedicación de transmitirme sus conocimientos y experiencias en especial aquellos que me dejaron más que una lección de un componente, me dejaron lecciones de vida con lo cual se convirtieron ejemplos a seguir.

De igual manera a mis compañeros de clases y en especial a los que se llegaron a convertir en mis amigos con los cuales compartí durante 5 años momentos de estrés y momentos risas en las aulas de clases y en los pasillos de la facultad ya que ellos son la familia que uno escoge.

Por último pero no menos importante a mi tutor M.Sc. César Peralta por haber aceptado trabajar conmigo y siempre haberme brindado su apoyo y conocimientos en esta experiencia donde hemos aprendido juntos.



ÍNDICE DE CONTENIDO.

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
3. OBJETIVOS	5
3.1. OBJETIVO GENERAL	5
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
4. FUNDAMENTO TEÓRICO	6
ALBENDAZOL	
4.1. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS	6
4.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS	8
VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	
4.3. ¿QUÉ ES VALIDACIÓN?	13
4.4. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS QUE SON OBJETOS DE VALIDACIÓN	17
4.5. PASOS PARA LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO	33
GENERALIDADES DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA	
4.6. CONCEPTOS GENERALES DE ESPECTROFOTOMETRÍA.....	37
4.7. LEY DE BEER	41
4.8. INSTRUMENTACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA.....	46
5. HIPÓTESIS.....	50
6. DISEÑO METODOLÓGICO	51
6.1. TIPO DE ESTUDIO	51
6.2. ALCANCE.....	51
6.3. ÁREA DE ESTUDIO	51
6.4. POBLACIÓN DE ESTUDIO	51
6.5. MUESTRA	51
6.6. UNIDAD DE ANÁLISIS	52
6.7. PLAN DE ANÁLISIS.....	52
6.8. VARIABLES DE ESTUDIO.....	52
6.9. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	53
6.10. EQUIPO E INSTRUMENTAL ANALÍTICO.....	55
6.11. REACTIVOS	57



6.12. MATERIALES	57
6.13. PREPARACIÓN DE REACTIVOS	58
6.14. DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DE ALBENDAZOL ESTÁNDAR DE TRABAJO.....	59
6.15. CONDICIONES DE ANÁLISIS	60
6.16. PROCEDIMIENTO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALBENDAZOL 200 mg/5 mL SUSPENSIÓN ORAL POR LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Visible	61
6.17. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO A EVALUAR	63
6.17.1. Idoneidad.....	63
6.17.2. Especificidad	65
6.17.3. Exactitud	67
6.17.4. Precisión.....	70
6.17.5. Linealidad y Rango	73
6.17.6. Robustez.....	79
6.17.7. Estabilidad de las soluciones.....	82
7. RESULTADOS	83
8. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	134
9. CONCLUSIONES	139
10. RECOMENDACIONES	140
11. BIBLIOGRAFÍA	141
12. ANEXOS.....	144



ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Parámetros de desempeño de procedimientos analíticos físicos-químicos	18
Tabla 2. Factores que pueden o no pueden variar en el estudio de la repetibilidad, precisión intermedia y la reproducibilidad.....	21
Tabla 3. Variación de los factores: analista, día e instrumento en la determinación de la precisión intermedia	23
Tabla 4. Grupos de muestras que normalmente se preparan las formas farmacéuticas y materia prima	25
Tabla 5. Criterio de aceptación para la exactitud de la longitud de onda	31
Tabla 6. Criterio de aceptación para la exactitud fotométrica	32
Tabla 7. Criterio de aceptación para la resolución.....	33
Tabla 8. Operacionalización de las variables.....	53
Tabla 9. Equipos	55
Tabla 10. Material analítico	55
Tabla 11. Reactivos.....	57
Tabla 12. Materiales	57
Tabla 13. Condiciones espectrofotométricas de análisis	60
Tabla 14. Criterio de aceptación para la precisión de la idoneidad del sistema	64
Tabla 15. Criterio de aceptación para la especificidad	66
Tabla 16. Criterio de aceptación para la exactitud.....	69
Tabla 17. Criterio de aceptación para la repetibilidad del sistema	70
Tabla 18. Criterio de aceptación para la repetibilidad del método	71
Tabla 19. Criterio de aceptación para la precisión intermedia	72
Tabla 20. Criterio de aceptación para la linealidad del sistema.....	75
Tabla 21. Criterio de aceptación para la linealidad del método.....	78
Tabla 22. Criterio de aceptación para la robustez.....	81
Tabla 23. Criterio de aceptación para la estabilidad de las soluciones.....	82
Tabla 24. Absorbancias.....	111
Tabla 25. Resultados.....	111
Tabla 26. Absorbancias del estándar y placebo	113
Tabla 27. Resultados.....	113
Tabla 28. Absorbancias y porcentajes de recuperado.....	114



Tabla 29. Resultados.....	114
Tabla 30. Absorbancias y porcentajes de recuperado.....	116
Tabla 31. Resultados.....	116
Tabla 32. Absorbancias y porcentajes de recuperado.....	117
Tabla 33. Resultados.....	117
Tabla 34. Absorbancias por analistas/días.....	118
Tabla 35. Porcentajes de recuperado por analistas/días.....	118
Tabla 36. Resultados.....	119
Tabla 37. Determinación de los parámetros.....	120
Tabla 38. Significación estadística del intercepto y la pendiente.....	121
Tabla 39. Análisis de varianza ANOVA.....	121
Tabla 40. Resultados.....	122
Tabla 41. Determinación de los parámetros.....	124
Tabla 42. Significación estadística del intercepto y la pendiente.....	125
Tabla 43. Análisis de varianza ANOVA.....	125
Tabla 44. Resultados.....	126
Tabla 45. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.08 N de la robustez.....	128
Tabla 46. Resultados de la robustez en ácido clorhídrico 0.08 N.....	128
Tabla 47. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.1 N de la robustez.....	129
Tabla 48. Resultados de la robustez en ácido clorhídrico 0.1 N.....	129
Tabla 49. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.12 N de la robustez.....	130
Tabla 50. Resultados de la robustez en ácido clorhídrico 0.12 N.....	130
Tabla 51. Resultados total.....	131
Tabla 52. Resultados de la robustez.....	131
Tabla 53. Absorbancias y concentración obtenida por tiempo y condición de almacenamiento	132
Tabla 54. Porcentajes de recuperado.....	133
Tabla 55. Resultados.....	133
Tabla 56. Fórmula cuali-cuantitativa de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral.....	144



ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Estructura química del albendazol	6
Figura 2. Variación del espectro de absorción de un mismo analito en distintos solventes	40
Figura 3. Variación del espectro de absorción de un mismo analito en distintos pH	40
Figura 4. Absorción y transmisión de luz en una solución	42
Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro ultravioleta	46
Figura 6. Resultados de la idoneidad del instrumento Varian Cary 50	110
Figura 7. Espectros de absorción de la especificidad	112
Figura 8. Curva de calibración	115
Figura 9. Curva de calibración	122
Figura 10. Gráfico de residuales	123
Figura 11. Curva de calibración	126
Figura 12. Gráficos de residuales	127
Figura 13. Tabla de valores críticos de t	146
Figura 14. Tabla de valores críticos de F para un nivel de significancia de 0.05	147
Figura 15. Espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50	148
Figura 16. Balanza analítica A&D HM-120 y masas para la verificación de la balanza ...	149
Figura 17. Verificación de la balanza A&D HM-120 con masa de 50 g	150
Figura 18. Material de referencia marca Starna para la verificación del espectrofotómetro UV/Vis.	151
Figura 19. Material de referencia marca Starna para la verificación del espectrofotómetro UV/Vis	151



1. INTRODUCCIÓN.

La validación de un método analítico es el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos.

Con el presente trabajo monográfico se logró validar la metodología analítica propuesta para la cuantificación del producto de albendazol 200 mg/5 mL en suspensión oral fabricado en el Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller de la UNAN – León por la técnica de espectrofotometría UV/Visible, en el cual se describe el método analítico para la evaluación de los parámetros de desempeños establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos y la Farmacopea de los Estados Unidos de América USP36/NF31 para procedimientos analíticos de categoría I (Ensayos de cuantificación del (los) principio(s) activo(s)), igualmente la evaluación de parámetros adicionales como son Robustez, Idoneidad y Estabilidad de las soluciones. Para la evaluación de los parámetros de desempeño de dicho método analítico se utilizaron muestras de placebo de albendazol suspensión oral producidas en el Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller de la UNAN – León cargadas con estándar de trabajo.

Se realizó una búsqueda en la base de datos de la biblioteca de la UNAN - León y no se encontraron estudios publicados acerca de validación de productos de albendazol en suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.

En el año 2015 en la Universidad Nacional de Trujillo, Perú, se realizó el estudio: Validación del método analítico por espectrofotometría UV/VIS para la cuantificación de albendazol en suspensiones comerciales, donde la metodología analítica de los ensayos tanto para la muestra como para el estándar ambos fueron disueltos en metanol acidificado y aforado con ácido clorhídrico 0.1 N, tomaron una alícuota y aforaron con ácido clorhídrico 0.1 N y se leyeron en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 310 nm, los resultados que



obtuvieron para el parámetro de la linealidad fueron un coeficiente de determinación tanto para el sistema como para el método 0.9977 y 0.9978 respectivamente (mayor que 0.99), coeficiente de variación del sistema y para el método de 0.694% y 0.720% respectivamente (menor que 5%); el parámetro de exactitud obtuvieron un porcentaje de recuperado de 99.785% (98-102%), aplicaron test de Cochran y obtuvieron G experimental de menor de la de tabla ($0.636 < 0.8709$) y *t*-student experimental menor que la de tabla ($1.3643 < 2.306$); el parámetro de presión lo evaluaron a través de la repetibilidad del sistema y del método los cuales tuvieron un coeficiente de variación de 1.0829% y 1.1732% respectivamente (menor que 2%) y precisión intermedia obteniendo un coeficiente de variación de 0.9744% (menor que 3%). Llegaron a la conclusión de que los valores obtenidos del método espectrofotométrico para la cuantificación de albendazol en suspensión cumplen con los criterios establecidos United States Pharmacopeia (USP) 36, demostrando ser lineal, exacto y preciso. ⁽²¹⁾

En la edición Marzo – Septiembre del 2017 de la Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias fue publicado el estudio: Desarrollo y validación de un método analítico por espectrofotometría aplicable al control de calidad del albendazol 200 mg/5 mL, polvo para suspensión, donde disolvieron y aforaron la muestra de polvo para suspensión de albendazol y el estándar en metanol – ácido clorhídrico (99 : 1) tomaron una alícuota y aforaron con hidróxido de sodio 0.1 mol/L y se leyó en el espectrofotómetro a 308 nm. Los resultados que obtuvieron en el parámetro de linealidad del sistema y del método fue un coeficiente de variación de 0.683% y 0.802% respectivamente (menor que 5.0%); el parámetro de exactitud tuvieron un coeficiente de variación de 0.526% (menor que 3.0%) aplicaron estudio de Cochran tuvieron un valor de G experimental menor que el de tabla ($0.87 < 0.693$) y estudio de *t*-student obteniendo un valor menor que el de tabla ($0.495 < 2.3$); el parámetro de precisión lo evaluaron a través de la reproducibilidad con un porcentaje de recuperado de 99.78% y un coeficiente de variación de 0.45% y a través de la precisión intermedia evaluando el desempeño de dos analistas durante 3 días diferentes obtuvieron un coeficiente de variación de 0.471% y 0.651% por analista (menor que 3.0%). Llegaron a la conclusión de que el método que fue válido según el objetivo con el cual se propone, resultó específico



frente a los restantes componentes de la matriz, lineal, exacto y preciso en el rango de 50 a 150%.⁽¹⁰⁾

Este trabajo se realizó con el fin de brindarle al Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller de la UNAN – León un método de análisis de rutina para la cuantificación de albendazol en suspensión oral alternativo a los métodos farmacopéicos que se ajuste a los recursos que posee, pero que al mismo tiempo se obtengan resultados fiables y precisos, puesto que los métodos farmacopéicos de cuantificación de albendazol suspensión oral son por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución y el laboratorio no cuenta con tal equipo, además, una vez validado dicho método facilitará al laboratorio cumplir con ciertos requisitos solicitados por el Ministerio de Salud para la obtención del registro sanitario de dicho producto.

Los ensayos de laboratorios requeridos para la validación de dicho método analítico se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM) perteneciente a la facultad de Ciencias Químicas de la UNAN – León.

Los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros de desempeño de validación establecidos en el RTCA 11.03.39: 06 y USP36/NF31 para procedimientos analíticos de categoría I al igual que los parámetros adicionales que se evaluaron demostraron que el método propuesta es específico, exacto, preciso y lineal al igual que el método es idóneo para su aplicación, se verificó que no existe variación significativa en los resultados al realizar alteraciones en factores importante del método descrito y la solución de placebo cargado es estable al ser evaluada antes de 48 horas después de su preparación almacenadas a temperatura ambiente, en horno a 40 °C y refrigeración.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La validación de un método analítico es la evidencia documentada que el método en cuestión cumple con las especificaciones de los parámetros de validación establecidos, demostrando que el método ofrece resultados exactos y precisos para el propósito que se propone. Minimizando el número de fallos y repeticiones en los ensayos, permitiendo al laboratorio un importante ahorro en costos. Dicho esto se plantea la siguiente interrogante en la validación de la metodología analítica para la cuantificación del producto de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible:

¿El desempeño de los parámetros de validación para procedimientos analíticos de categoría I establecidos en el RTCA 11.03.39: 06 y la USP36/NF31 junto con los parámetros adicionales: Robustez, Idoneidad y Estabilidad de las soluciones en el método analítico para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible son óptimos?



3. OBJETIVOS.

3.1. OBJETIVO GENERAL:

- Validar la metodología analítica para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Elaborar un protocolo de validación del producto de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral para el Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller.
- Evaluar los parámetros de desempeño establecidos en el RTCA 11.03.39: 06 y USP36/NF31 para procedimientos analíticos de categoría I: Especificidad, Exactitud, Precisión, Linealidad y Rango en la metodología analítica para la cuantificación del producto de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.
- Determinar los parámetros adicionales: Robustez, Idoneidad y Estabilidad de las soluciones en la metodología analítica para la cuantificación del producto de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.



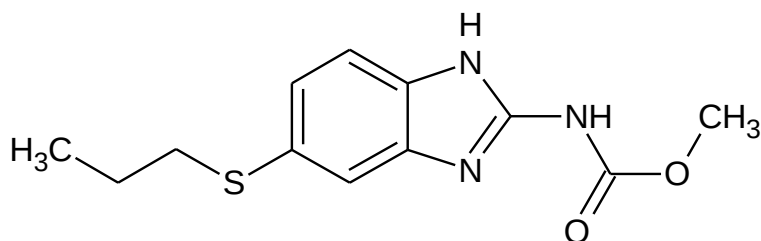
4. FUNDAMENTO TEÓRICO.

ALBENDAZOL

4.1. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS.

- FÓRMULA Y NOMBRE QUÍMICO. ⁽²³⁾

Figura 1. Estructura química del albendazol.



metil-5-(propiltio)-2-benzimidazolcarbamato

- FÓRMULA MOLECULAR.

$C_{12}H_{15}N_3O_2S$ ⁽²³⁾

- PESO MOLECULAR.

265.33 g/mol ⁽²³⁾

- ESTADO FÍSICO Y COLOR.

Cristales incoloros ⁽¹⁷⁾



- PUNTO DE FUSIÓN.

208 – 210 °C. ⁽¹⁷⁾

- SOLUBILIDAD

Insoluble en agua y etanol; soluble en dimetilsulfóxido, ácido acético, ácidos y bases fuertes.

4.1.1. CONTROL DE CALIDAD PARA MATERIA PRIMA DE ALBENDAZOL. ⁽²³⁾

- PORCENTAJE DE RECUPERADO

El albendazol contiene no menos de 98.0 % y no más del 102.0 % de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, calculado con respecto a la sustancia seca.

- PÉRDIDA POR SECADO

Secar a 105 °C durante 4 horas: No pierde más de 0.5 % de su peso.

- IDENTIFICACIÓN

Disolver 50 mg de albendazol en 3 mL de ácido acético glacial en un balón aforado de 5 mL, diluir a volumen con ácido acético glacial y mezclar. Disolver 25 mg de estándar de albendazol con ácido acético en un balón aforado de 5 mL, se tendrá una solución de 5 mg de albendazol por mL. Aplicar porciones de 10 mL de la solución de prueba y la solución estándar a una placa para cromatografía en capa delgada. Recubierta con una capa de 0.25 mm de una mezcla de gel de sílice y dejar que las manchas se sequen. Desarrollar el cromatograma en una fase móvil constituida por una mezcla de cloroformo, ácido acético glacial y éter (60 : 10 : 10) hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar



el frente de la fase móvil, dejar que el disolvente se evapore y examinar la placa bajo una luz UV de longitud de onda corta.

El valor RF de la mancha principal observada en el cromatograma de la solución de prueba corresponde al valor de la mancha principal observada en el cromatograma de la solución estándar.

- VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 250 mg de albendazol, pesados con exactitud, a un matraz adecuado y disolver en 100 mL de ácido acético glacial, calentando ligeramente si fuera necesario. Enfriar, agregar 1 gota de azul de oracet B y valorar con ácido perclórico 0.1 N previamente estandarizado hasta punto final violáceo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias.

Cada mL de ácido perclórico 0.1 N equivale a 26.53 mg de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

4.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.

En la década de los años 60 H. D. Brown y su equipo de trabajo a través de ensayos sistemáticos con benzimidazoles, benzotiazoles y otras sustancias en la búsqueda de nuevos fármacos antivirales descubrieron una nueva droga llama tiabendazol, posteriormente descubrieron su actividad específica contra los helmintos intestinales, dando como origen un nuevo grupo farmacoterapéutico conocido como Benzimidazoles químicamente formado por un anillo bicíclico de la unión de un anillo benceno en la posición 4 y 5 a un anillo imidazol.

La modificación en las posiciones 2 y 5 del sistema anular benzimidazol dio origen a nuevas drogas como son el mebendazol y el albendazol demostrando un mayor espectro de acción contra helmintos, mayor eficacia y un menor grado de toxicidad. ⁽²⁾



4.2.1. FARMACODINÁMIA.

El mecanismo de acción del albendazol se da mediante la interacción selectiva con la β -tubulina intestinal del helminto y no del huésped, proteína del citoesqueleto, inhibiendo de ese modo la polimerización necesaria para la formación de microtúbulos, ocasionando la ruptura de las células y la pérdida de funcionalidad secretora y absorptiva produciéndose una acumulación de sustancias secretoras en el aparato de Golgi del helminto, disminuyendo la captación de glucosa y la disminución de glucógeno en los depósitos. Como muchas de las sustancias secretoras presentes en el aparato de Golgi son enzimas proteolíticas que se liberan intracelularmente, la consecuencia final es la inmovilización del parásito y la autólisis de las células intestinales y finalmente la muerte del parásito. ⁽²⁾⁽¹¹⁾

4.2.2. FARMACOCINÉTICA.

Después de su administración oral, se absorbe en forma irregular (en mayor grado con una comida grasosa) y luego experimenta con rapidez metabolismo de primer paso en el hígado para convertirse en el metabolito activo sulfóxido de albendazol. Alcanza concentraciones plasmáticas máximas variables unas 3 h después de una dosis oral de 450 mg y su semivida plasmática es de 8 a 12 h. El sulfóxido se une sobre todo a proteína, se distribuye bien en los tejidos y penetra en la bilis, líquido cefalorraquídeo y quistes hidatídicos. Los metabolitos del albendazol se excretan en la orina. ⁽¹¹⁾

4.2.3. INDICACIONES.

- Ascariosis, tricuriasis e infestaciones por anquilostoma y oxiuros. ⁽¹¹⁾
- Hidatidosis (*Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis*). ⁽¹¹⁾

El albendazol es el fármaco más indicado para tratar el quiste hidatídico por *Echinococcus granulosus*. Con dicho fármaco se obtiene un índice pequeño de curación si se usa solo, pero



es un complemento útil en el periodo perioperatorio para disminuir el peligro de diseminar la infección como consecuencia del derrame del contenido del quiste en el momento de la operación o de punción, aspiración, inyección y nueva aspiración no operatorias. ⁽¹¹⁾

Es el único fármaco obtenible con actividad útil contra la equinocosis alveolar causada por *Echinococcus multilocularis* pero es parasitostático y no parasiticida y a veces se necesita el tratamiento permanente para erradicar la infección, con intervención quirúrgica o sin ella. ⁽¹¹⁾

- Neurocisticercosis.

El albendazol también es el tratamiento preferido en caso de neurocisticercosis causada por las formas larvares de *Taenia solium*. ⁽¹¹⁾

Antes de comenzar a administrar albendazol se inician los glucocorticoides y se continúan durante varios días de haber emprendido el tratamiento, para así disminuir la incidencia de efectos adversos que son consecuencia de reacciones inflamatorias a los cisticercos muertos y a los que están en fase agónica. Los glucocorticoides incrementan las concentraciones plasmáticas de sulfóxido de albendazol. ⁽¹¹⁾

- Otras infecciones.

El albendazol es el fármaco de elección para tratar la larva migratoria cutánea, la larva migratoria visceral, la capilariosis intestinal, las infestaciones por microsporidios y la gnatostomosis. También tiene actividad contra la triquinosis y la clonorquiosis. ⁽¹¹⁾

4.2.4. REACCIONES ADVERSAS.

El albendazol ocasiona pocos efectos adversos cuando se utiliza por corto tiempo contra helmintosis de las vías gastrointestinales, incluso en quienes tienen un número importante de vermes. En cerca del 1% de personas tratadas se observan síntomas leves y transitorios de



efectos adversos de consideración. Pueden presentarse molestias epigástricas leves y transitorias, diarrea, cefalea, náusea, mareo, laxitud e insomnio. ⁽¹¹⁾

En el empleo a largo plazo las reacciones adversas más frecuentes son molestias abdominales, cefalea, fiebre, fatiga, alopecia, pancitopenia ⁽¹¹⁾ y disfunción hepática que suele manifestarse por aumento de las concentraciones de transaminasas séricas; en ocasiones excepcionales aparece ictericia, pero las actividades enzimáticas se normalizan una vez terminado el tratamiento. ⁽²⁾

4.2.5. INTERACCIONES.

Fenitoina, carbamacepina y fenobarbital reducen las concentraciones plasmáticas (de relevancia clínica si el albendazol es utilizado en enfermedades sistémicas que necesitan altas dosis). La dexametasona aumenta la concentración del albendazol. ⁽¹⁸⁾

4.2.6. DOSIFICACIÓN. ⁽¹¹⁾

- Ascariosis, anquilostomiosis y oxiuros: en adultos y niños mayores de dos años de edad con ascariosis y anquilostomiosis una sola dosis de 400 mg por vía oral que se repite durante dos a tres días y en dos semanas para las infestaciones por oxiuros.
- Tricuriosis: tres dosis orales de 400 mg al día de albendazol.
- Hidatidosis: La dosis es de 400 mg dos veces al día con las comidas durante un mes o más. Se ha tolerado bien el tratamiento diario hasta por seis meses. Una medida terapéutica comunicada consiste en tratar con albendazol y prazicuantel, para valorar la respuesta después de un mes o más y, según sea la respuesta, se trata luego al paciente con quimioterapia continuada o tratamiento quirúrgico y farmacológico combinados.
- Neurocisticercosis: 400 mg dos veces al día hasta por 21 días.
- Larva migratoria cutánea: 400 mg al día durante tres días.
- Larva migratoria visceral: 400 mg dos veces al día durante cinco días.



- Capilariosis intestinal: 400 mg al día durante 10 días.
- Infestaciones por microsporidios: 400 mg dos veces al día durante dos semanas o más.
- Gnatostomosis: 400 mg dos veces al día durante tres semanas.
- Triquinosis: 400 mg dos veces al día durante una a dos semanas.
- Clonorquiosis: 400 mg dos veces al día durante una semana.

4.2.7. PRECAUCIONES.

Las biometrías hemáticas y pruebas de función hepática deben vigilarse durante el tratamiento a largo plazo. El fármaco no se debe administrar a pacientes con hipersensibilidad conocida a otros benzimidazoles o a los adultos cirróticos. No se ha establecido la seguridad del albendazol durante el embarazo y en los niños menores de dos años de edad. ⁽¹¹⁾



VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

4.3. ¿QUÉ ES VALIDACIÓN?

El término validación ha sido definido en la literatura, de diversas maneras y por numerosos autores. Aunque los términos dados son diferentes el significado de las mismas es siempre el mismo: a) especificar e implementar, b) aprobar y c) documentar.

Dependiendo del campo de aplicación de una validación se pueden tener diferente conceptos sobre ella, un concepto generalizado que sobre validación es la obtención de pruebas con arreglo a las Normas de Correcta Fabricación, de que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema produce en realidad el resultado previsto. ⁽¹⁾

Según la Farmacopea de los Estados Unidos de América USP36/NF25 validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. ⁽²³⁾

Desde el punto de vista analítico el término validación significa el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos. ⁽¹⁾

4.3.1. TERMINOS ASOCIADOS CON LA VALIDACIÓN.

- Cualificación: el termino validación se amplía a veces para incluir el concepto de cualificación y consiste en la operación por la que se comprueba que un equipo funciona correctamente y produce en realidad los resultados previstos. ⁽¹⁾
- Calibración: conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones previamente definidas, la relación entre los valores indicados por el sistema de medición y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia. ⁽¹⁾



Los términos "validación, cualificación y calibración", son conceptos que suelen emplearse de forma indistinta, sin embargo conceptualmente son diferentes. ⁽¹⁾

- Validar: verificar documentalmente que un método o proceso hace lo que tiene que hacer. ⁽¹⁾
- Cualificar: dotar o verificar las cualidades o características inherentes a un aparato (máquina, equipo, instrumento, etc.). ⁽¹⁾
- Calibración: es una parte de la cualificación. ⁽¹⁾

Por consiguiente se puede decir que los métodos deben ser validados y los aparatos deben, ser cualificados. ⁽¹⁾

- Procedimiento analítico: descripción detallada de los pasos necesarios para aplicar un método analítico. ⁽¹⁾
- Validación de un procedimiento analítico: procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales. ⁽¹⁶⁾
- Ensayo: operación técnica realizada de acuerdo a un procedimiento específico, que consiste en la determinación cualitativa y/o cuantificación de una o más características (propiedades o analitos) en un determinado producto, proceso o servicio. ⁽⁵⁾
- Material de Referencia Certificado: Material de referencia acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza. ⁽⁵⁾
- Material de Referencia: Material o sustancia en la cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien definidos como para ser



utilizados en la calibración de aparatos, en la evaluación de un método de medición o para asignar valores a otros materiales. ⁽⁵⁾

- Analito: sustancia contenida en la muestra sometida a análisis. ⁽¹⁾
- Blanco, placebo o matriz de la muestra: muestra preparada para la lectura final pero que no contiene analitos. Puede ser un blanco de los reactivos o bien un blanco de la muestra problema que contenga todos los ingredientes de la muestra problema excepto los analitos. En este último caso se denomina placebo o matriz de la muestra. ⁽¹⁾
- Parámetros de desempeño analítico, parámetros de mérito o elementos requeridos para el ensayo de validación: características de validación que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a la siguiente lista: exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad e intervalo de linealidad. ⁽¹⁶⁾

4.3.2. ¿CUÁL ES EL OBJETIVO DE UNA VALIDACIÓN?

El objetivo de la validación de un procedimiento de análisis es demostrar que es conveniente para los fines previstos. Así como dejar en evidencia mediante documentación la veracidad de dicho procedimiento. ⁽²⁰⁾

4.3.3. RAZONES QUE JUSTIFICAN LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ⁽¹⁾

- Demostrar que los métodos son adecuados a los análisis propuestos en las condiciones descritas. La validación es la herramienta que permite obtener las pruebas documentales al respecto.
- Trabajar con métodos que ofrezcan confianza y seguridad en los resultados, lo cual a su vez minimizará el número de fallos y repeticiones permitiendo un importante ahorro del costo.



- Trabajar con métodos validados permite no sólo el conocimiento del método analítico: sino también cumplir con las exigencias legales tanto del registro de especialidades, farmacéuticas como de las Buenas Prácticas de Laboratorio, con el fin de asegurar la calidad y eficacia del producto.
- La validación es también un paso o requisito previo de los procesos de transferencia de métodos analíticos.

4.3.4. PARA INICIAR LA VALIDACIÓN ES NECESARIO PREVIAMENTE: ⁽¹⁾

- Tener perfectamente caracterizado el analito.
- Trabajar con una formulación definitiva (en caso de especialidad), puesto que cambios en la composición incluso a nivel de excipientes afectarán probablemente al procedimiento analítico.
- Trabajar suficientemente con el método de análisis como para que nuestro conocimiento acerca de éste, nos ofrezca garantías de que la validación puede ser satisfactoria. Sólo cuando el procedimiento está definido en todos sus detalles y se tiene el convencimiento de que las condiciones descritas son idóneas para alcanzar los resultados esperados debe iniciarse la validación. Por ello en el desarrollo previo del método, es recomendable llevar a cabo el estudio de robustez para garantizar la bondad del procedimiento que se quiere validar

4.3.5. ¿CUÁNDO VALIDAR UN METODO? ⁽¹²⁾

Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto. Los métodos que serán validados son:

- Métodos no normalizados.
- Métodos diseñados/desarrollados por el laboratorio.
- Métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación.



- Ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados.

La validación debe ser tan amplia como sea necesaria para cumplir con los requisitos en relación con el uso dado o la aplicación. El alcance de la validación dependerá de la aplicación, la naturaleza de los cambios realizados y de las circunstancias en que el método se va a utilizar.

También debe validarse cuando es necesario demostrar la equivalencia de los resultados obtenidos por dos métodos, por ejemplo, un método recientemente desarrollado y un método normalizados existente.

4.3.6. MÉTODOS SUSCEPTIBLES A SER VALIDADOS. ⁽¹⁾

Son validables los métodos analíticos clasificados en la siguiente forma:

- Ensayos de identificación.
- Ensayos para la determinación del analito de interés de una materia prima o de una especialidad farmacéutica.
- Ensayos para la determinación de características farmacotécnicas inherentes
- Ensayos de límite de impurezas y de cuantificación de impurezas
- Ensayos para la determinación de analitos en fluidos biológicos y en productos naturales.
- Ensayos microbiológicos.

4.4. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS QUE SON OBJETOS DE VALIDACIÓN.

Se deben validar los siguientes procedimientos analíticos físico-químicos:

Categoría I: Pruebas cuantitativas del contenido del (los) principio(s) activo(s), constituyen procedimientos químicos o microbiológicos que miden el (los) analito(s) presente(s) en una muestra determinada.



Categoría II: Pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas. Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado. Cualquiera de los dos pretende reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba cualitativa de cumplimiento de límite.

Categoría III: Pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo la prueba de disolución. Las características de la validación son diferentes a las de las otras pruebas, aunque las pueden incluir

Categoría IV: Pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de referencia, por ejemplo espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas.

Cada categoría debe de cumplir con los siguientes parámetros de desempeño:

Tabla 1. Parámetros de desempeño de procedimientos analíticos físicos-químicos.

Categoría de pruebas Parámetros de desempeños	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
	Principio(s) activo(s)	Prueba de límite cuantitativa	Prueba de límite cualitativa	Físicoquímico de desempeño	Identificación
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	*	NO



Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Rango	SI	SI	*	*	NO

* Puede requerirse dependiendo de la naturaleza del ensayo. ⁽¹⁶⁾⁽²³⁾

4.4.1. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DE VALIDACIÓN.

4.4.1.1. Exactitud.

Definición ⁽¹⁾

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado.

No deben confundirse exactitud y precisión. La precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da ninguna indicación de lo cerca que está del valor verdadero. Se puede tener mediciones muy precisas pero poco exactas; sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.

Determinación ⁽²³⁾

En la valoración de principio activo en un producto terminado, la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del procedimiento analítico a mezclas sintéticas de los componentes del producto farmacéutico al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del procedimiento. Si no resulta posible obtener muestras de todos los componentes del producto farmacéutico, se puede aceptar tanto el agregado de cantidades conocidas del analito al producto farmacéutico (“spike”) como la comparación de los resultados con los de un segundo procedimiento bien caracterizado, cuya exactitud haya sido comprobada o definida.



La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza.

Los documentos ICH recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración).

La evaluación de la exactitud puede efectuarse de varias maneras, incluyendo la evaluación de la recuperación del analito (porcentaje de recuperación) en todo el intervalo de la valoración, o evaluando la linealidad de la relación entre las concentraciones estimadas y las reales. El criterio estadístico de preferencia es que el intervalo de confianza para la pendiente esté comprendido dentro de un intervalo definido alrededor de 1,0; o alternativamente, que el valor de la pendiente sea cercano a 1,0. En ambos casos, tanto el intervalo como la definición de cercanía deberían especificarse respectivamente en el protocolo de validación.

4.4.1.2. Precisión.⁽¹⁾

Definición

La precisión expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas.

El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos. Los factores susceptibles de influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre



controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc.) de aquí la importancia del estudio de la precisión.

La precisión engloba diferentes tipos de estudios:

- Repetibilidad: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (por un mismo analista, con los mismos aparatos y reactivos, etc.), en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto. Se evalúa la precisión del sistema instrumental así como la precisión del método.
- Precisión intermedia: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio.
- Reproducibilidad: estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

La precisión de un método analítico se expresa generalmente como el coeficiente de variación de una serie de medidas.

En la siguiente tabla se resumen los factores que pueden o no pueden variar en el estudio de la repetibilidad, precisión intermedia y la reproducibilidad.

Tabla 2. Factores que pueden o no pueden variar en el estudio de la repetibilidad, precisión intermedia y la reproducibilidad.

	Repetibilidad	Precisión intermedia	Reproducibilidad
Instrumento	Igual	diferente	diferente
Día	Igual	diferente	diferente
Analista	Igual	diferente	diferente
Otros factores (reactivos, condiciones ambientales, etc.)	Igual	diferente	diferente
Laboratorio	Igual	igual	diferente



Determinación

Según la ICH Q2B el estudio de la precisión se debe realizar únicamente para la determinación cuantitativa de principios activos y cuantificación de impurezas. Por lo tanto la evaluación de la precisión no es necesaria ni en el ensayo de identificación ni en el test límite de impurezas.

- Repetibilidad

La repetibilidad se expresa matemáticamente por el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) de una serie de medidas.

Uno de los factores que más pueden influir en la repetibilidad del método de análisis es la concentración del analito, ya que la desviación estándar de las respuestas obtenidas aumenta al disminuir la concentración del analito.

- Repetibilidad del sistema instrumental: este parámetro estudia la variabilidad debida únicamente al instrumento, y se determina analizando repetidamente una misma muestra de forma consecutiva de 6 a 10 veces. En el caso que se desee analizar el principio activo de una materia prima o de una especialidad farmacéutica se prepara la muestra a la concentración nominal.
- Repetibilidad del método: el ensayo de repetibilidad del método se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio (preparación de muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo analista.

- Precisión intermedia

El objetivo del estudio de la precisión intermedia es determinar la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, en un mismo laboratorio pero en condiciones operativas diferentes.



En el estudio de la precisión intermedia se deben considerar aquellas circunstancias en las que se pretende desarrollar el método de ensayo. El analista debe evaluar los efectos causados al variar una serie de factores. Típicos factores a estudiar incluyen el día, el analista, el instrumento, etc. No es necesario estudiar cada uno de estos factores individualmente sino que es suficiente comprobar que la variabilidad aportada por el conjunto de factores está dentro de los límites establecidos.

Para estudiar los factores de una manera aleatoria se recomienda un estudio matricial y para cada combinación de éstos, las muestras deben ser preparadas independientemente como mínimo por triplicado.

El siguiente modelo es un diseño experimental donde se estudia la variación de los factores: día de análisis, analista e instrumento. En este modelo se presenta el caso particular de determinar la variación de los resultados obtenidos al considerar dos analistas, dos instrumentos y realizando el análisis tres días diferentes.

Tabla 3. Variación de los factores: analista, día e instrumento en la determinación de la precisión intermedia.

Instrumento A	Analista X	Día 1	Día 2	Día 3
	Analista Y	Día 1	Día 2	Día 3
Instrumento B	Analista X	Día 1	Día 2	Día 3
	Analista Y	Día 1	Día 2	Día 3

La estimación de la precisión intermedia se realiza con el cálculo del coeficiente de variación global de las respuestas obtenidas, es decir, considerando cada resultado independientemente.



4.4.1.3. Especificidad. ⁽¹⁾

Definición

Capacidad de un método analítico para medir y/o identificar simultánea o separadamente los analitos de interés, de forma inequívoca, en presencia de otras sustancias químicas que puedan estar presentes en la muestra.

Frecuentemente el término especificidad se utiliza como sinónimo del anterior, aunque debería reservarse para aquellas situaciones donde la respuesta obtenida sólo se puede producir con una única entidad química, algo que no es posible cuando se refiere a procedimientos analíticos que emplean instrumentación no específica. Como existen muy pocos métodos que den respuesta solo a un único analito, el término selectividad es normalmente más apropiado.

La presencia de interferencias puede tener distintos efectos en la determinación del analito como:

- Imposibilitar su inequívoca identificación (aparición de falsos positivos).
- Distorsionar la respuesta del analito (afectan normalmente a la pendiente y ordenada en el origen de la recta de calibrado). Este efecto puede delatar la presencia de interferencias desconocidas, aunque también puede ser consecuencia de recuperaciones no lineales.

La selectividad de un método analítico se debería determinar antes de iniciar el estudio de cualquier otro parámetro de validación, dado que debe conocerse en qué grado la respuesta del método es únicamente proporcionada por el analito, sin interferencia de otras sustancias relacionadas con él de una u otra forma.

Determinación

El parámetro de la selectividad es uno de los más importante en la validación de métodos ya que en el análisis farmacéutico la tendencia mayoritaria es la utilización de métodos lo más



selectivo posible, en el caso de presencia de otros componentes estos deben de tener escasa influencia en los resultados. Se debe tener la máxima información sobre impurezas, potenciales productos de degradación y posible interferencia de excipientes presentes en la muestra.

En la aplicación de la selectividad para ensayos de cuantificación de un compuesto o principio activo el método debe evitar la interferencia de excipientes, productos de degradación y/o impurezas en la respuesta proporcionada por el compuesto o el principio activo objeto de la evaluación analítica.

- Adición de interferencias

Se aplica a aquellos analitos para los que se tienen identificadas las posibles interferencias y éstas se encuentran disponibles de forma aislada. En estos casos se puede comprobar la selectividad comparando los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de dichas interferencias. Se evaluar a que nivel se producen y si es preciso modificar el método o añadir alguna técnica complementaria.

Para una forma farmacéutica y una materia prima los grupos de muestras que se preparan normalmente serían los siguientes:

Tabla 4. Grupos de muestras que normalmente se preparan las formas farmacéuticas y materia prima.

DETERMINACIÓN PARA LA FORMA FARMACÉUTICA	DETERMINACIÓN PARA LA MATERIA PRIMA
Matriz	Blanco
Analito	Analito
Matriz + Analito	Otra sustancias similares
Matriz + Analito + Impurezas (Disolventes residuales, trazas metálicas) + Productos de degradación...	Analitos + Productos de degradación + Impurezas (Disolventes residuales, trazas metálicas, reactivos de síntesis)...



La elección de la concentración en la que se realiza el estudio podría ser la teórica de trabajo para el principio activo u otros compuestos de interés y las interferencias a su límite máximo establecido. En caso de que se observen interferencias, su nivel puede evaluarse a partir del análisis de seis replicados y el grado de discrepancia entre las determinaciones en presencia o ausencia de las posibles interferencias, mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de discrepancia} = \frac{D_i - D_s}{D_s} * 100$$

Donde:

D_i : Absorbancia con interferencia (solución de placebo cargado).

D_s : Absorbancia sin interferencia (solución estándar).

4.4.1.4. Linealidad y Rango.

Definición ⁽¹⁾

La linealidad es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido. Siempre que sea posible se buscará una respuesta de tipo lineal que facilitará su trazado, interpelación e interpretación.

El rango se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito para el cual se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito.

Aunque el proceso lógico consistiría en evaluar cuáles son los límites de concentración en los que el método analítico pierde su linealidad, normalmente se toma como punto de partida un intervalo de concentraciones ya establecido de acuerdo con la experiencia, el conocimiento analítico de la técnica empleada y principalmente en función de las especificaciones.



Determinación ⁽²³⁾

La linealidad debe establecerse en el intervalo completo del procedimiento analítico. Debería establecerse inicialmente mediante examen visual de un gráfico de señales como función de concentración de analito del contenido. Si parece existir una relación lineal, los resultados de la prueba deberían establecerse mediante métodos estadísticos adecuados (por ejemplo, mediante el cálculo de una línea de regresión por el método de los cuadrados mínimos). Los datos obtenidos a partir de la línea de regresión pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. Se deberían presentar el coeficiente de correlación, la intersección con el eje de ordenadas, la pendiente de la línea de regresión y la suma de los cuadrados residuales.

El intervalo del procedimiento se valida verificando que el procedimiento analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo, al igual que dentro del intervalo.

La ICH recomienda que, para establecer la linealidad, se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones. También recomienda que se consideren los intervalos especificados mínimos de 80% a 120% de la concentración de prueba.

4.4.1.5. Robustez. ⁽¹⁾

Definición

La robustez de un método analítico es la medida de su capacidad para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros, proporcionando idea de su fiabilidad o "estabilidad" durante su empleo en rutina. Es por tanto la capacidad que demuestra el procedimiento de análisis para proporcionar resultados válidos en presencia de pequeños cambios respecto de las condiciones descritas en el método, susceptibles de producirse durante su utilización.

La robustez (Robustness) no debe confundirse con el término Ruggedness. El termino Ruggedness es el grado de reproducibilidad de los resultados mediante el análisis de las

Validación de la metodología analítica para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.



mismas muestras bajo una variedad de condiciones tales como diferentes laboratorios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, lotes de reactivos, días, tiempos, diferentes temperaturas, etc. Es decir, se sigue el método analítico dentro de los parámetros especificados en él, pero introduciendo en las condiciones experimentales las variaciones habituales de laboratorio a laboratorio. Da una idea de la influencia que tienen las variables ambientales y operacionales del método en los resultados, por lo que podría asimilarse al término reproducibilidad.

Determinación

La robustez se define junto con los parámetros de validación de un método analítico, no es considerado, todavía, un requisito necesario para registro de especialidades, sino que se trata de un estudio que surgió con el fin de resolver los problemas que se planteaban en la transferencia de métodos analíticos entre laboratorios. En estas circunstancias era frecuente que algún parámetro del método sufriera una variación que provocaba serias dificultades en la equivalencia entre los resultados de ambos centros de análisis, de modo que con el fin de identificar los factores potencialmente críticos surgió la necesidad de evaluar las fuentes de variación del método de análisis.

Todos los métodos, sea cual sea la técnica empleada, son susceptibles de ser sometidos a un estudio de robustez, algunos pueden tener muchos parámetros sobre los que actuar y otros menos, además estos no tienen por qué ser solo factores relacionados con la medida final, sino que pueden ser de cualquier etapa del procedimiento analítico, como por ejemplo la preparación de la muestra. Por esto, la primera etapa del estudio es precisamente analizar todo el método y definir qué factores son los que se esperan que influyan más en el resultado.

Antes de definir los factores de variación, hay que establecer donde se quieren estudiar su influencia. Dicho de otra forma, qué parámetros se van a medir en cada ensayo.

En el caso de un análisis cuantitativo resulta evidente que se debe analizar la influencia de cada variable sobre la concentración analítica calculada. El estudio de la influencia sobre



varios parámetros nunca implica la realización de más ensayos, si no que puede hacer a partir de los mismos.

Los factores a evaluar en cualquier método de análisis puede ser cuantitativos (influencia del valor de pH del solvente, valor de la temperatura ambiental, en algunos casos influencia de la luz, etc.) como cualitativos (fabricante de la celda de validación, fabricante de un determinado reactivo o cristalería, etc.).

- Factores que pueden variar para la técnica analítica UV-Vis para determinar la robustez:
 - La celda de validación.
 - El equipo UV-Vis.
 - El solvente (proporción de mezcla de solvente, concentración del solvente, pH del solvente, ect.).
 - La longitud de onda de máxima absorción del analito.

La robustez de un método decidido a encontrar la influencia de las fluctuaciones leves de las condiciones de un determinado método analítico sobre el resultado de la determinación final. Esta permite identificar las variables que tendrían un efecto significativo en el desempeño de un método de análisis dado, cuanto mayor es la influencia de pequeños cambios en los parámetros de los procesos de medición en los resultados de la determinación final, mayor será la desviación del método.

Es por eso que la robustez es un parámetro relativo en los cambios de las condiciones internas, sin embargo, la resistencia (flexibilidad) es uno de los parámetros que describe la utilidad de un determinado método de análisis en diferentes condiciones, puede ser estimado a partir de la reproducibilidad.



4.4.1.6. Idoneidad.

Definición ⁽¹⁾

Consiste en un conjunto de ensayos que permiten comprobar en el momento de utilización del método, que el sistema, (analista, reactivos e instrumental) es adecuado para llevar a cabo la determinación para la que se ha establecido y validado dicho método. Por lo tanto, el test de idoneidad del sistema se ha de entender como parte integrante del procedimiento de análisis y requisito previo a su realización.

Determinación ⁽¹⁾

El test de idoneidad del sistema es susceptible de emplearse en cualquier procedimiento de medida en el que las condiciones analíticas puedan estar sometidas a variación de las condiciones operacionales.

Este test no sólo debe circunscribirse al ámbito de la determinación final sino que puede diseñarse con el fin de comprobar la idoneidad de cualquier etapa del procedimiento, como por ejemplo la preparación de la muestra.

Los ensayos de idoneidad del sistema que se establezcan vendrán dados por el conocimiento adquirido del método y la viabilidad de su empleo en rutina debiendo corresponderse con los valores mínimos para los que los parámetros estudiados permanecen dentro de las especificaciones establecidas.

Estos ensayos no sólo demuestran que el sistema se encuentra en perfectas condiciones para realizar el análisis sino que también permiten establecer el criterio por el que modificar las condiciones analíticas descritas en el procedimiento con el fin de alcanzar la idoneidad.

Los parámetros para determinar la idoneidad del sistema en ensayos de cuantificación por métodos espectrofotométricos se pueden agrupar en 2 categorías:



- Precisión de la idoneidad del sistema

Se evalúa mediante el cálculo del coeficiente de variación de los resultados obtenidos tras el análisis de una serie de replicados de una muestra. La USP 24 establece como criterio un coeficiente de variación igual o inferior al 2% en las lecturas de 5 replicados (o realizarlo sobre 6 replicados si el requerimiento es superior al 2%). ⁽¹⁾

- Parámetros espectrofotométricos
 - Exactitud de la longitud de onda (Espectral): es el grado de concordancia entre la longitud de onda de máxima absorción de una sustancia y la longitud de onda de máxima absorción de referencia de dicha sustancia. ⁽⁴⁾ Verificar la exactitud de la longitud de onda utilizando las longitudes de máximas de absorción de la solución estándar de perclorato de holmio. ⁽⁶⁾

Tabla 5. Criterio de aceptación para la exactitud de la longitud de onda.

Región	Longitud de máxima absorción teórica	Rango de aceptación
Ultravioleta	241.15 nm	240.15 nm – 242.15 nm
	287.17 nm	286.17 nm – 288.17 nm
	361.5 nm	360.5 nm – 362.5 nm
Visible	536.3 nm	533.3 nm – 539.3 nm

- Linealidad fotométrica: es la capacidad de respuesta lineal de un espectrofotómetro a diferentes concentraciones de una misma sustancia a la misma longitud de onda cumpliendo la ley de Lambert-Beer. ⁽⁴⁾ Preparar soluciones estándar de dicromato de potasio a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 mg/mL en ácido sulfúrico 0.005 M y determinar los valores de absorbancia leídas a las longitudes de onda de 235, 257, 313 y 350 nm. Coeficiente de variación debe ser mayor a 0.99%. ⁽²¹⁾



- Exactitud fotométrica: es el grado de concordancia entre la absorbancia de una sustancia de referencia y la absorbancia obtenida en la lectura de dicha sustancia. ⁽⁴⁾ Comprobar la exactitud fotométrica utilizando una solución estándar de dicromato de potasio a las longitudes de onda indicadas en la tabla, calcular la absortividad específica y comparar los valores para cada longitud de onda el valor exacto y los límites permitidos de la absortividad específica. ⁽⁶⁾

Tabla 6. Criterio de aceptación para la exactitud fotométrica.

Parámetros evaluados		Especificación
Longitud de onda (nm)	E (1%, 1cm)	
235	124.5	122.9 – 126.2
257	144.5	142.8 – 146.2
313	48.6	47.0 – 50.3
350	107.3	105.6 – 109.0

- Precisión fotométrica: es la medida de la dispersión de una serie de mediciones de absorbancia o transmitancia alrededor de la media. ⁽⁴⁾ Se puede determinar leyendo una solución estándar de 60 mg de dicromato de potasio en 1000 mL de ácido sulfúrico 0.005 M a longitudes de onda de 235 nm, 257 nm, 313 nm y 350 nm y calcular el coeficiente de variación que debe ser menor que 1.0%. ⁽⁶⁾
- Luz dispersa: luz detectada a cualquier longitud de onda que cae fuera de la anchura de banda de la longitud de onda seleccionada. ⁽¹⁹⁾ Se puede comprobar la luz dispersa determinando la absorbancia de una solución estándar de cloruro de potasio de 12 g/L en una celda de 1 cm a 200 nm siendo mayor que 2,0 cuando se compara con el agua como líquido de compensación. ⁽⁶⁾
- Resolución: es la habilidad que tiene el espectrofotómetro para diferenciar entre dos longitudes de onda adyacentes. ⁽¹⁹⁾ Registre el espectro de una solución estándar de tolueno en hexano 0.02% V/V. La relación mínima de la absorbancia en el máximo a 269 nm con respecto a la de mínimo en 266 nm se



indica en la monografía. Calcular la diferencia de las absorbancia con la siguiente ecuación: ⁽²¹⁾

$$R = A_{\lambda_{\text{máx}}} / A_{\lambda_{\text{min}}}$$

Tabla 7. Criterio de aceptación para la resolución.

Parámetros evaluados	Especificación
$R = A_{\lambda_{\text{máx}}} / A_{\lambda_{\text{min}}}$	> 1.5

4.5. PASOS PARA LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO. ⁽⁵⁾

Cada validación de un procedimiento consiste en tres pasos:

- Establecimiento del protocolo de validación.
- Realización de la validación.
- Elaboración del informe de validación.

4.5.1. ESTABLECIMIENTO DEL PROTOCOLO DE VALIDACIÓN.

El protocolo de validación deberá contener al menos la siguiente información:

- 1- Debe incluir una identificación única o código.
- 2- El objetivo y alcance.
- 3- Responsables de las actividades de validación.
- 4- La definición del sistema a validar.
- 5- Procedimiento para la identificación de los parámetros a validar.
- 6- El diseño del plan experimental (incluyendo el muestreo si aplica).
- 7- Equipos y su calificación adecuada al uso (incluye trazabilidad).
- 8- Descripción del método.
- 9- Los criterios de aceptación.
- 10- Debe ser específico para cada tipo de muestra y método.
- 11- Debe ser firmado y fechado por las personas responsables de la validación y aprobación.



- Objetivo: exposición de la finalidad de la validación y propuestas de fechas de inicio y finalización de la evaluación.) .
- Alcance: delimitación de tipo de muestra, matriz, analito, rango de concentración, técnica analítica, etc.) Formula cuali-cuantitativa cuando aplique. Aplica en casos de análisis de formulación conocida.
- Responsables: personal a cargo de la validación: Analista(s), responsable(s) de la Validación, Jefe de Laboratorio, Responsable de Calidad. Debidamente autorizado para tal fin.
- Procedimiento para la determinación de los parámetros a validar: los parámetros de desempeño a estudiar se seleccionan en función de las características de la muestra, tipo de método analítico y rango de concentración del analito.
- Muestreo: el muestreo se realiza de acuerdo con procedimientos escritos, (si aplica) en los cuales se indican los sistemas de identificación y tratamiento previo de las muestras, si se precisan placebos. (En caso de análisis de formulación conocida).
- Equipos involucrados en la validación: se mencionan los equipos implicados en el proceso de validación (pHmetros, balanzas, cromatógrafos, etc.), y documentar que están convenientemente calificados y adecuados a la mediciones a realizarse y calibrados, referenciando estos datos en el informe de validación.
- Descripción del método analítico: debe describirse el método tal cual será puesto en el uso rutinario, detallando todos los elementos abajo mencionados, y haciendo énfasis en puntos críticos de la metodología, condiciones instrumentales y número de repeticiones, verificación de idoneidad de las condiciones operatorias definidas, fórmulas para el cálculo de resultados y su tratamiento estadístico si es necesario, bibliografía y referencias.
 - Reactivos
 - Estándares
 - Materiales
 - Instrumentación
 - Condiciones ambientales
 - Medidas de seguridad para el uso de reactivos



- Preparación de reactivos
 - Preparación de estándares
 - Preparación de la muestra
 - Procedimiento
 - Cálculos
- Criterios de aceptación: se establecerá a priori para cada uno de los parámetros, basándose en las necesidades o finalidad del método y en la información recogida durante la fase de desarrollo del procedimiento analítico.

4.5.2. REALIZACIÓN DE LA VALIDACIÓN.

Una vez se ha aprobado el protocolo se procede a hacer la validación de acuerdo al mismo. Aquí se incluye el proceso de cálculo estadístico de los distintos parámetros evaluados.

4.5.3. ELABORACIÓN DEL INFORME DE VALIDACIÓN.

El informe de validación contendrá la información suficiente para poder concluir acerca de la validación que se ha desarrollado. Debe incluir:

- 1- Protocolo de validación (o hacer referencia al mismo a través de un código).
- 2- Resultados Analíticos.
- 3- Resultados Estadísticos.
- 4- Interpretación de resultados.
- 5- Conclusiones.
- 6- Declaración de aptitud del Método al uso previsto y
- 7- Cuando aplique el certificado de validación el cual podrá incluir:
 - Analito evaluado
 - Matriz o matrices ensayadas
 - Técnica utilizada



- Documentos relacionados (protocolos, procedimientos, instrucciones de trabajo)
- Rango Validado
- Cuadro resumen con los resultados de los parámetros de desempeño evaluados.
- Analistas autorizados para la realización del ensayo.

Además será autorizado por o las personas asignadas por el laboratorio.



GENERALIDADES DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA

4.6. CONCEPTOS GENERALES DE ESPECTROFOTOMETRÍA.

La espectroscopia estudia las interacciones de la radiación con la materia, miden la cantidad de radiación que producen o absorben las especies moleculares o atómicas de interés. ⁽²²⁾

Los métodos espectroscópicos se clasifican según la región del espectro electromagnético utilizado para las mediciones. Las regiones del espectro que se han utilizado abarcan los rayos gamma, rayos X, radiación ultravioleta (UV), radiación infrarroja (IR), microondas y radiofrecuencias. ⁽²²⁾

La espectrofotometría ultravioleta es el conjunto de técnicas que utilizan la luz para medir concentraciones químicas en la región visible del campo electromagnético. Se utiliza para la cuantificación de especies orgánicas, inorgánicas y bioquímicas. ⁽⁸⁾

La espectrofotometría ultravioleta se basa en la interacción de luz radiante con grupos funcionales orgánicos no saturados, denominados grupos cromóforos, de las sustancias a longitudes de 180 a 380 nm en el espectro electromagnético. ⁽²²⁾

4.6.1. PROPIEDADES DE LA LUZ. ⁽²²⁾

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite por el espacio a enorme velocidad, en la región ultravioleta a la radiación electromagnética se le denomina luz.

La radiación electromagnética puede describirse como una onda electromagnética que posee las siguientes características:

- Amplitud: es una cantidad vectorial con la que se mide la fuerza del campo eléctrico o magnético en un punto máximo de la onda.
- Periodo: es el tiempo en segundos necesarios para que máximos o mínimos sucesivos crucen un punto en el espacio.



- Frecuencia: es el número de oscilaciones que ocurren en 1 s.
- Longitud de onda: es la distancia lineal entre un máximo o mínimo sucesivos de una onda.
- Número de onda: Es número de ondas por centímetros.

4.6.2. PROCESO DE ABSORCIÓN DE LUZ. ⁽²²⁾

En la espectroscopia se emplea la interacción de la radiación, como se dijo anteriormente en la región visible se le denomina luz, con la materia para obtener información sobre la muestra, la muestra es estimulada al aplicar energía en forma de luz en el que pasa de su estado de energía más bajo o estado fundamental a un estado de mayor energía o estado excitado, se obtiene información sobre el analito al medir la luz emitida conforme regresa al estado fundamental o al cuantificar la luz que se absorbe como resultado de la excitación.

En la espectrofotometría de absorción se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda lo que proporciona información cuantitativa y cualitativa sobre la muestra, estos resultados suele expresarse gráficamente como un espectro, que es una gráfica de la luz absorbida en función de la longitud de onda.

Un espectro de absorción es una gráfica de la absorbancia frente a la longitud de onda.

4.6.3. ESPECIES ABSORBENTES. ⁽²²⁾

La absorción de radiación ultravioleta por parte de las moléculas ocurre en una o más bandas de absorción electrónicas, cada una de las cuales se compone de muchas líneas muy juntas pero discretas. Cada línea surge de la transición de un electrón del estado fundamental a uno de los muchos estados de energía vibratorio y rotario relacionados con cada estado de energía electrónica excitado.

La absorción de radiación por moléculas orgánicas en la región de longitud de onda entre 180 y 780 nm resulta de la interacción de fotones y electrones que participan de manera



directa en la formación de enlace o que se localizan en torno a átomos como los de oxígeno, azufre, nitrógeno y halógenos.

La longitud de onda a la que absorbe una molécula orgánica depende de la fortaleza de los enlaces de sus electrones. Los electrones compartidos en los enlaces simples carbono-carbono o carbono-hidrógeno están sujetos con tal firmeza que su excitación requiere energías que corresponden a la longitud de onda de la región ultravioleta al vacío inferior a 180 nm.

Los electrones de enlaces dobles y triples de moléculas orgánicas se sujetan con menos fuerza, por tanto, se excitan mediante radiación con más facilidad. Los grupos funcionales orgánicos no saturados que absorben en las regiones ultravioleta se llaman cromóforos, como por ejemplo alquenos, alquinos, carbonilos, carboxilos, amino, nitroso, nitrato, aromáticos, etc.

Los compuestos orgánicos saturados que contiene heteroátomos, como el oxígeno, nitrógeno, azufre o halógenos poseen electrones no compartidos que se pueden excitar mediante radiación en el intervalo de 170 a 250 nm.

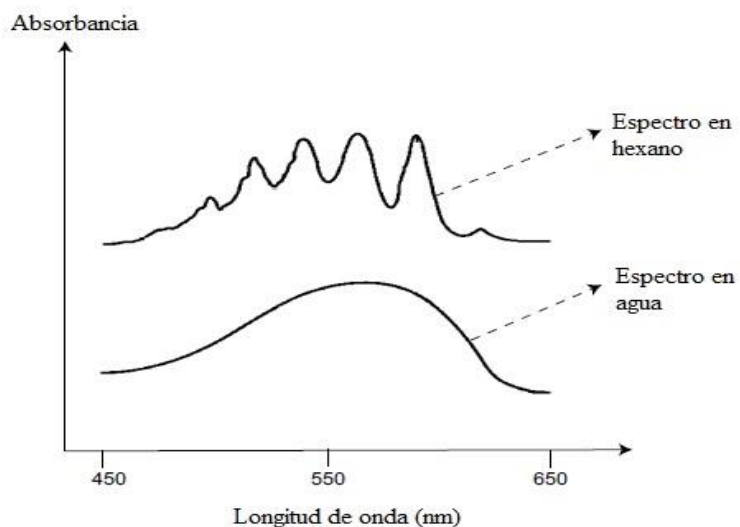
4.6.4. FACTORES QUE DEPENDE LA ABSORBANCIA. ⁽⁷⁾

Los factores por los cuales puede variar la absorción de luz en un analito son:

- Longitud de onda de máxima absorción.
- Solvente.



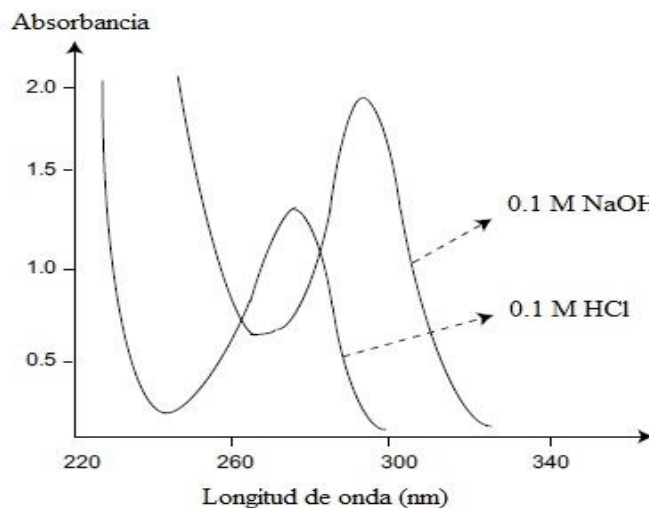
Figura 2. Variación del espectro de absorción de un mismo analito en distintos solventes.



La absorción de radiación depende del solvente. Espectro ultravioleta de tetrazol en *n*-hexano y en agua

- pH (cuando la sustancia es un ácido o una base).

Figura 3. Variación del espectro de absorción de un mismo analito en distintos pH.



La absorción de la radiación depende del pH. Espectros ultravioleta de fenilefrina en 0,1 M NaOH y HCl 0,1 M)

- Temperatura (en extensiones relativamente pequeñas).



Es importante que estos parámetros sean los mismos para las soluciones estándar y la solución de muestra. Si no es así, pueden producirse errores significativos en las determinaciones cuantitativas.

Cuando es imposible producir soluciones estándar dentro del mismo disolvente y pH como en la solución de muestra, la calibración es ligeramente más complicada. Esto se debe a que la absortividad de la sustancia en la solución patrón puede ser diferente de la de la solución de muestra. En tales situaciones debe utilizarse una adición estándar. En una adición estándar se añade una cantidad conocida de una sustancia de referencia química del analito a la solución de muestra y la absorbancia se mide tanto antes como después de la adición de la sustancia de referencia. Entonces, la concentración de analito se calcula de acuerdo con la ley de Beer. Con una adición estándar, la calibración se realiza directamente en la solución de muestra para evitar cualquier variación experimental entre las soluciones muestras y las soluciones estándar de disolvente, el pH y la posible presencia de otras sustancias.

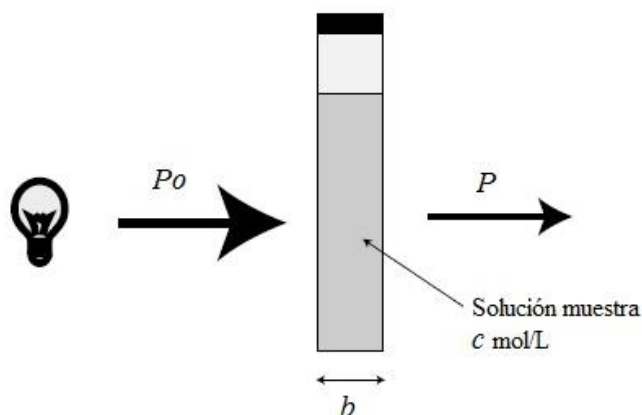
4.7. LEY DE BEER. ⁽²²⁾

La ley de la absorción, también llamada ley de Beer-Lambert o simplemente la ley de Beer, indica cuantitativamente la forma en que el grado de atenuación depende de la concentración de las moléculas absorbentes y de la longitud del trayecto en el que ocurre la absorción. Cuando la luz atraviesa un medio que contiene un analito absorbente, disminuye su intensidad como consecuencia de la excitación del analito. Cuanto más largo sea el medio por el que pasa la luz (longitud del trayecto de la luz), en el caso de una solución del analito de concentración dada, existirán más moléculas o átomos absorbentes en el trayecto y, por tanto, mayor será la atenuación. Además, para una longitud de trayecto dada de la luz, cuanto mayor sea la concentración de los átomos o moléculas absorbentes, tanto mayor será la atenuación.

La atenuación de un haz paralelo de radiación monocromática en su paso por una solución absorbente con un grosor de b cm y con concentración c mol/L es provocado por las interacciones de los fotones con las partículas absorbentes debido a esto la fuerza radiante

del haz se reduce de P_o a P (donde P_o es la intensidad del haz de luz incidente en la muestra y P es la intensidad del haz de luz incidente transmitida por la muestra).

Figura 4. Absorción y transmisión de luz en una solución.



La transmitancia T de la solución es la fracción de radiación incidente que se transmite en la solución. Es frecuente que se exprese como porcentaje, denominado porcentaje de transmitancia.

$$T = P/P_o$$

Ecuación de la transmitancia.

- Absorbancia

La absorbancia A de una solución se relaciona con la transmitancia de manera logarítmica.

$$A = -\log T = \log P_o/P$$

La transmitancia se reduce a medida que aumenta la absorbancia de la solución y viceversa.



- Ecuación de la ley de Beer

Según la ley de Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente c y a la longitud del trayecto b del medio de absorción, como se expresa en la ecuación:

$$A = \log P_o/P = abc$$

Aquí, a es la constante de proporcionalidad llamada absortividad. Dado que la absorbancia es una cantidad sin unidad la absortividad debe tener unidades que elimine a las de b y c . Por ejemplo, si c tiene como unidades g L^{-1} , y b tiene cm , la absortividad posee las unidades de $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Cuando se expresa la concentración de la ecuación con moles por litro, y b en centímetros, la constante de proporcionalidad se llama absortividad molar y recibe el símbolo especial ϵ . Así,

$$A = \epsilon bc$$

Donde ϵ tiene las unidades $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

4.7.1. APLICACIONES DE LA LEY DE BEER.

La ley de Beer puede emplearse de diversas maneras, es posible calcular la absortividad molar de especies cuando se conoce la concentración. También puede calcularse la concentración empleándose el valor de la absorbancia medido si se tienen los valores de la absortividad y longitud del trayecto. Sin embargo, la absortividad es en función de variables como el disolvente, la composición de la solución y temperatura. Dadas las variaciones de la absortividad según las condiciones de medida, no es aconsejable depender de valores de la literatura para trabajos cuantitativos. Así pues, se utiliza una solución patrón de analito en el mismo disolvente y a temperatura similar para obtener la absortividad en el momento del análisis. Lo más frecuente es recurrir a una serie de soluciones patrón del analito para preparar una curva de calibración de la absorbancia frente a la concentración y así obtener una



ecuación de regresión lineal. Podría ser necesario duplicar la composición general de la solución del analito para compensar los efectos de la matriz. En ocasiones se recurre al método de adición estándar para el mismo propósito.

4.7.2. LIMITACIONES DE LA LEY DE BEER.

4.7.2.1. Limitaciones reales de la ley de Beer.

La ley de Beer describe el comportamiento de absorción sólo en soluciones diluidas y, en este sentido, es una ley límite. En concentraciones superiores a 0.01 M, la distancia promedio entre los iones o moléculas de la especie absorbente disminuye hasta tal punto que cada partícula afecta a la distribución de carga, y por tanto a la magnitud de la absorción, de las partículas vecinas. La magnitud de la interacción depende de la concentración, por lo que la aparición de este fenómeno causa desviaciones en la relación lineal de la absorbancia con la concentración. En ocasiones, ocurre un efecto similar en soluciones diluidas de absorbentes que tiene concentraciones muy altas de otras especies, en particular de electrolitos. Cuando los iones están muy cerca unos de otros, la absorptividad molar del analito puede alterarse debido a las interacciones electrostáticas, lo que da lugar a desviaciones respecto de la ley de Beer.

4.7.2.2. Desviaciones químicas.

Estas aparecen cuando la especie absorbente experimenta asociación, disociación o reacción con el disolvente y se generan productos cuya absorción es diferente a la del analito. La magnitud de tales desviaciones puede predecirse a partir de la absorptividad molar de las especies absorbente y de las constantes de equilibrio de las reacciones. Los equilibrios característicos que originan este efecto abarcan los equilibrios de monómero-dímero, de complejación metálica con más de un tipo de complejo, los equilibrios ácido-base y de asociación del disolvente-analito.



4.7.2.3. Desviaciones instrumentales.

- Radiación policromática

La ley de Beer se aplica en sentido estricto sólo cuando se realizan medidas con radiación monocromática. En la práctica se utilizan las fuentes policromáticas, con distribución continua de longitudes de onda, junto con una rendija, o un filtro para aislar una banda casi simétrica de longitudes de onda en torno a la longitud que se requiere.

- Luz parásita

La radiación parásita, normalmente denominada luz parásita, se define como la radiación debida al instrumento y que está fuera de la banda de longitud de onda nominal seleccionada para la medida. Esta radiación parásita proviene de la dispersión y reflexión de la superficie de las rejillas, lentes o espejos, filtros y ventanas.

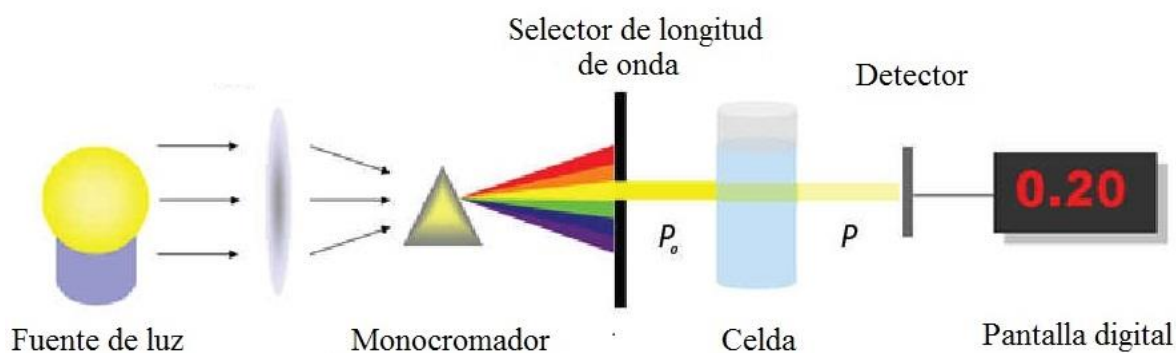
4.7.2.4. Celdas distintas.

Si las celdas que contienen las soluciones del analito y del blanco no son de igual longitud de trayecto ni equivalentes en sus características ópticas, ocurre una intersección en la curva de calibración, éste error puede evitarse empleando celdas iguales o con un procedimiento de progresión lineal para calcular la pendiente e intersección de la curva de calibración. En la mayoría de los casos, esta última es la mejor estrategia, ya que también puede presentarse este tipo de error si la solución blanco no compensa por completo las interferencias. Otra forma de evitar el problema de celdas ópticamente distintas es instrumentos de un solo haz consiste en emplear sólo una celda y mantenerla en la misma posición para las medidas del blanco y el analito. Después de obtener la lectura del blanco, se vacía la celda por aspiración, se lava y se llena con la solución del analito.

4.8. INSTRUMENTACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA. ⁽³⁾

Un espectrofotómetro es un instrumento que descompone la radiación policromática en distintas longitudes de onda el cual consta de: 1) una fuente de radiación continua en las longitudes de onda que interesan; 2) un monocromador para seleccionar una banda angosta de longitudes de onda del espectro de la fuente; 3) una celda para la muestra; 4) un detector o transductor, para convertir energía radiante en energía eléctrica, y 5) un instrumento para interpretar la respuesta del detector. La muestra puede estar antes o después del monocromador.

Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro ultravioleta.



4.8.1. FUENTE DE LUZ.

La fuente debe tener una producción de radiación fácilmente detectable en la región de longitudes de onda para la cual está diseñado el instrumento. Sin embargo, ninguna fuente tiene una emisión espectral constante.

Para la región ultravioleta, en general se usa como fuente un tubo de descarga de hidrógeno o de deuterio a baja presión. Los dos se pueden usar desde 185 hasta 375 nm, pero la fuente de deuterio tiene unas tres veces la salida espectral de la de hidrógeno. Las fuentes de ultravioleta deben tener una ventana de cuarzo, porque el vidrio no es transparente a esa radiación. Con frecuencia tienen enfriamiento por agua para disipar el calor generado.



4.8.2. MONOCROMADOR.

Un monocromador está formado principalmente por lentes o espejos que enfocan la radiación por rendijas de entrada y salida que restringen radiación indeseable y ayudan a controlar la pureza espectral que emite el monocromador, y por un medio dispersante para “separar” las longitudes de onda de la radiación policromática procedente de la fuente. Hay dos tipos básicos de elementos dispersores: el prisma y la rejilla de difracción.

- Prismas

Cuando la radiación electromagnética atraviesa un prisma se refracta debido a que el índice de refracción del material del prisma es diferente al del aire. El índice de refracción depende de la longitud de onda, y por tanto el grado de refracción también. Las longitudes de onda cortas se refractan más que las mayores. El efecto de la refracción consiste en “dispersar” la radiación en sus diferentes longitudes de onda. Al girar el prisma se puede hacer que por una rendija de salida pasen diferentes longitudes de onda y lleguen a la muestra. Un prisma funciona en forma satisfactoria en las regiones de ultravioleta y visible, y también se puede usar en la región infrarroja. Sin embargo, debido a su dispersión no lineal, éste opera con mayor eficacia en las longitudes de onda menores. En la región ultravioleta se pueden usar prismas y lentes de cuarzo o sílice fundido.

- Rejillas de difracción

Se componen de una gran cantidad de líneas (ranuras) paralelas trazadas en una superficie muy pulida, como de aluminio; para las regiones ultravioleta y visible son de 15000 a 30000 líneas por pulgada. Las ranuras funcionan como centros de dispersión para los rayos que llegan a la rejilla. El resultado es una dispersión igual para todas las longitudes de onda, con determinado orden; esto es, la dispersión es lineal. El poder de resolución depende de la cantidad de ranuras trazadas, pero en general el poder de resolución de las rejillas es mejor que el de los prismas, y las rejillas se pueden usar en todas las regiones del espectro. Se



adaptan en particular a la región infrarroja debido a su dispersión homogénea de las longitudes de onda grandes.

4.8.3. CELDAS PARA MUESTRAS

La celda que contiene a la muestra (en general una solución), naturalmente debe ser transparente en la región de longitudes de onda que se esté midiendo. El material más utilizado para celda que se van a utilizar en la región ultravioleta es el cuarzo. Las celdas que usan los espectrómetros en visible y ultravioleta suelen ser prismas rectangulares huecos de 1 cm de ancho entre sus paredes paralelas internas, aunque pueden usarse celdas de diversas longitudes de paso y volúmenes.

4.8.4. DETECTORES UV-Vis

- Fototubo

Un fototubo o fotocelda es de uso común en las regiones ultravioleta y visible. Éste consiste de un cátodo fotoemisor y un ánodo. Se aplica un alto voltaje entre ánodo y cátodo. Cuando un fotón entra por la ventana del tubo y llega al cátodo se emite un electrón que es atraído hacia el ánodo, haciendo que pase una corriente que se puede amplificar y medir. La respuesta del material fotoemisor depende de la longitud de onda, y se dispone de diversos fototubos para las diferentes regiones del espectro.

- Fotomultiplicador

Un tubo fotomultiplicador es más sensible que un fototubo en las regiones visible y ultravioleta. Se compone de un cátodo fotoemisor con el que choca el fotón, y una serie de electrodos (dinodos), cada uno a un potencial más positivo (de 50 a 90 V) que el anterior.

Cuando un electrón llega a la superficie fotoemisora, se emite un electrón primario liberado de la superficie fotoemisora se acelera hacia el primer dinodo. El impacto del electrón sobre



la superficie del dinodo causa la liberación de muchos electrones secundarios, que a su vez son acelerados hacia el siguiente electrodo, donde cada electrón secundario libera más electrones, y así sucesivamente, hasta alcanzar unas 10 etapas de amplificación. Por último, los electrones se colectan en el ánodo. A su vez, la salida final del tubo fotomultiplicador se puede amplificar electrónicamente. Los distintos tubos fotomultiplicadores tienen diferentes características de respuesta que dependen de la longitud de la onda.

- Serie de diodos

Se usan para registrar simultáneamente todo un espectro y consiste en cientos de fotodiodos de silicio, lado a lado, sobre un solo chip o cristal de silicio. Cada uno tiene un capacitor de almacenamiento correspondiente que recopila e integra la fotocorriente generada cuando los fotones chocan con el fotodiodo. Su lectura es por descarga periódica, y tardan entre 5 y 100 ms para leer todo el conjunto. Si la radiación dispersa en sus distintas longitudes de onda cae sobre la superficie del grupo de diodos, puede registrarse un espectro.



5. HIPÓTESIS.

El método espectrofotométrico UV/Visible para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral cumple con los parámetros de desempeño de validación establecidos en el RTCA 11.03.39: 06 y USP36/NF31 para procedimientos analíticos categoría I así como con los parámetros adicionales evaluados como Robustez, Idoneidad y Estabilidad de las soluciones.



6. DISEÑO METODOLÓGICO.

6.1. TIPO DE ESTUDIO.

Experimental prospectivo.

6.2. ALCANCE.

Cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.

6.3. ÁREA DE ESTUDIO.

Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM) de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN – León.

6.4. POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Placebo de albendazol suspensión oral lote 100517 producido en el Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller.

6.5. MUESTRA.

Se requirieron 26 frascos de placebo de albendazol suspensión oral lote 100517 de los cuales 13 fueron destinados como muestras de análisis y 13 fueron muestras retenidas (contra muestras).⁽¹⁵⁾



6.6. UNIDAD DE ANÁLISIS.

Frascos de placebo de Albendazol suspensión oral lote 100517.

6.7. PLAN DE ANÁLISIS.

Los datos de las absorbancias se ingresaron en la hoja de cálculos estadísticos de Microsoft Excel, se obtuvieron resultados estadísticos presentados a través de tablas y gráficos que luego fueron analizados en relación con las especificaciones de los parámetros de desempeño de validación.

6.8. VARIABLES DE ESTUDIO.

Según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos y la Farmacopea de los Estados Unidos de América USP36/NF31 para procedimientos analíticos de categoría I (Ensayos de cuantificación del (los) principio(os) activo(os)) se deben de evaluar los siguientes parámetros de validación:

- Especificidad
- Exactitud
- Precisión
- Linealidad y Rango

También se evaluaron parámetros adicionales:

- Robustez
- Idoneidad
- Estabilidad de las soluciones



6.9. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

Tabla 8. Operacionalización de las variables.

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADORES
Especificidad	Capacidad de evaluar, medir e identificar simultánea o separadamente, los analitos de interés de forma inequívoca sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles presentes en la matriz de la muestra.	Identificación de albendazol en preparación de estándar secundario de albendazol. Positivo. Identificación de albendazol en preparación de placebo de albendazol. Negativo. Identificación de albendazol en preparación de placebo cargado de albendazol. Positivo. Porcentaje de discrepancia < 4%.
Exactitud	Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese método y el valor verdadero.	Promedio del % Recuperado $100.00 \pm 2.0\%$ Coeficiente de variación < 2% Comparación de medias (Prueba de <i>t</i> -student) $t_{exp} < t_{tabla}$ Test de Cochran. $G_{exp} < G_{tabla}$
Precisión	Expresa el grado de concordancia entre una serie de mediciones individuales obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea original o bien a partir de varias muestras obtenidas por dilución de la muestra bajo condiciones establecidas.	Promedio del % Recuperado $100.00 \pm 2.0\%$ Coeficiente de variación < 2.0%
Linealidad y rango	La linealidad es la capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directa o por medio de una transformación	Coeficiente de variación < 2% Coeficiente de determinación (r^2) > 0.98 Coeficiente de determinación lineal (r) > 0.99 Ecuación de regresión lineal $y = bx + a$



	matemática bien definida, a la concentración del analito en la muestras en un intervalo dado. El rango es el intervalo entre las concentración superior e inferior de analito para el cual se ha demostrado correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito.	Significación estadística del intercepto (a) $t_{exp} < t_{tab}$ Significación estadística de la pendiente (b) $t_{exp} > t_{tab}$ Test de Cochran $G_{exp} < G_{tab}$ Análisis de varianza (ANOVA) $F1_{exp} > F1$ $F2_{exp} < F2$ Análisis de residuales (gráfico).
Robustez	Es la medida de su capacidad para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros.	Promedio del % Recuperado $100.00 \pm 2.0\%$ Coefficiente de variación $< 2.0\%$
Idoneidad	Conjunto de ensayos que permiten comprobar en el momento de utilización del método que el sistema (analista, reactivos e instrumentos) es adecuado para llevar a cabo la determinación para la cual se ha establecido y validado dicho método.	Coefficiente de variación $< 2.0\%$
Estabilidad	La estabilidad de los estándares y muestras se establecen en las condiciones normales de análisis, condiciones normales de almacenamiento y a veces en el instrumento, para determinar si las condiciones especiales de conservación son necesarias, por ejemplo, refrigeración o protección contra la luz	Promedio del % Recuperado $100.00 \pm 2.0\%$



6.10.EQUIPO E INSTRUMENTAL ANALÍTICO.

Tabla 9. Equipos.

EQUIPOS	DESCRIPCIÓN
Espectrofotómetro UV-Vis	Marca: Varian Inc. Modelo: Cary 50
Balanza analítica	Marca: A&D Modelo: HM-120
Campana de vacío	Marca: Labconco Modelo: -
Horno	Marca: Fisher Scientific Modelo: Isotemp Oven
Desecador	Marca: - Modelo: -
Agitador magnético y magneto	Marca: SYBRON Modelo: 7200
Refrigeradora	Marca: Oster

Tabla 10. Instrumental analítico.

INSTRUMENTAL ANALÍTICO	DESCRIPCIÓN
Celda 1	Marca: Varian Uso: UV-Visible Tamaño: 1 cm. Cuarzo
Celda 2	Marca: PerkinElmer Uso: UV-Visible Tamaño: 1 cm. Cuarzo



Matraces volumétricos clase A	Marca: Pyrex Capacidad: 100, 250, 500 y 1000 mL.
Beaker	Marca: Pyrex Capacidad: 250 y 500 mL
Erlenmeyer	Marca: Pyrex Capacidad: 250 mL
Bureta clase A de 25 mL	Marca: Pyrex Capacidad: 25 ML Tolerancia: a 20 °C $\pm$ 0.03 mL
Probeta	Marca: Pyrex Capacidad: 10, 25 y 50 mL
Pipeta volumétrica clase A	Marca: FISHERDbrand Capacidad: 2, 4, 6 y 8 mL
Pipeta serológica clase A	Marca: Kimax Capacidad: 1, 2 y 10 mL
Frasco de gotero de vidrio	Marca: - Capacidad: 50 mL
Espátula	Uso: Analítico Material: Acero inoxidable
Soporte universal	Marca: Fisher Scientific
Pesa filtro	Marca: - Capacidad: -
Computadora laptop	Marca: Acer Modelo: Aspire V5 Software: Windows 8.1 Pro.
Calculadora	Marca: Casio Modelo: Fx-82MS



6.11.REACTIVOS.

Tabla 11. Reactivos.

REACTIVOS		
NOMBRE	FÓRMULA QUÍMICA	GRADO
Ácido clorhídrico	HCl 12.1 N	Reactivo
Ácido perclórico	HClO ₄	Reactivo
Ácido acético glacial	CH ₃ COOH	Reactivo
Anhidro acético	C ₄ H ₆ O ₃	Reactivo
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Reactivo
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇	Reactivo
Azul de oracet B	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₂ + C ₂₀ H ₁₄ N ₂ O ₂	Reactivo
Cristal violeta	C ₂₅ H ₃₀ ClN ₃	Reactivo
Biftalato de potasio	C ₈ H ₅ KO ₄	Reactivo
Cloruro de potasio	KCl	Estándar
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇	Estándar
Tolueno en hexano 0.002%	C ₆ H ₅ CH ₃ + C ₅ H ₁₂ O	Estándar
Perclorato de holmio	Ho(ClO ₄) ₃	Estándar
Agua	H ₂ O	Destilada
Albendazol	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	Potencia determinada: 100.6%

6.12.MATERIALES.

Tabla 12. Materiales.

NOMBRE	ORIGEN	DESCRIPCIÓN
Placebo de albendazol suspensión oral, lote # 100517	Laboratorio Mauricio Díaz Müller	Placebo
Albendazol materia prima, lote # M-2811029, Potencia: 100.6%.	-	Estándar de trabajo, caracterizado



6.13. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

6.13.1. Ácido clorhídrico 0.08 N.

- Transferir 6.6 mL de ácido clorhídrico concentrado a un balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.

6.13.2. Ácido clorhídrico 0.1 N.

- Transferir 8.2 mL de ácido clorhídrico concentrado a un balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.

6.13.3. Ácido clorhídrico 0.12 N.

- Transferir 9.8 mL de ácido clorhídrico concentrado a un balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.

6.13.4. Ácido perclórico 0.1 N.

- Transferir 5.5 mL de ácido perclórico al 60 % medido con exactitud a un balón aforado de 500 mL, agregar 250 mL de ácido acético glacial, adicionar 15 mL de Anhídrido acético y dejar enfriar la solución. Llevar a volumen la solución con ácido acético glacial y dejar reposar por 1 día protegido de la luz.

6.13.5. Solución indicadora de azul de oracet B.

- Pesar 125 mg de azul de oracet B y transferirlo a un frasco de gotero de vidrio y disolver con 25 mL de ácido acético glacial.



6.13.6. Solución indicadora de cristal violeta.

- Pesar 100 mg de cristal violeta y transferirlo a un frasco de gotero de vidrio y disolver con 10 mL de ácido acético glacial.

6.14.DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DE ALBENDAZOL ESTÁNDAR DE TRABAJO.

6.14.1. ESTANDARIZACIÓN DE ÁCIDO PERCLÓRICO 0.1 N.

- En un pesa filtro secar 2 g de biftalato de potasio a 120 °C durante 2 horas y luego dejar enfriar en el desecador.
- Realizar el ensayo por triplicado.
- Pesar con exactitud 300 mg de biftalato de potasio seco y disolver en 50 mL de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 mL, agregar dos gotas de cristal violeta. Valorar con la solución de ácido perclórico 0.1 N hasta cambio de color de la solución de violeta a verde azulado.
- Determinar el volumen de ácido acético glacial que consume 50 mL de solución blanco de ácido perclórico.

Cada mL de ácido perclórico 0.1 N equivale a 20.42 mg de biftalato de potasio.

$$N = \frac{\text{g de biftalato de potasio}}{(0.20423)(\text{mL gastado de ácido perclórico corregido por el blanco})}$$

6.14.2. VALORACIÓN DE ALBENDAZOL ESTÁNDAR DE TRABAJO.

- Secar la materia prima de albendazol en un pesa filtro a 105 °C durante 4 horas y luego dejar enfriar en el desecador. Conservar en un envase herméticamente cerrado.
- Realizar el ensayo por triplicado.
- Pesar con exactitud 250 mg de albendazol seco, disolver con 50 mL de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 mL, agregar dos gotas de azul de oracet B. Valorar



con ácido perclórico 0.1 N previamente estandarizado hasta cambio de color de la solución a violáceo.

- Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias en los volúmenes gastados en la valoración.

Cada mL de ácido perclórico 0.1 N equivale a 26.53 mg de albendazol.

La materia prima de albendazol contiene no menos de 98.0% y no más de 102.0% de albendazol calculado con respecto a la sustancia seca.

6.15.CONDICIONES DE ANÁLISIS.

Tabla 13. Condiciones espectrofotométricas de análisis.

Concentración nominal de la solución de placebo cargado	16 µg/mL
Concentración nominal de la solución estándar	16 µg/mL
Solución blanco	Ácido clorhídrico 0.1 N
Región del espectro de trabajo	200 nm a 390 nm
Longitud de onda de máxima absorción ($\lambda_{\max}$)	290 nm
Equipo	Espectrofotómetro UV/Visible
Celda	Cuarzo, 1 cm.



6.16.PROCEDIMIENTO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALBENDAZOL 200 mg/5 mL SUSPENSIÓN ORAL POR LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Visible.

6.16.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ESTÁNDAR Y MUESTRA.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

Preparación de la solución muestra de albendazol.

- Agitar vigorosamente el frasco de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral y transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

6.16.2. PROCEDIMIENTO.

- Ajustar el espectrofotómetro a una longitud de onda de máxima absorción de 290 nm, leer solución de ácido clorhídrico 0.1 N como blanco para ajustar la línea base.
- Leer por triplicado la solución estándar de albendazol y la solución muestra de albendazol en celda de 1 cm.



- Registrar las absorbancias y calcular la cantidad de albendazol presente en la muestra con la siguiente ecuación:

$$\frac{A_m}{A_s} * C_s$$

Donde:

A_m es la Absorbancia promedio de la muestra.

A_s es la Absorbancia promedio del estándar.

C_s es la concentración del estándar.

- Calcula el % de recobro con la siguiente ecuación:

$$\frac{C_p}{C_d} * 100$$

Donde:

C_p es la cantidad de albendazol encontrada.

C_d es la cantidad de albendazol declarada.

La suspensión oral de albendazol contiene no menos del 90.0 % y no más del 110.0 % de la cantidad declarada de albendazol.



6.17.DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO A EVALUAR.

6.17.1. IDONEIDAD.

6.17.1.1. Idoneidad del sistema instrumental.

Verificación del desempeño del espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50.

- Abrir carpeta ‘Cary win UV’ y ejecutar programa VALIDATE.
- Seleccionar opción PRUEBA.
- Dirigirse a prueba EP/BP, aparecerá en pantalla una ventana donde se señalan las pruebas y el orden en que se ejecutaran:
 - Control de longitud de onda Xenox
 - Luz difusa
 - Control de absorbancia $K_2Cr_2O_7$
 - Control de longitud de onda $Ho(ClO_4)_3$
- Dar OK e INICIAR.
- Seguir las indicaciones del equipo utilizando las soluciones estándar de stray light blank, potassium chloride, sodium iodide, hexane blank, toluene in hexane, potassium dichromate black, potassium dichromate 60 mg/L y holmium marca Starna.
- Al finalizar el equipo dará el resultado de cada una de las pruebas.

6.17.1.2. Precisión de la idoneidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Realizar el ensayo por duplicado.
- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer 5 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Tabla 14. Criterio de aceptación para la precisión de la idoneidad del sistema

Parámetros evaluados	Especificación
Coeficiente de variación	< 2.0%



6.17.2. ESPECIFICIDAD.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer 6 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla.
- Leer la solución placebo de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

- Leer 6 veces la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.
- Calcular el porcentaje de discrepancia entre la solución estándar y la solución de placebo cargado con la siguiente ecuación:

$$\% D = \frac{(D_i - D_s)}{D_s} * 100$$

Donde:

D_i : Absorbancia con interferencia (solución de placebo cargado).

D_s : Absorbancia sin interferencia (solución estándar).

Especificaciones

Tabla 15. Criterio de aceptación para la especificidad.

Parámetros evaluados	Especificación
Identificación de albendazol en preparación de estándar secundario de albendazol.	Positivo
Identificación de albendazol en preparación de placebo de albendazol.	Negativo
Identificación de albendazol en preparación de placebo cargado de albendazol.	Positivo
Porcentaje de discrepancia	< 4.0%



6.17.3. EXACTITUD.

El método utilizado fue: muestra problema cargada con el analito.

Preparación de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 40 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

Preparación de las soluciones estándar de albendazol.

* Solución 1

- Pesar con exactitud 24 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

* Solución 2

- Pesar con exactitud 40 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

* Solución 3

- Pesar con exactitud 56 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.



Preparación de la solución al 80%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 1 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución al 100%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 2 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución al 120%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 3 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Especificación

Tabla 16. Criterio de aceptación para la exactitud.

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$
Prueba de <i>t</i> -student	$t_{exp} < t_{tab}$, no hay diferencia significativa entre la media y el 100%
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.



6.17.4. PRECISIÓN.

6.17.4.1. Repetibilidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer 10 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Tabla 17. Criterio de aceptación para la repetibilidad del sistema.

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%
Coficiente de variación	< 2.0%

6.17.4.2. Repetibilidad del método.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.



- Leer 10 veces la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Tabla 18. Criterio de aceptación para la repetibilidad del método.

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$

6.17.4.3. Precisión intermedia.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Realizar el ensayo durante 3 días consecutivos. Un segundo analista debe de realizar este ensayo bajo la mismas condiciones operativas (reactivos, instrumentos, temperatura, etc) y mismo laboratorio durante 3 días consecutivos diferentes al del primer analista.
- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.
- Calcular el % de recuperado por día y por cada analista y el promedio del % de recuperado para los datos obtenidos por los 2 analistas en los 3 días.



Especificaciones

Tabla 19. Criterio de aceptación para la precisión intermedia.

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coefficiente de variación	$< 2.0\%$



6.17.5. LINEALIDAD Y RANGO.

6.17.5.1. Linealidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 80 %

- Pesar con exactitud 64 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 90%

- Pesar con exactitud 72 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 14.4 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 100%

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL



y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de Albendazol al 110%

- Pesar con exactitud 88 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 17.6 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 120%

- Pesar con exactitud 96 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Especificaciones

Tabla 20. Criterio de aceptación para la linealidad del sistema.

Parámetros	Especificación
Coeficiente de variación	< 2.0%
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a$.
Significación estadística del intercepto (a)	$t_{exp} < t_{tab}$, el intervalo de confianza debe de incluir el 0.
Significación estadística de la pendiente (b)	$t_{exp} > t_{tab}$, el intervalo de confianza no debe de incluir el 0.
Análisis de varianza	$F1_{exp} > F1_{tab}$, demuestra que la pendiente es distinta de 0.
	$F2_{exp} < F2_{tab}$, demuestra que existe linealidad entre los resultados.
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.
Análisis residuales (gráfico)	La distribución de los puntos debe ser aleatorio y no reflejar ninguna tendencia.

6.17.5.2. Linealidad del método.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 80%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1.6 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 64 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 90%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1.8 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 72 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 14.4 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 100%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Preparación de la solución placebo cargado de albendazol suspensión al 110%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2.2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 88 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 17.6 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 120%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2.4 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 96 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Especificaciones

Tabla 21. Criterio de aceptación para la linealidad del método.

Parámetros	Especificación
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a$.
Significación estadística del intercepto (a)	$t_{exp} < t_{tab}$, el intervalo de confianza debe de incluir el 0.
Significación estadística de la pendiente (b)	$t_{exp} > t_{tab}$, el intervalo de confianza no debe de incluir el 0.
Análisis de varianza	$F1_{exp} > F1_{tab}$, demuestra que la pendiente es distinta 0.
	$F2_{exp} < F2_{tab}$, demuestra que existe linealidad entre los resultados.
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.
Análisis residuales (gráfico)	La distribución de los puntos debe ser aleatorio y no reflejar ninguna tendencia.



6.17.6. ROBUSTEZ.

Preparación de las soluciones estándar de albendazol.

- * Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.08 N.
 - Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.08 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.08 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
 - Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.08 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

- * Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.1 N.
 - Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
 - Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

- * Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.12 N.
 - Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.12 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.12 N



y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.12 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

Preparación de la soluciones placebo cargado de albendazol.

* Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.08 N.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.08 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.08 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.08 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

* Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.1 N.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.



- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

- * Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.12 N.
 - Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol patrón secundario pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.12 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y trasvasar a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.12 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
 - Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.12 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

Especificaciones

Tabla 22. Criterio de aceptación para la robustez.

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%
Coefficiente de variación	< 2.0%



6.17.7. ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Preparar 3 soluciones, transfiriendo a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de Ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL. Una solución almacenarla a temperatura ambiente, otra almacenarla bajo refrigeración y la última almacenarla a 40 °C.
- Realizar por triplicado una lectura inicial, a las 24 horas y a las 48 horas de las soluciones de placebo cargado de albendazol almacenadas en las distintas condiciones utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Tabla 23. Criterio de aceptación para la estabilidad de las soluciones.

Parámetro evaluado	Especificación
Promedio del % de Recuperado	100.0% ± 2.0%



7. RESULTADOS.

7.1. PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALBENDAZOL 200 mg/5 mL SUSPENSIÓN ORAL POR LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Visible.

Elaborado por:

Fecha/firma: ____/____/____ _____

Gerencia de producción

Revisado por:

Fecha/firma: ____/____/____ _____

Regencia

Aprobado por:

Fecha/firma: ____/____/____ _____

Gerencia de control de calidad



INFORMACIÓN GENERAL

FECHA INICIAL DE VALIDACIÓN: Junio 2017

FECHA FINAL DE VALIDACIÓN: Diciembre 2017

VIGENTE DESDE: Enero 2018

REVISIÓN N°: 1

COPIA N°: 1

TIPO DE MÉTODO

MÉTODO NORMALIZADO:

MÉTODO NO NORMALIZADO:

MÉTODO INTERNO: X

CATEGORÍA DE VALIDACIÓN A EVALUAR

CATEGORIA I

Pruebas cuantitativas: Físico-Químicas X Microbiológicas

CATEGORÍA II

Análisis de impurezas: Cualitativas Cuantitativas

CATEGORÍA III

Pruebas de desempeño: Disolución Uniformidad de contenido

CATEGORIA IV

Pruebas de identificación



OBJETIVO

Comprobar que el método analítico propuesto para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral permite obtener de forma reproducibles resultados que cumplan con las especificaciones establecidas.

ALCANCE

Este protocolo de validación aplica al método de análisis propuesto por la técnica de espectrofotometría UV/Visible para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral que contiene como principio activo albendazol.

JUSTIFICACIÓN

El método de análisis propuesto para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 suspensión oral mL por la técnica de espectrofotometría UV/Visible permite con un alto grado de confianza realizar la cuantificación del principio activo, minimizando los costos comparado con otros métodos como por ejemplo por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

RESPONSABILIDAD

La realización de la validación es responsabilidad de todo el personal involucrado en la validación del método de análisis:

- Gerencia de producción
- Departamento de control de calidad
- Regencia



PARÁMETROS A VALIDAR

Parámetros establecidos por el RTCA 11.03.39:06 y la USP36/NF31 para procedimientos analíticos de categoría I (Ensayos de cuantificación del (los) principio(s) activo(s)):

- Especificidad
- Exactitud
- Precisión
- Linealidad y Rango

También se evaluaron parámetros adicionales:

- Robustez
- Idoneidad
- Estabilidad de las soluciones

MUESTREO

Se requirieron 26 frascos de albendazol suspensión oral lote 100517 de los cuales 13 fueron destinados como muestras de análisis y 13 fueron muestras retenidas (contra muestras).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

La espectrofotometría UV/Visible se basa en la interacción de un haz de luz radiante con grupo funcionales orgánicos no saturados, denominados grupos cromóforos, de una muestra a longitudes de onda de 180 a 380 nm en el espectro electromagnético para la identificación o cuantificación de un principio activo presente en la muestra.

En la espectrofotometría de absorción se mide la cantidad de luz absorbida (absorbancia) por los grupos cromóforos en función de la longitud de onda, lo que proporciona información cualitativa o cuantitativa sobre la muestra, los resultados obtenidos suelen expresarse mediante un gráfico denominado espectro de absorción en el cual se refleja la absorbancia en función de la concentración del analito en la muestra a determinada longitud de onda.



EQUIPOS

EQUIPOS	DESCRIPCIÓN
Espectrofotómetro UV-Vis	Marca: Varian Inc. Modelo: Cary 50
Balanza analítica	Marca: A&D Modelo: HM-120
Campana de vacío	Marca: Labconco Modelo: -
Horno	Marca: Fisher Scientific Modelo: Isotemp Oven
Desecador	Marca: - Modelo: -
Agitador magnético y magneto	Marca: SYBRON Modelo: 7200
Refrigeradora	Marca: Oster

INSTRUMENTAL ANALÍTICO

INSTRUMENTAL ANALÍTICO	DESCRIPCIÓN
Celda 1	Marca: Varian Uso: UV-Visible Tamaño: 1 cm. Cuarzo
Celda 2	Marca: PerkinElmer Uso: UV-Visible Tamaño: 1 cm. Cuarzo
Matraces volumétricos clase A	Marca: Pyrex Capacidad: 100, 250, 500 y 1000 mL.



Beaker	Marca: Pyrex Capacidad: 250 y 500 mL
Erlenmeyer	Marca: Pyrex Capacidad: 250 mL
Bureta clase A de 25 mL	Marca: Pyrex Capacidad: 25 mL Tolerancia: a 20 °C $\pm$ 0.03 mL
Probeta	Marca: Pyrex Capacidad: 10, 25 y 50 mL
Pipeta volumétrica clase A	Marca: FISHERDbrand Capacidad: 2, 4, 6 y 8 mL
Pipeta serológica clase A	Marca: Kimax Capacidad: 1, 2 y 10 mL
Frasco de gotero de vidrio	Marca: - Capacidad: 50 mL
Espátula	Uso: Analítico Material: Acero inoxidable
Soporte universal	Marca: Fisher Scientific
Pesa filtro	Marca: - Capacidad: -

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Nombre: Albendazol

Forma farmacéutica: Suspensión oral

Concentración: 200 mg/5 mL

Características organolépticas:

- Aspecto: Líquido homogéneo.
- Color: Anaranjado.

Validación de la metodología analítica para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.



- Olor: Fresa
- Sabor: Fresa

pH: 4.5 – 5.5

Volumen de entrega: 10 mL $\pm$ 2 mL.

Almacenamiento: 30 °C $\pm$ 2 °C

Presentación: Frasco plástico blanco de polietileno de alta densidad de 10 mL, tapa plástica de polietileno de alta densidad color blanco con sello de seguridad y etiqueta autoadhesiva.

Tiempo de vencimiento: 2 años.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE VALIDACIÓN

Reactivos

REACTIVOS		
NOMBRE	FÓRMULA QUÍMICA	GRADO
Ácido clorhídrico	HCl 12.1 N	Reactivo
Ácido perclórico	HClO ₄	Reactivo
Ácido acético glacial	CH ₃ COOH	Reactivo
Anhidro acético	C ₄ H ₆ O ₃	Reactivo
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Reactivo
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇	Reactivo
Azul de oracet B	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₂ + C ₂₀ H ₁₄ N ₂ O ₂	Reactivo
Cristal violeta	C ₂₅ H ₃₀ ClN ₃	Reactivo
Biftalato de potasio	C ₈ H ₅ KO ₄	Reactivo
Cloruro de potasio	KCl	Estándar
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇	Estándar
Tolueno en hexano 0.002%	C ₆ H ₅ CH ₃ + C ₅ H ₁₂ O	Estándar
Perclorato de holmio	Ho(ClO ₄) ₃	Estándar

Validación de la metodología analítica para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica de espectrofotometría UV/Visible.



Agua	H ₂ O	Destilada
Albendazol	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	Estándar

Materiales

NOMBRE	ORIGEN	DESCRIPCIÓN
Placebo de albendazol suspensión oral, lote 100517	Laboratorio Mauricio Díaz Müller	Placebo
Estándar de albendazol	-	Estándar de trabajo

Medidas de seguridad

Leer las precauciones para el uso de los materiales. Tome las precauciones necesarias durante el desarrollo del estudio. La seguridad del personal incluye el uso adecuado de los equipos de protección, vestimenta, así mismo deben manipular y almacenar adecuadamente los reactivos empleados. Los desechos generados durante los análisis deben de colocarse en el lugar correspondiente para evitar accidentes laborales.

Preparación de reactivos

- Ácido clorhídrico 0.08 N.

Transferir 6.6 mL de ácido clorhídrico concentrado aun balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.

- Ácido clorhídrico 0.1 N.

Transferir 8.2 mL de ácido clorhídrico concentrado aun balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.



- Ácido clorhídrico 0.12 N.

Transferir 9.8 mL de ácido clorhídrico concentrado aun balón aforado de 1000 mL con aproximadamente 500 mL de agua destilada, homogenizar la mezcla y aforar.

Condiciones de análisis

Concentración nominal de la solución de placebo cargado	16 µg/mL
Concentración nominal de la solución estándar	16 µg/mL
Solución blanco	Ácido clorhídrico 0.1 N
Región del espectro de trabajo	200 nm a 390 nm
Longitud de onda de máxima absorción ($\lambda_{\max}$)	290 nm
Equipo	Espectrofotómetro UV-Visible
Celda	Cuarzo, 1 cm.

Determinación de los parámetros de desempeño

Idoneidad

- Idoneidad del sistema instrumental.

Verificación del desempeño del espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50.

- Abrir carpeta ‘Cary win UV’ y ejecutar programa VALIDATE.
- Seleccionar opción PRUEBA.
- Dirigirse a prueba EP/BP, aparecerá en pantalla una ventana donde se señalan las pruebas y el orden en que se ejecutaran:
 - Control de longitud de onda Xenox
 - Luz difusa
 - Control de absorbancia $K_2Cr_2O_7$
 - Control de longitud de onda $Ho(ClO_4)_3$
- Dar OK e INICIAR.



- Seguir las indicaciones del equipo utilizando las soluciones estándar de stray light blank, potassium chloride, sodium iodide, hexane blank, toluene in hexane, potassium dichromate black, potassium dichromate 60 mg/L y holmium marca Starna.
 - Al finalizar el equipo dará el resultado de cada una de las pruebas.
- Precisión de la idoneidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Realizar el ensayo por duplicado.
- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer 5 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Coficiente de variación	< 2.0%

Especificidad

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer 6 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla.
- Leer la solución placebo de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer 6 veces la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.
- Calcular el porcentaje de discrepancia entre la solución estándar y la solución de placebo cargado con la siguiente ecuación:



$$\% D = \frac{(D_i - D_s)}{D_s} * 100$$

Donde:

D_i : Absorbancia con interferencia (solución de placebo cargado).

D_s : Absorbancia sin interferencia (solución estándar).

Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Identificación de albendazol en preparación de estándar secundario de albendazol.	Positivo
Identificación de albendazol en preparación de placebo de albendazol.	Negativo
Identificación de albendazol en preparación de placebo cargado de albendazol.	Positivo
Porcentaje de discrepancia	< 4.0%

Exactitud

Preparación de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 40 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.



Preparación de las soluciones estándar de albendazol.

* Solución 1

- Pesar con exactitud 24 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

* Solución 2

- Pesar con exactitud 40 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

* Solución 3

- Pesar con exactitud 56 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N.

Preparación de la solución al 80%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 1 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Preparación de la solución al 100%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 2 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución al 120%

- Tomar por separado una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la solución madre de placebo cargado de albendazol suspensión oral y una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL de la Solución 3 y ambas transferirlas a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificación

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$
Prueba de <i>t</i> -student	$t_{exp} < t_{tab}$, no hay diferencia significativa entre la media y el 100%
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.



Precisión

- Repetibilidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer 10 veces la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%
Coefficiente de variación	< 2.0%

- Repetibilidad del método.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer 10 veces la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coefficiente de variación	$< 2.0\%$

- Precisión intermedia.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Realizar el ensayo durante 3 días consecutivos. Un segundo analista debe de realizar este ensayo bajo la mismas condiciones operativas (reactivos, instrumentos, temperatura, etc) y mismo laboratorio durante 3 días consecutivos diferentes al del primer analista.
- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.
- Calcular el % de recuperado por día y por cada analista y el promedio del % de recuperado para los datos obtenidos por los 2 analistas en los 3 días.

Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$
Coefficiente de variación	$< 2.0\%$



Linealidad Y Rango

- Linealidad del sistema.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 80 %

- Pesar con exactitud 64 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 90%

- Pesar con exactitud 72 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 14.4 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 100%

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de Albendazol al 110%

- Pesar con exactitud 88 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 17.6 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución estándar de albendazol al 120%

- Pesar con exactitud 96 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.



Especificaciones

Parámetros	Especificación
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a.$
Significación estadística del intercepto (a)	$t_{exp} < t_{tab}$, el intervalo de confianza debe de incluir el 0.
Significación estadística de la pendiente (b)	$t_{exp} > t_{tab}$, el intervalo de confianza no debe de incluir el 0.
Análisis de varianza	$F1_{exp} > F1_{tab}$, demuestra que la pendiente es distinta de 0.
	$F2_{exp} < F2_{tab}$, demuestra que existe linealidad entre los resultados.
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.
Análisis residuales (gráfico)	La distribución de los puntos debe ser aleatorio y no reflejar ninguna tendencia.

- Linealidad del método.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 80%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1.6 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 64 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 12.8 $\mu\text{g/mL}$.



- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 90%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 1.8 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 72 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 14.4 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 100%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol suspensión al 110%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2.2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 88 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con



exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 17.6 µg/mL.

- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol al 120%

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2.4 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 96 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 19.2 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Parámetros	Especificación
Coeficiente de variación	< 2.0%
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a$.
Significación estadística del intercepto (a)	$t_{exp} < t_{tab}$, el intervalo de confianza debe de incluir el 0.



Significación estadística de la pendiente (b)	$t_{exp} > t_{tab}$, el intervalo de confianza no debe de incluir el 0.
Análisis de varianza	$F1_{exp} > F1_{tab}$, demuestra que la pendiente es distinta 0.
	$F2_{exp} < F2_{tab}$, demuestra que existe linealidad entre los resultados.
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < G_{tab}$, demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas.
Análisis residuales (gráfico)	La distribución de los puntos debe ser aleatorio y no reflejar ninguna tendencia.

Robustez

Preparación de las soluciones estándar de albendazol.

* Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.08 N.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.08 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.08 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.08 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

* Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.1 N.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y



homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.

- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

* Soluciones de estándar en ácido clorhídrico 0.12 N.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.12 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.12 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de estándar de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.12 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

Preparación de la soluciones placebo cargado de albendazol.

* Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.08 N.

- Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.08 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.08 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.08 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.



- * Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.1 N.
 - Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
 - Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

- * Soluciones de placebo cargado en ácido clorhídrico 0.12 N.
 - Transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol patrón secundario pesado con exactitud, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.12 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y trasvasar a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.12 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.
 - Leer por triplicado la solución de placebo cargado de albendazol utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.12 N a 288, 290 y 292 nm con celda 1 y celda 2.

Especificaciones

Parámetros evaluados	Especificación
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%
Coefficiente de variación	< 2.0%



Estabilidad de las soluciones

Preparación de la solución placebo cargado de albendazol.

- Preparar 3 soluciones, transfiriendo a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL de placebo de albendazol suspensión oral y 80 mg de albendazol estándar de trabajo pesado con exactitud, disolver con 10 mL de Ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL. Una solución almacenarla a temperatura ambiente, otra almacenarla bajo refrigeración y la última almacenarla a 40 °C.
- Realizar por triplicado una lectura inicial, a las 24 horas y a las 48 horas de las soluciones de placebo cargado de albendazol almacenadas en las distintas condiciones utilizando como blanco la solución de ácido clorhídrico 0.1 N a 290 nm en celda de 1 cm.

Especificaciones

Parámetro evaluado	Especificación
Promedio del % de Recuperado	100.0% ± 2.0%



ANEXO

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALBENDAZOL 200 mg/5 mL SUSPENSIÓN ORAL POR LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Visible.

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ESTÁNDAR Y MUESTRA.

Preparación de la solución estándar de albendazol.

- Pesar con exactitud 80 mg de albendazol estándar de trabajo, transferirlo a un balón aforado de 100 mL y disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

Preparación de la solución muestra de albendazol.

- Agitar vigorosamente el frasco de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral y transferir a un balón aforado de 100 mL una alícuota de 2 mL, disolver con 10 mL de ácido acético glacial, llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar una alícuota con una pipeta volumétrica de 2 mL y transferirla a un balón aforado de 100 mL, aforar con ácido clorhídrico 0.1 N y homogenizar la mezcla. Se obtendrá una solución con una concentración de 16 µg/mL.

PROCEDIMIENTO.

- Ajustar el espectrofotómetro a una longitud de onda de máxima absorción de 290 nm, leer solución de ácido clorhídrico 0.1 N como blanco para ajustar la línea base.
- Leer por triplicado la solución estándar de albendazol y la solución muestra de albendazol en celda de 1 cm.



- Registrar las absorbancias y calcular la cantidad de albendazol presente en la muestra con la siguiente ecuación:

$$\frac{A_m}{A_s} * C_s$$

Donde:

A_m es la Absorbancia promedio de la muestra.

A_s es la Absorbancia promedio del estándar.

C_s es la concentración del estándar.

- Calcula el % de recobro con la siguiente ecuación:

$$\frac{C_p}{C_d} * 100$$

Donde:

C_p es la cantidad de albendazol encontrada.

C_d es la cantidad de albendazol declarada.

La suspensión oral de albendazol contiene no menos del 90.0 % y no más del 110.0 % de la cantidad declarada de albendazol.



7.2. IDONEIDAD.

7.2.1. IDONEIDAD DEL SISTEMA INSTRUMENTAL.

Figura 6. Resultados de la idoneidad del instrumento Varian Cary 50.

Sumario de Resultado de Pruebas	
Prueba control long. de onda	Prueba barrido línea xenon. PASA
Poder resolución - Método Tolueno en Hexano.....	PASA
Prueba de luz difusa.....	PASA
Prueba control de absorbancia- Método K ₂ Cr ₂ O ₇	PASA
Prueba control long. de onda - Método perclorato de holmio	PASA



7.2.2. PRECISIÓN DE LA IDONEIDAD DEL SISTEMA.

Tabla 24. Absorbancias.

Soluciones	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia
1	16	0.59400
	16	0.59320
	16	0.59210
	16	0.59340
	16	0.59440
2	16	0.59640
	16	0.59600
	16	0.59650
	16	0.59120
	16	0.58980
Promedio		0.59370
Desviación estándar		0.0022
Coeficiente de variación		0.38%

Tabla 25. Resultados.

Parámetros evaluados	Especificaciones	Resultados
Coeficiente de variación	< 2.0%	0.38%



7.3. ESPECIFICIDAD.

Figura 7. Espectros de absorción.

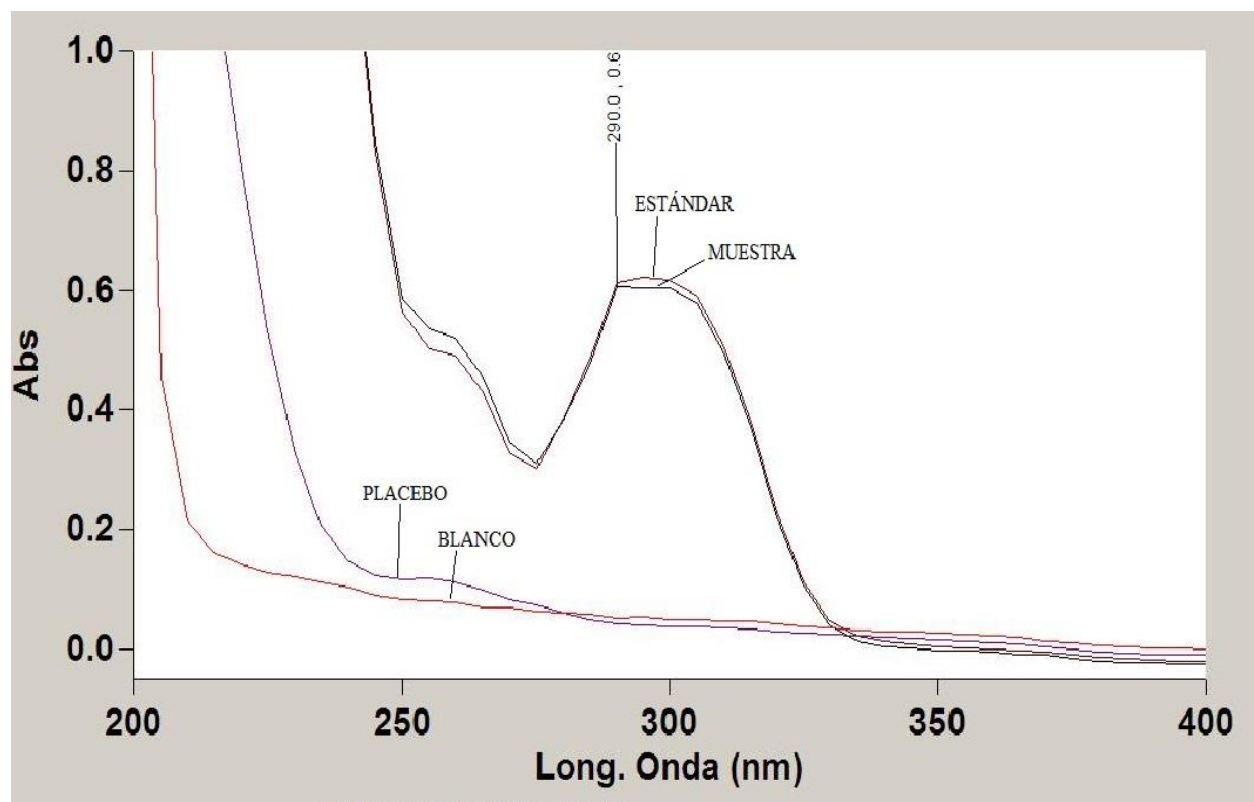




Tabla 26. Absorbancias del estándar y placebo cargado.

Nº de lectura	Absorbancia del estándar	Absorbancia del placebo cargado
1	0.5949	0.5953
2	0.5963	0.5963
3	0.6026	0.5986
4	0.6005	0.6011
5	0.6008	0.5997
6	0.5933	0.6002
Promedio	0.5981	0.5985
Desviación estándar	0.0037	0.0023
Coeficiente de variación	0.6248%	0.3822%
Porcentaje de discrepancia	0.08%	

Tabla 27. Resultados.

Parámetros evaluados	Especificaciones	Resultados
Identificación de albendazol en preparación de estándar secundario de albendazol.	Positivo	Cumple
Identificación de albendazol en preparación de placebo de albendazol.	Negativo	Cumple
Identificación de albendazol en preparación de placebo cargado de albendazol.	Positivo	Cumple
Porcentaje de discrepancia	< 4.0%	0.08%



7.4. EXACTITUD.

Tabla 28. Absorbancias y porcentajes de recuperado.

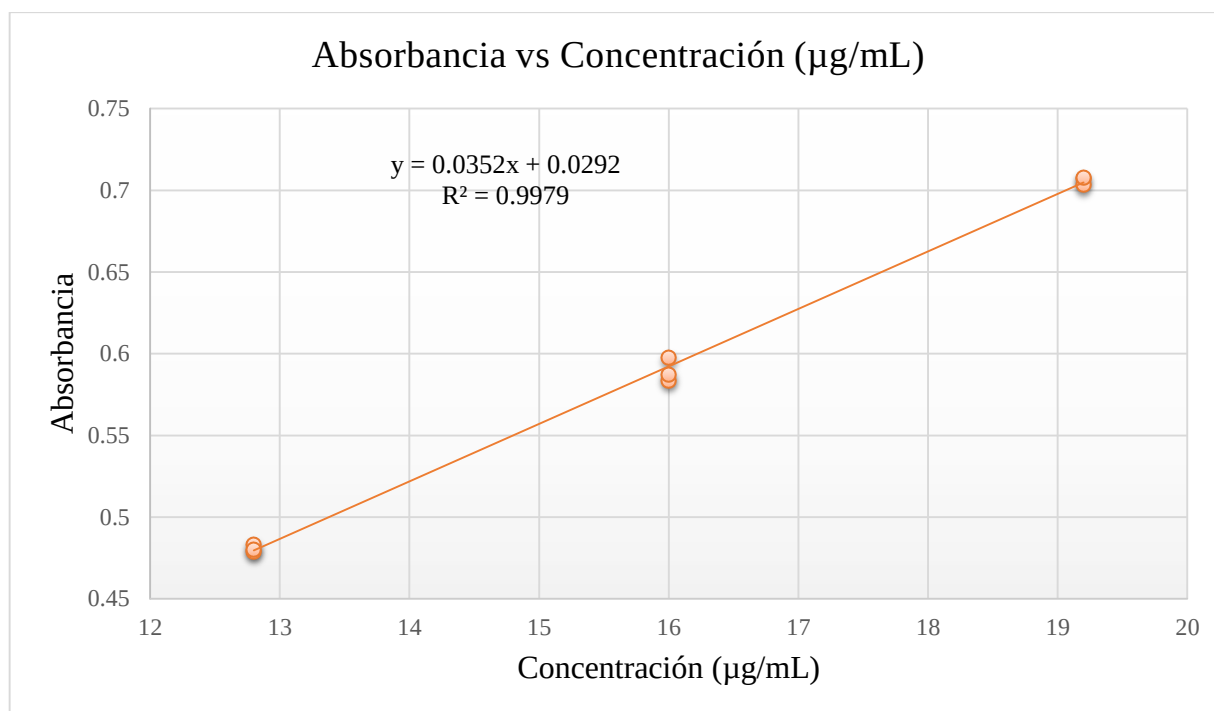
Niveles	Concentración teórica (µg/mL)	Absorbancia	Concentración obtenida (µg/mL)	% Recuperado por niveles	% Recuperado
80%	12.8	0.48330	13.0248	81.4	101.8
80%	12.8	0.47900	12.9089	80.7	100.9
80%	12.8	0.48040	12.9466	80.9	101.1
100%	16	0.58360	15.7278	98.3	98.3
100%	16	0.58720	15.8248	98.9	98.9
100%	16	0.59750	16.1024	100.6	100.6
120%	19.2	0.70720	19.0588	119.1	99.3
120%	19.2	0.70340	18.9564	118.5	98.7
120%	19.2	0.70760	19.0696	119.2	99.3
Promedio					99.9%
Desviación estándar					1.23%
Coeficiente de variación					1.23%

Tabla 29. Resultados.

Parámetros evaluados	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$	99.9%
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$	1.23%
Prueba de <i>t</i> -student	$t_{exp} < 2.31$	$t_{exp} = 0.296$
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	$G_{exp} < 0.87$	$G_{exp} = 0.824$



Figura 8. Curva de calibración.





7.5. PRECISIÓN.

7.5.1. REPETIBILIDAD DEL SISTEMA.

Tabla 30. Absorbancias y porcentajes de recuperado.

Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Concentración obtenida (µg/mL)	% Recuperado
16	0.58240	15.6955	98.1
16	0.59210	15.9569	99.7
16	0.59470	16.0269	100.2
16	0.59710	16.0916	100.6
16	0.59570	16.0539	100.3
16	0.59240	15.9650	99.8
16	0.59430	16.0162	100.1
16	0.60150	16.2102	101.3
16	0.60330	16.2587	101.6
16	0.60510	16.3072	101.9
Promedio			100.4%
Desviación estándar			1.1%
Coeficiente de variación			1.1%

Tabla 31. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%	100.4%
Coeficiente de variación	< 2.0%	1.1%



7.5.2. REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

Tabla 32. Absorbancias y porcentajes de recuperado.

Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Concentración obtenida (µg/mL)	% Recuperado
16	0.59260	15.9704	99.8
16	0.59200	15.9542	99.7
16	0.59210	15.9569	99.7
16	0.59140	15.9380	99.6
16	0.59290	15.9784	99.9
16	0.59240	15.9650	99.8
16	0.59350	15.9946	100.0
16	0.59170	15.9461	99.7
16	0.59330	15.9892	99.9
16	0.59220	15.9596	99.7
Promedio			99.8%
Desviación estándar			0.11%
Coeficiente de variación			0.11%

Tabla 33. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%	99.8%
Coeficiente de variación	< 2.0%	0.11%



7.5.3. PRECISIÓN INTERMEDIA.

Tabla 34. Absorbancias por analistas/días.

Analistas	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia por analistas/días			Concentración obtenidas por analistas/días ($\mu\text{g/mL}$)		
		Día1	Día2	Día3	Día1	Día2	Día3
1	16	0.59310	0.60230	0.59500	15.9838	16.2318	16.0350
	16	0.59400	0.60460	0.59390	16.0081	16.2938	16.0054
	16	0.59600	0.59340	0.59480	16.0620	15.9919	16.0296
2	16	0.59730	0.59220	0.59300	16.0970	15.9596	15.9811
	16	0.60080	0.59390	0.59500	16.1913	16.0054	16.0350
	16	0.59760	0.60700	0.59580	16.1051	16.3584	16.0566

Tabla 35. Porcentajes de recuperado por analistas/días.

Analistas	% Recuperado por analistas/días		
	Día1	Día2	Día3
1	99.9	101.4	100.2
	100.1	101.8	100.0
	100.4	99.9	100.2
2	100.6	99.7	99.9
	101.2	100.0	100.2
	100.7	102.2	100.4
		Analista 1	Analista 2
Promedio % recuperado por analistas		100.4%	100.5%
Promedio % recuperado total		100.5%	
Desviación estándar por analista		0.70%	0.77%
Coeficiente de variación por analista		0.7%	0.77%
Coeficiente de variación total		0.73%	



Tabla 36. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$	100.5%
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$	0.73%



7.6. LINEALIDAD Y RANGO.

7.6.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Tabla 37. Determinación de los parámetros.

Niveles	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) (x)	Absorbancia (y)	y^2	x^2	yx	$(S y)^2/n$	y/x
80%	12.8	0.48240	0.23270976	163.84	6.17472	0.687652563	0.0377
80%	12.8	0.47820	0.22867524	163.84	6.12096		0.0374
80%	12.8	0.47570	0.22629049	163.84	6.08896		0.0372
90%	14.4	0.531100	0.28206721	207.36	7.64784	0.85386675	0.0369
90%	14.4	0.535700	0.28697449	207.36	7.71408		0.0372
90%	14.4	0.533700	0.28483569	207.36	7.68528		0.0371
100%	16	0.59400	0.352836	256	9.504	1.03934988	0.0371
100%	16	0.58330	0.34023889	256	9.3328		0.0365
100%	16	0.58850	0.34633225	256	9.416		0.0368
110%	17.6	0.65470	0.42863209	309.76	11.52272	1.279749453	0.0372
110%	17.6	0.64720	0.41886784	309.76	11.39072		0.0368
110%	17.6	0.65750	0.43230625	309.76	11.572		0.0374
120%	19.2	0.71960	0.51782416	368.64	13.81632	1.50889392	0.0375
120%	19.2	0.70540	0.49758916	368.64	13.54368		0.0367
120%	19.2	0.70260	0.49364676	368.64	13.48992		0.0366
Promedio							0.0371
Desviación estándar							0.0003
Coeficiente de variación							0.93%
Coeficiente de determinación							0.9961
Coeficiente de determinación lineal							0.9980
Intercepto (a)							0.0121
Pendiente (b)							0.0363



Tabla 38. Significación estadística del intercepto y la pendiente.

Variable	Valor	Error típico	t exp	t tab	Valor min	Valor max	Probabilidad	Criterio
Intercepto (a)	0.0121	0.0102	1.187	2.14	-0.0099	0.0342	-0.009947	$t_{exp} < t_{tab}$
Pendiente (b)	0.0363	0.0006	57.344	2.14	0.0349	0.0376	5.09E-17	$t_{exp} > t_{tab}$

Tabla 39. Análisis de varianza ANOVA.

Fuente	GL	SC	Variancia	Fexp	Ftab	Especificaciones
Regresión	1	0.1011	0.10109	F1	F1	F1 exp > F1 tab
Residuo	13	0.0004	0.00003	3288.344	4.600	
Falta de ajuste	3	0.0001	0.00003	F2	F2	F2 exp < F2 tab
Error exp.	10	0.0003	0.00003	0.913	3.739	
Total	14	0.1015	0.00725			



Tabla 40. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Coeficiente de variación	< 2.0%	0.93%
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98	0.996
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99	0.998
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a$	$y = 0.0363x + 0.0121$
Significación estadística del intercepto (a)	t exp < 2.14	t exp = 1.187
Significación estadística de la pendiente (b)	t exp > 2.14	t exp = 57.344
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	G exp < 0.68	G exp = 0.43
Análisis de varianza (ANOVA)	F1 exp > 4.600	F1 exp = 3288.344
	F2 exp < 3.739	F2 exp = 0.913

Figura 9. Curva de calibración.

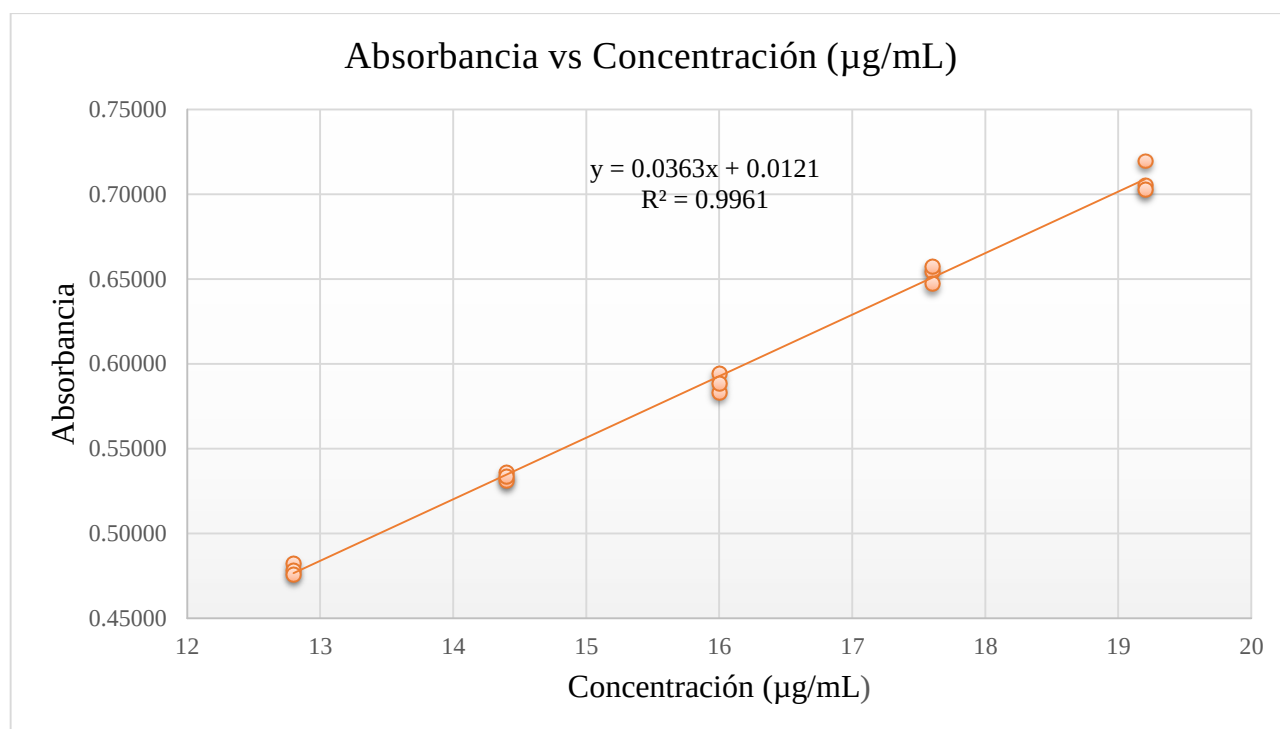
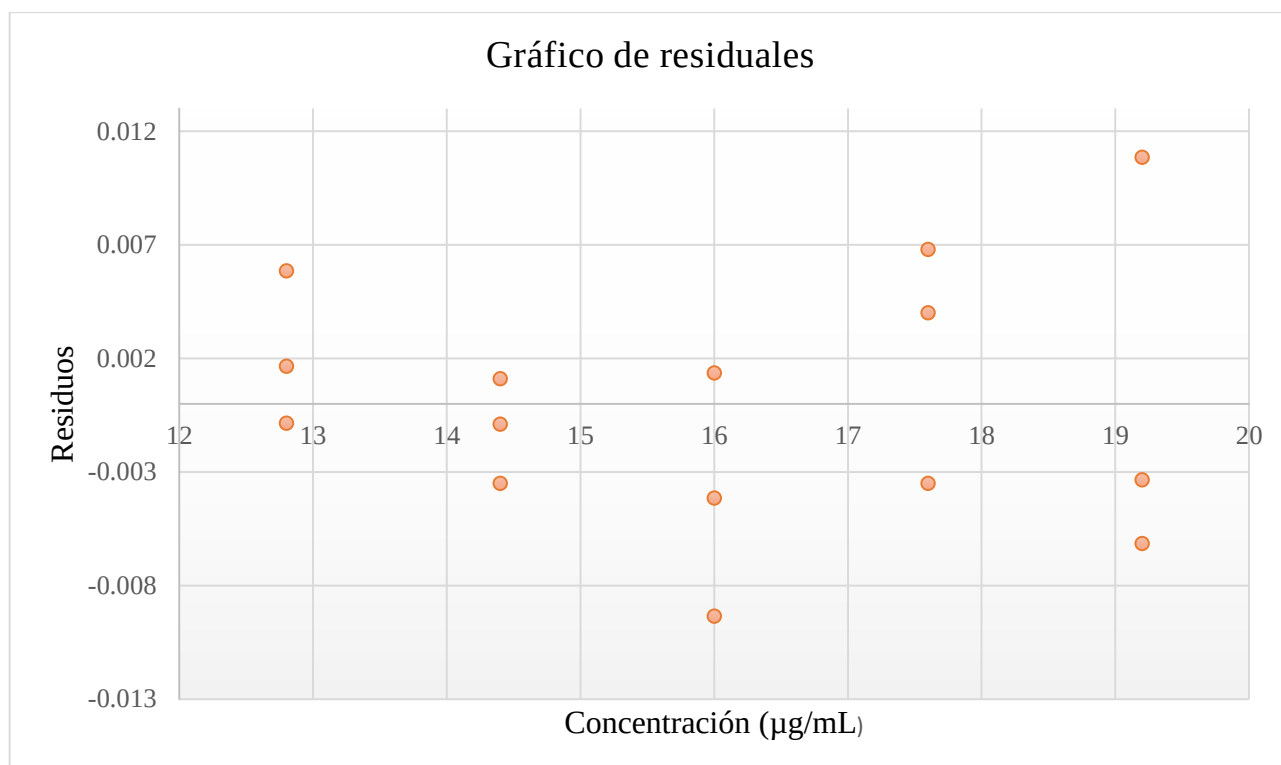




Figura 10. Gráfico de residuales.





7.6.2. LINEALIDAD DEL MÉTODO.

Tabla 41. Determinación de los parámetros.

Niveles	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) (x)	Absorbancia (y)	y^2	x^2	yx	$(S y)^2/n$	y/x
80%	12.8	0.47300	0.223729	163.84	6.0544	0.682587	0.0370
80%	12.8	0.48280	0.23309584	163.84	6.17984		0.0377
80%	12.8	0.47520	0.22581504	163.84	6.08256		0.0371
90%	14.4	0.542400	0.29419776	207.36	7.81056	0.865858963	0.0377
90%	14.4	0.531600	0.28259856	207.36	7.65504		0.0369
90%	14.4	0.537700	0.28912129	207.36	7.74288		0.0373
100%	16	0.59540	0.35450116	256	9.5264	1.071974963	0.0372
100%	16	0.59510	0.35414401	256	9.5216		0.0372
100%	16	0.60280	0.36336784	256	9.6448		0.0377
110%	17.6	0.65050	0.42315025	309.76	11.4488	1.28511075	0.0370
110%	17.6	0.66000	0.4356	309.76	11.616		0.0375
110%	17.6	0.65300	0.426409	309.76	11.4928		0.0371
120%	19.2	0.71040	0.50466816	368.64	13.63968	1.510028853	0.0370
120%	19.2	0.70940	0.50324836	368.64	13.62048		0.0369
120%	19.2	0.70860	0.50211396	368.64	13.60512		0.0369
Promedio							0.0372
Desviación estándar							0.003
Coeficiente de variación							0.79%
Coeficiente de determinación							0.9976
Coeficiente de determinación lineal							0.9988
Intercepto (a)							0.0130
Pendiente (b)							0.0364



Tabla 42. Significación estadística del intercepto y la pendiente.

Variable	Valor	Error típico	t exp	t tab	Valor min	Valor max	Probabilidad	Criterio
Intercepto (a)	0.013	0.0080	1.618	2.14	-0.0043	0.0303	0.129688	$t_{exp} < t_{tab}$
Pendiente (b)	0.0364	0.0005	73.214	2.14	0.0353	0.0375	2.14E-18	$t_{exp} > t_{tab}$

Tabla 43. Análisis de varianza ANOVA.

Fuente	GL	SC	Variancia	Fexp	Ftab	Especificaciones
Regresión	1	0.1017	0.10169	F1	F1	F1 exp > F1 tab
Residuo	13	0.0002	0.00002	5360.254	4.600	
Falta de ajuste	3	0.0000	0.00002	F2	F2	F2 exp < F2 tab
Error exp.	10	0.0002	0.00002	0.783	3.739	
Total	14	0.1019	0.00728			



Tabla 44. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Coeficiente de variación	< 2.0%	0.79%
Coeficiente de determinación (r^2)	> 0.98	0.998
Coeficiente de determinación lineal (r)	> 0.99	0.999
Ecuación de regresión lineal	$y = bx + a$	$y = 0.0364x + 0.013$
Significación estadística del intercepto (a)	t exp < 2.14	t exp = 1.618
Significación estadística de la pendiente (b)	t exp > 2.14	t exp = 71.214
Homogeneidad de las varianzas (Test de Cochran)	G exp < 0.68	G exp = 0.353
Análisis de varianza (ANOVA)	F1 exp > 4.600	F1 exp = 5360.254
	F2 exp < 3.739	F2 exp = 0.783

Figura 11. Curva de calibración.

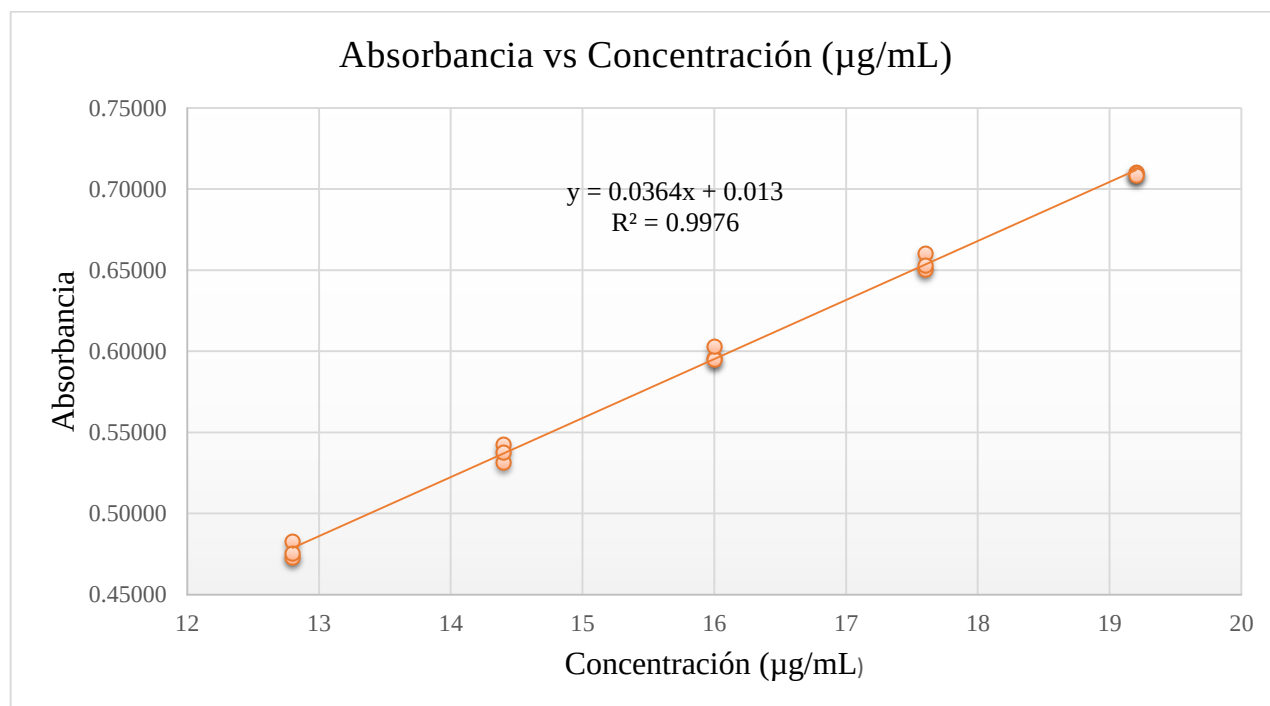
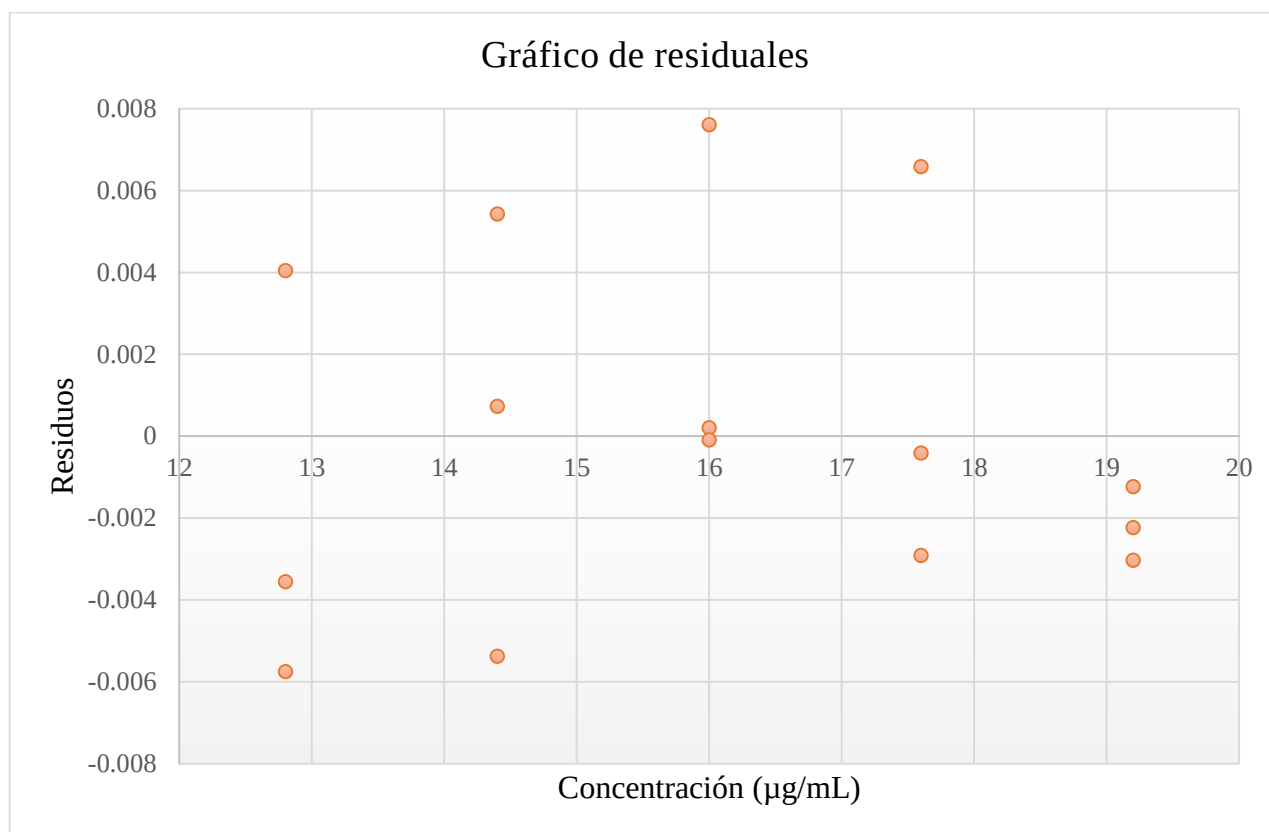




Figura 12. Gráficos de residuales.





7.7. ROBUSTEZ.

Tabla 45. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.08 N.

Absorbancias de las soluciones en ácido clorhídrico 0.08 N				
Longitudes de onda	Estándar		Placebo cargado	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	0.5286	0.5293	0.5304	0.534
	0.5287	0.5289	0.5289	0.5329
	0.5278	0.5281	0.5295	0.53
290 nm	0.5883	0.5883	0.5914	0.592
	0.5871	0.5845	0.5907	0.5916
	0.5872	0.5824	0.5908	0.5905
292 nm	0.5952	0.5911	0.6012	0.5982
	0.5939	0.5976	0.5991	0.5996
	0.5947	0.6005	0.5999	0.5988

Tabla 46. Resultados en ácido clorhídrico 0.08 N.

Solución en ácido clorhídrico 0.08 N						
Longitudes de onda	Promedio % Recuperado		Desviación estándar		Coeficiente de variación	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	100.2	100.7	0.1697	0.2749	0.1693	0.2731
290 nm	100.6	101.1	0.0498	0.3989	0.0495	0.3946
292 nm	100.9	100.4	0.0768	0.7456	0.0761	0.7425
Promedio por celda	100.6	100.7	0.0988	0.4731	0.0983	0.4701
Total	100.7%		0.28%		0.28%	



Tabla 47. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.1 N.

Absorbancias de las soluciones en ácido clorhídrico 0.1 N				
Longitudes de onda	Estándar		Placebo cargado	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	0.5293	0.5418	0.5275	0.5356
	0.5342	0.5421	0.5379	0.5409
	0.5332	0.5426	0.5369	0.5445
290 nm	0.5914	0.6089	0.5923	0.6101
	0.5897	0.6037	0.5886	0.599
	0.5881	0.6028	0.5889	0.5978
292 nm	0.6048	0.602	0.6071	0.6019
	0.6025	0.5998	0.6037	0.6005
	0.6028	0.6008	0.6043	0.6003

Tabla 48. Resultados en ácido clorhídrico 0.1 N.

Solución en ácido clorhídrico 0.1 N						
Longitudes de onda	Promedio % Recuperado		Desviación estándar		Coeficiente de variación	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	100.3	99.7	0.5966	0.7541	0.5945	0.7567
290 nm	100.0	99.5	0.1911	0.5785	0.1910	0.5813
292 nm	100.3	100.0	0.0936	0.1018	0.0933	0.1018
Promedio por celda	100.2	99.7	0.2938	0.4781	0.2930	0.4799
Total	100.0%		0.39%		0.39%	



Tabla 49. Absorbancias de las soluciones por celdas/longitudes de ondas/ácido clorhídrico 0.12 N.

Absorbancias de las soluciones en ácido clorhídrico 0.12 N				
Longitudes de onda	Estándar		Placebo cargado	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	0.5324	0.536	0.5323	0.5367
	0.5305	0.5368	0.5302	0.5361
	0.5308	0.5368	0.5313	0.5391
290 nm	0.59	0.5905	0.5909	0.5906
	0.5896	0.5925	0.5884	0.5925
	0.5979	0.5895	0.5935	0.59
292 nm	0.5981	0.607	0.5987	0.6034
	0.5987	0.6073	0.5985	0.6124
	0.5981	0.6074	0.5981	0.6039

Tabla 50. Resultados en ácido clorhídrico 0.12 N.

Solución en ácido clorhídrico 0.12 N						
Longitudes de onda	Promedio % Recuperado		Desviación estándar		Coeficiente de variación	
	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2	Celda 1	Celda 2
288 nm	100.0	100.1	0.0784	0.2796	0.0784	0.2792
290 nm	99.7	100.0	0.4471	0.0449	0.4483	0.0449
292 nm	100.0	99.9	0.0696	0.8224	0.0696	0.8233
Promedio por celda	99.9	100.0	0.1984	0.3823	0.1988	0.3825
Total	100.0%		0.29%		0.29%	



Tabla 51. Resultados total.

% Recuperado total	100.2%
Desviación estándar total	0.32%
Coeficiente de variación total	0.32%

Tabla 52. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	$100.0 \pm 2.0\%$	100.2%
Coeficiente de variación	$< 2.0\%$	0.32%



7.8. ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES.

Tabla 53. Absorbancias y concentración obtenida por tiempo y condición de almacenamiento.

Condición de almacenamiento de las soluciones	Absorbancia/tiempo de almacenamiento			Concentración obtenida (µg/mL)		
	Inicial	24 hrs.	48 hrs.	Inicial	24 hrs.	48 hrs.
Ambiente	0.5973	0.5901	0.5838	16.0970	15.9030	15.7332
	0.5904	0.5932	0.5848	15.9111	15.9865	15.7601
	0.6054	0.5957	0.5855	16.3153	16.0539	15.7790
40 °C	0.6077	0.5902	0.5874	16.3773	15.9057	15.8302
	0.5968	0.5904	0.5884	16.0835	15.9111	15.8572
	0.5926	0.5851	0.5902	15.9704	15.7682	15.9057
Refrigerado	0.5966	0.5957	0.5864	16.0782	16.0539	15.8033
	0.5958	0.5962	0.587	16.0566	16.0674	15.8194
	0.5933	0.5955	0.5876	15.9892	16.0485	15.8356



Tabla 54. Porcentajes de recuperado.

Condición de almacenamiento de las soluciones	% Recuperado por condición de almacenamiento/tiempo de almacenamiento		
	Inicial	24 hrs.	48 hrs
Ambiente	100.6	99.4	98.3
	99.4	99.9	98.5
	102.0	100.3	98.6
40 °C	102.4	99.4	98.9
	100.5	99.4	99.1
	99.8	98.6	99.4
Refrigerado	100.5	100.3	98.8
	100.4	100.4	98.9
	99.9	100.3	99.0
Promedio	99.7%		

Tabla 55. Resultados.

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Promedio del % Recuperado	100.0 ± 2.0%	99.7%



8. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.

8.1. IDONEIDAD.

8.1.1. IDONEIDAD DEL SISTEMA INSTRUMENTAL.

Los resultados de los parámetros espectrofotométricos evaluados y emitidos por el espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50 para la prueba EP/BP fueron cumplidos satisfactoriamente, lo que indica que tiene un desempeño adecuado pudiéndose desarrollar la validación del método de cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral confiando que el equipo brindó resultados fiables.

8.1.2. PRECISIÓN DE LA IDONEIDAD DEL SISTEMA.

En la evaluación de la precisión de la idoneidad del sistema se cuantificó una solución estándar de albendazol a la concentración nominal y a través del tratamiento estadístico de las absorbancias obtenidas, se obtuvo un coeficiente de variación de 0.3781% (menor al 2.0%) (Tabla 25), lo cual indica que el método es apto y se obtendrán datos fiables de él, pudiéndose llevar a cabo satisfactoriamente la validación del método de cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral.

8.2. ESPECIFICIDAD.

Los espectros de absorción obtenidos en la identificación de las soluciones de estándar, placebo y placebo cargo de albendazol en la figura 7, demuestran que los excipientes utilizados en la formulación del producto no emiten una señal significativa a la longitud de máxima absorción del principio activo (290 nm). Igualmente se demostró de manera estadística a través del porcentaje de discrepancia, obteniéndose un resultado de 0.07803% (menor al 4.0%) (Tabla 27), que se puede medir el analito de interés a la longitud de onda de máxima absorción de manera inequívoca.



8.3. EXACTITUD.

Se midió el parámetro de la exactitud a través de método de muestra problema cargada con analito, a las lecturas obtenidas se le calculó el porcentaje de recuperado que fue de 99.9% encontrándose dentro de los parámetros ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 29), lo que indica que el método recupera satisfactoriamente el analito presente en la muestra, se obtuvo un coeficiente de variación de 1.2303% (menor al 2.0%) (Tabla 29), se aplicó la prueba de *t*-student para la media obteniéndose una *t* experimental de 0.2963 (menor que la *t* tabla 2.31) (Tabla 29) para un nivel de significancia de 0.05 lo que demuestra que no hay diferencia significativa entre la media y el 100%, de igual manera se le aplicó el test de homogeneidad de las varianzas para los tres niveles de concentración obteniéndose una *G* experimental de 0.8237 (menor que la *G* tabla 0.87) (Tabla 29) lo que demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas, el factor concentración no influye significativamente en la variabilidad de los resultados.

8.4. PRECISIÓN.

8.4.1. PREPETIBILIDAD DEL SISTEMA.

A través de este ensayo se logró demostrar que no existe variabilidad significativa provocada exclusivamente por el instrumento. Se demuestras a través del porcentaje de recuperado obtenido de la cuantificación de una solución estándar de albendazol a concentración nominal de 100.4% encontrándose dentro del parámetros ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 31) y un coeficiente de variación de 1.0979% (menor al 2.0%) (Tabla 31).

8.4.2. REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

Por medio de este ensayo se demostró que no existe una variación significativa provocada por el proceso de la preparación de las soluciones muestras, que en este caso sería las soluciones de placebo cargado, hasta la lectura de la misma, confirmándose a través del



porcentaje de recuperado obtenido de la cuantificación de una solución de placebo cargado de albendazol a concentración nominal de 99.7827% encontrándose dentro del parámetros ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 33) y un coeficiente de variación de 0.1138% (menor al 2.0%) (Tabla 33).

8.4.3. PRECISIÓN INTERMEDIA.

En este ensayo se demostró a través del tratamiento estadístico de las absorbancias obtenidas por dos analistas en diferentes días, teniendo un porcentaje de recuperado de 100.4% y 100.5% respectivamente por analista y un porcentaje de recuperado global de 100.5% encontrándose dentro del parámetro ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 36), además de un coeficientes de variación de 0.6980% y 0.7699% respectivamente para cada analista y un coeficiente de variación global de 0.7339% (menor al 2.0%) (Tabla 36) que no existe variación significativa en la precisión alcanzada por los dos analistas en diferentes días bajo distintas condiciones de trabajo.

8.5. LINEALIDAD Y RANGO.

8.5.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Para la determinación de la linealidad del sistema se verificó con soluciones estándar en un intervalo de concentración de 12.8 $\mu\text{g/mL}$ a 19.2 $\mu\text{g/mL}$, con estos puntos se realizó una curva de calibración cuya ecuación de regresión lineal fue $y = 0.0363x + 0.0121$, coeficiente de determinación 0.9961, coeficiente de determinación lineal 0.9980 de albendazol. Con el gráfico de la curva de calibración (Figura 9) se demuestra que se cumple la ley de Beer, ya que las absorbancias son directamente proporcional a las concentraciones.

Al aplicar el test de significación estadística del intercepto la t experimental fue de 1.1874 (menor que la t tabla 2.14) (Tabla 40) para un nivel de significancia de 0.05, donde los intervalos de confianza incluyen el 0 (-0.0099 a 0.0342) por lo que no representan sesgo; de igual manera al aplicar el test de significación estadística de la pendiente la t experimental



fue de 57.3441 (mayor que la t tabla 2.14) (Tabla 40) para un nivel de significancia de 0.05, donde los intervalos de confianza no incluyen el 0 (0.0349 a 0.0376).

A los datos experimentales se le aplicó el test de homogeneidad de las varianzas siendo la G experimental 0.4298 (menor que la G de tabla 0.68) (Tabla 40), lo que demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas, el factor concentración no interfiere en la variabilidad de los resultados. Se realizó un gráfico (Figura 10) y análisis de residuales en el que se demuestra que no existe tendencia entre los resultados.

Se realizó un análisis de varianzas en la que se demuestra que existe una relación lineal entre la variable dependiente (absorbancia) y la variable independiente (concentración) ya que F_1 experimental es de 3288.3443 (mayor que F_1 de tabla 4.600) (Tabla 40) demostrando que la pendiente es distinta de 0 y F_2 experimental fue de 0.9132 (menor que F_2 de tabla 3.739) (Tabla 40) demostrando que existe linealidad entre los resultados.

8.5.2. LINEALIDAD DEL MÉTODO.

Para la determinación de la linealidad del método se verificó con soluciones de placebo cargado en un intervalo de concentración de 12.8 $\mu\text{g/mL}$ a 19.2 $\mu\text{g/mL}$, con estos puntos se realizó una curva de calibración cuya ecuación de regresión lineal fue $y = 0.0364x + 0.013$, coeficiente de determinación 0.9976, coeficiente de determinación lineal 0.9988 de albendazol. Con el gráfico de la curva de calibración (Figura 11) se demuestra que se cumple la ley de Beer, ya que las absorbancias son directamente proporcional a las concentraciones.

Al aplicar el test de significación estadística del intercepto la t experimental fue de 1.6179 (menor que la t tabla 2.14) (Tabla 44) para un nivel de significancia de 0.05, donde los intervalos de confianza incluyen el 0 (-0.0043 a 0.0303) por lo que no representan sesgo; de igual manera al aplicar el test de significación estadística de la pendiente la t experimental fue de 71.2138 (mayor que la t tabla 2.14) (Tabla 44) para un nivel de significancia de 0.05, donde los intervalos de confianza no incluyen el 0 (0.0353 a 0.0375).



A los datos experimentales se le aplicó el test de homogeneidad de las varianzas siendo la G experimental 0.3527 (menor que la G de tabla 0.68) (Tabla 44), lo que demuestra que las varianzas de las concentraciones son homogéneas, el factor concentración no interfiere en la variabilidad de los resultados. Se realizó un gráfico (Figura 12) y análisis de residuales en el que se demuestra que no existe tendencia entre los resultados.

Se realizó un análisis de varianzas en la que se demuestra que existe una relación lineal entre la variable dependiente (absorbancia) y la variable independiente (concentración) ya que F1 experimental es de 5360.2545 (mayor que F1 de tabla 4.600) (Tabla 44) demostrando que la pendiente es distinta de 0 y F2 experimental fue de 0.7831 (menor que F2 de tabla 3.739) (Tabla 44) demostrando que existe linealidad entre los resultados.

8.6. ROBUSTEZ.

Se demostró que la variación en factores determinante del método como son longitud de onda de máxima absorción, concentración del ácido clorhídrico o utilizar distintas celdas no afecta significativamente en los resultados obtenidos ya que se obtuvo un porcentaje de recuperado de 100.2% encontrándose dentro del parámetro ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 52) y un coeficiente de variación de 0.3204% (menor al 2.0%) (Tabla 52).

8.7. ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES.

Se determinó que la concentración de la solución de placebo cargado no varía al momento de su preparación y luego de un lapso de 24 y 48 horas almacenadas en distintos ambientes como fueron temperatura ambiente, refrigeración y a 40 °C obteniendo un porcentaje de recuperado final de 99.7% encontrándose dentro del parámetro ($100.0 \pm 2.0\%$) (Tabla 55), esto indica que la solución de placebo cargado conservará su condición sin que se altere la potencia del analito en un tiempo no mayor de 48 horas luego de su preparación y sin importar el ambiente de almacenamiento.



9. CONCLUSIONES.

Se elaboró un protocolo de validación para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por la técnica espectrofotometría UV/Visible para el laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller.

Al evaluar los parámetros de desempeño para procedimientos analíticos categoría I en el método analítico propuesto para la cuantificación de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral por espectrofotometría ultravioleta cumple con las exigencias dadas por el RTCA 11.03.39: 06 y USP36/NF31 demostrando que es específico porque detecta el analito de albendazol de forma inequívoca sin interferencia de los excipientes de la formulación; es exacto porque permite la recuperación del analito presente en la muestra en su totalidad; es preciso porque se obtuvieron resultados reproducibles y repetitivos, y es lineal ya que los resultados son proporcional a la concentración del analito de albendazol en la muestra.

Al evaluar los parámetros adicionales se verificó que el desempeño del equipo espectrofotométrico y el método son idóneos, obteniéndose resultados confiables; el método es robusto ya que al realizársele variaciones a factores críticos con respecto a las condiciones descritas, los cuales son susceptibles de producirse durante el desarrollo de rutina de dicho método no afecta significativamente en el recuperado del analito de albendazol presente en la muestra; las soluciones de placebo cargado son estables frente a diferentes condiciones de almacenamientos y en un lapso menor o igual a 48 horas después de su preparación.

Los resultados de los parámetros de validación evaluados indican que el procedimiento analítico propuesto para la cuantificación del producto de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral es exacto y preciso brindándole al Laboratorio de producción de medicamentos Mauricio Díaz Müller un método de análisis de rutina alternativo a los farmacopéicos para dicho producto que se ajusta a los recursos que posee, además de ser un método con un bajo costo pero que brinda resultados confiable y reproducibles.



10. RECOMENDACIONES.

A LOS ESTUDIANTES

- A los estudiantes de la carrera de farmacia de la UNAN - León se interesen y contribuyan al desarrollo y validación de nuevos métodos de validación que se ajusten a los recursos que posee el Laboratorio Mauricio Díaz Müller.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

- Que las autoridades estimulen e incentiven en conjunto con el personal docente a los alumnos al desarrollo científico de nuevos métodos de análisis que minimicen los costos.
- Crear instalaciones y ambientes debidamente equipados con material analítico y equipos calibrados para el desarrollo de investigaciones científicas propuestas en el área de control de calidad.

AL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER

- Insistir a los estudiantes a que apoyen en la realización de la validación de los métodos de análisis de los productos.

AL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS

- Seguir brindándole a los alumnos sus recursos para la investigación científica y trabajo monográficos.



11. BIBLIOGRAFÍA.

1. Aguirre Ortega, L., García García F. J., García Junca T., Illera Fontanet M., Juncadella Roca M., Lizondo Carbó M., Lluch Sanfeliu A. M., Martin Pomar M., Mateos Pérez B., Ochoa de Echayuen Aguilar C., Ortega Sánchez M. A., Pujol Forn M., Reig Serrat M., Torres Gonfaus M., Antúnez Moreno S., Carro Viñarás A. M., García Ávila A., Niubó Prats C., Oliver Agüera M. P., Caturla Perales M. C., Celma Lezcano C., Encima García G., Jansat Rufach J. M., Nieto Abad C., Pérez Cuadrado J. A., Rovira Guerín M., Tost Robusté D. y Cortes Loras R. (2001). Validación de métodos analíticos. *Asociación española de farmacéuticos de la industria*. Barcelona, España.
2. Brunton, L. L., Chabner, B. A. y Knollmann, B. C. (2012). *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica* (12ª Ed.). México, D. F.: The McGraw-Hill Companies, Inc.
3. Christian, G. D. (2009). *Química analítica* (6ª Ed.). México, D. F.: International Thomson Editores, S. A
4. Duymovich C., Acheme R., Sesini S. y Mazziotta D. (2005). Guía práctica de actualización. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. *Programa de Control de Calidad Instrumental: Espectrofotómetros y Fotocolorímetros*, 39 (4).
5. Equipo técnico de la Oficina Nacional de Acreditación (ONA) (2012). *Política para la validación de métodos de laboratorios de ensayos y calibración*. DOC-ONA-12-011. Versión N°:01.
6. European pharmacopoeia (8th Ed.). Electronic version.
7. Hansen S., Pedersen-Bjergaard S. & Rasmussen K. (2012). *Introduction to pharmaceutical chemical analysis* (1st Ed.). United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd.
8. Harris, D. C. (2013). *Análisis químico cuantitativo* (3ª Ed.). Barcelona: Reverté.
9. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C. y Baptista Lucio M. P. (2010). *Metodología de la investigación* (5ª Ed.). México, D. F.: The McGraw-Hill Companies, Inc.



10. Herrera Santi1 M. T., García Peña C. M., Pérez Valdés D., Martínez Espinosa V., Suárez Pérez Y. y García Pulpeiro O. (2017). Desarrollo y validación de un método analítico por espectrofotometría aplicable al control de la calidad del albendazol 200 mg/5 ml, polvo para suspensión. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentaria*, 2396 (3).
11. Katzung, B. G., Masters, S. B. y Trevor, A. J. (2012). *Farmacología básica y clínica* (12ª Ed.). México, D. F.: The McGraw-Hill Companies, Inc.
12. Magnusson, B. y Ornemark, U. (2016). La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. *Guía Eurachem* (1ª Ed.). España. Disponible en www.eurachem.org
13. Martínez Osorio F. S. y Pérez Espinoza I. A. (2009). *Calibración de un espectrofotómetro UV-Visible y evaluación de la Incertidumbre*. León, Nicaragua.
14. Miller N. J. y Miller J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (4ª Ed). Madrid, España: Pearson educación S. A.
15. MINECO, CONACYT, MIFIC, SIC y MEIC. *Reglamento técnico Centroamericano: Productos farmacéuticos. Medicamentos para uso humano. Verificación de la calidad*. RTCA 11.03.47:07
16. MINECO, CONACYT, MIFIC, SIC y MEIC. *Reglamento técnico Centroamericano: Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos*. RTCA 11.03.39:06.
17. Moffat A. C., Osselton M. D. & Widdop B. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material* (4th Ed.). London, United Kingdom: Pharmaceutical Press
18. Nicaragua. Ministerio de Salud. División General de Insumos Médicos. División de Uso Racional de Insumos Médicos. (2014). *Formulario nacional de medicamentos* (7ª Ed.). Managua, Nicaragua.
19. Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna*. Agilent Technologies. Alemania.



20. Organización mundial de la salud, Red panamericana de armonización de la reglamentación farmacéutica (2002). Validación de métodos analíticos. *Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico*, Anexo 3 informe 36.
21. Paredes Ayala A. S. I. (2015). *Validación del método analítico por espectrofotometría UV/VIS para la cuantificación de albendazol suspensión comercial*. Trujillo, Perú.
22. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. M. y Crouch, S. R. (2005). *Fundamentos de química analítica* (8ª Ed.). México, D. F.: International Thomson Editores, S. A.
23. United stated pharmacopoeia 36th revision (2013). Electronic versión.



12. ANEXOS.

FORMULA CUALI-CUANTITATIVA DE ALBENDAZADOL 200 mg/5 mL SUSPENSIÓN ORAL.

Tabla 56. Fórmula cuali-cuantitativa de albendazol 200 mg/5 mL suspensión oral.

COMPONENTES	FÓRMULA UNITARIA DE 5 mL
Albendazol	200 mg
Avicel RC591	82.5 mg
Metilparabeno	5.5 mg
Propilparabeno	1.5 mg
Azúcar refinada	1 g
Sorbitol	1.25 mL
Glicerina	0.75 mL
Tween 40	5 mg
Sabor fresa	2.5 mg
Color anaranjado	0.1 mg
Agua destilada	C.S.P. 5 mL

PREPARACIÓN DE PLACEBO DE ALBENDAZOL 200 mg/5 mL.

Técnica de fabricación de 400 mL de placebo de Albendazol 200 mg/5 mL.

- Pesar la materia prima.
- Preparar el jarabe simple, disolviendo 84 g de azúcar refinada en 90 mL de agua destilada, utilizando beaker de 500 mL, agitar con el agitador eléctrico por 10 minutos.
- Una vez preparado el jarabe simple, filtrar por 3 mantas previamente hervidas. Enjuagar el beaker, adicionar de nuevo el jarabe pero ya filtrado.
- Preparar una solución de sorbitol más agua destilada (80 mL de sorbitol, más 30 mL de agua destilada), en un beaker, mezclando con una espátula de acero inoxidable, de esta mezcla tomar 60 mL y adicionar a un beaker de vidrio y calentar a 85 °C,



midiendo con termómetro; luego adicionar 0.120 g de Propil parabeno, poco a poco, una vez disuelto este, agregar 0.440 g de Metil parabeno, poco a poco hasta disolver. Luego enfriar agregando poco a poco 6 mL de agua destilada, hasta que la solución aproximadamente 50 °C. Inmediatamente adicionar a un beaker de 250 mL la solución que contiene los conservadores, después en ésta y con agitación constante agregar poco a poco 6.600 g de Avicel RC 591, hasta completa humectación. Luego adicionarla al mortero para comprobar dicha humectación.

- Adicionar el Avicel RC 591 previamente humectado, al beaker de fabricación que contiene el jarabe simple ya filtrado, lavando el mortero con el sobrante de la mezcla (sorbitol más agua destilada), más agua destilada, agregar el enjuague al tanque de fabricación y continuar agitando.
- Adicionar 60 mL de glicerina al beaker de preparación donde está el jarabe simple.
- Adicionar 0.400 g de Tween 40 al beaker de fabricación, con agitación constante.
- Adicionar en un beaker de 50 mL, 20 mL de agua destilada calentar a (50 a 60 °C), en éste agregar poco a poco con agitación constante los 0.200 g de sabor fresa, utilizar espátula para disolver, una vez disuelto agregar al beaker de fabricación.
- Disolver 0.008 g de colorante anaranjado en 8 mL de agua destilada con ayuda de un agitador de vidrio, una vez disuelto éste, agregar al beaker de fabricación.
- Agregar 20 mL de Sorbitol al beaker de fabricación y aforar a 400 mL con agua destilada, continuar agitando durante 15 minutos.
- Medir pH (4.5 – 5.5).
- Filtrar por malla (tamiz redondo), de acero inoxidable.
- Envasar en frasco plástico, color blanco de 120 mL, usando jeringa descartable de 50 mL con tapado manual, usando guantes descartables.



Figura 13. Tabla de valores críticos de t .

Tabla A.2. La distribución t .

<i>Valor de t para un intervalo de confianza de</i> <i>Valor crítico de t para valores de P de número</i> <i>de grados de libertad</i>	<i>90%</i> <i>0.10</i>	<i>95%</i> <i>0.05</i>	<i>98%</i> <i>0.02</i>	<i>99%</i> <i>0.01</i>
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58



Figura 14. Tabla de valores críticos de F para un nivel de significancia de 0.05

264 **Tabla A.3.** Valores críticos de F para un contraste de una cola ($P = 0.05$).

Apéndice 2

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.



Figura 15. Espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50.

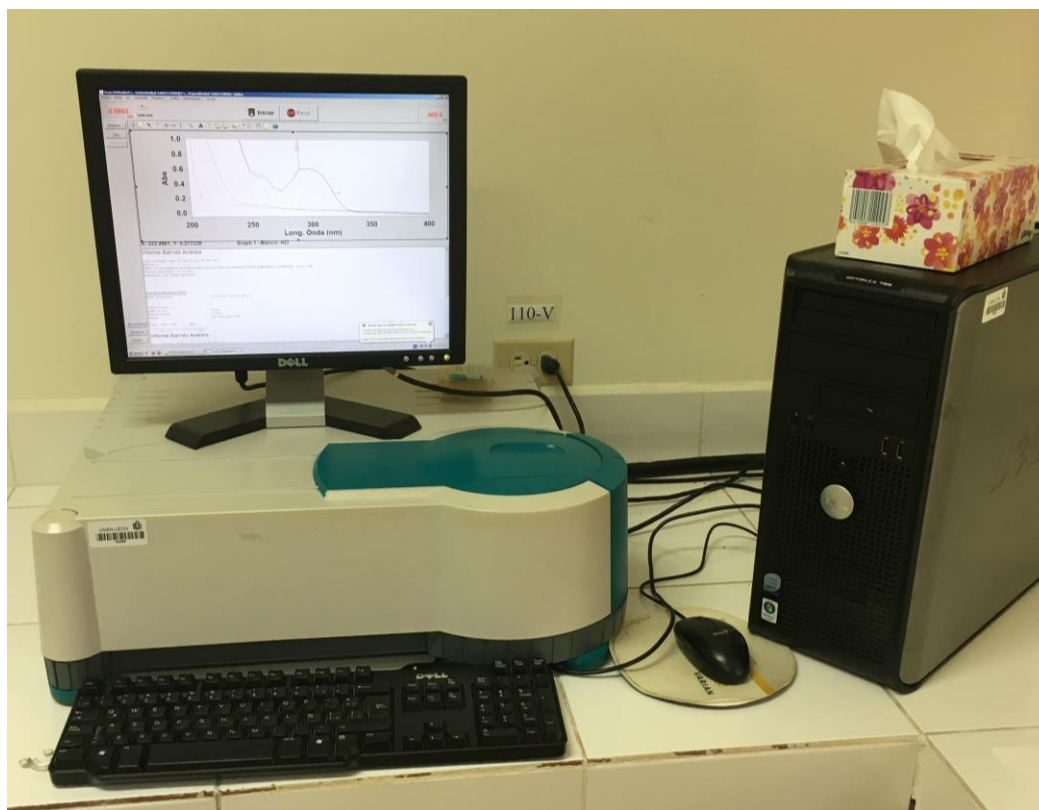




Figura 17. Verificación de la balanza A&D HM-120 con masa de 50 g.



Figura 18. Material de referencia marca Starna para la verificación del espectrofotómetro UV/Vis.

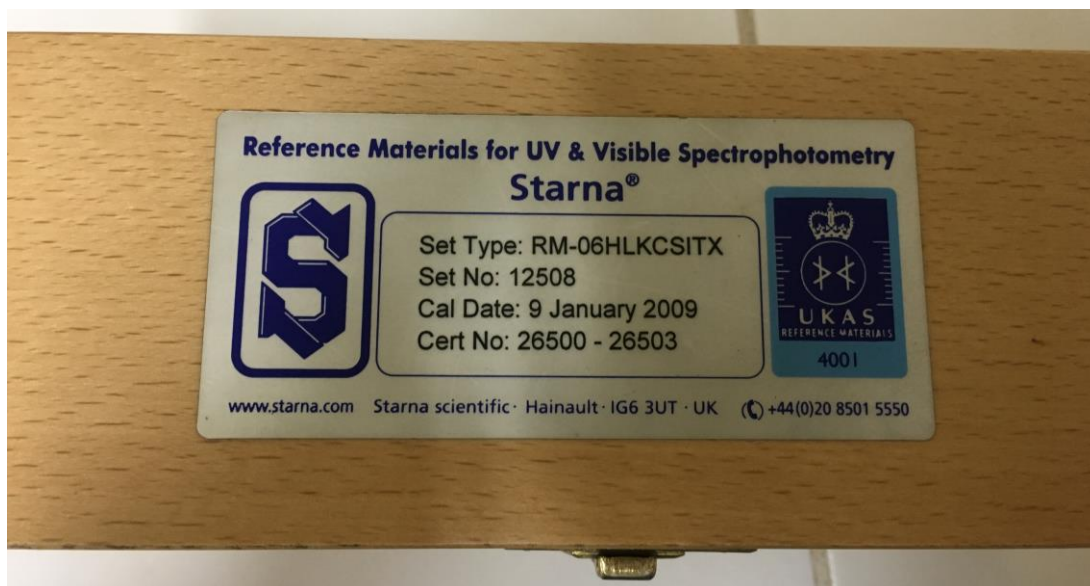


Figura 19. Material de referencia marca Starna para la verificación del espectrofotómetro UV/Vis.

