

Desarrollo de métodos analíticos

Tema: Desarrollo de métodos analíticos

Nombre del alumno:

Fecha:

Estudio de caso para la validación de un método analítico, Cuantificación de Ácido acetilsalicílico en tabletas por CLAR-UV

La Farmacéutica "Salud S.A." ha desarrollado una nueva formulación de tabletas de 500 mg de ácido acetil salicílico. Para el control de calidad de rutina, se requiere un método analítico específico, preciso y robusto que pueda cuantificar con precisión el contenido de AAS y también detectar su principal producto de degradación, el ácido salicílico (AS).

El método que se emplea actualmente es por una valoración, sin embargo no es selectivo y no puede distinguir entre el AAS y el AS. Por lo tanto, el equipo de Control de Calidad debe desarrollar y validar un nuevo método por cromatografía de líquidos de alta resolución con detección uv (CLAR-UV), que sea capaz de realizar esta distinción y cuantificar ambos analitos.

Desarrollo de método:

- Técnica Seleccionada: Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detección UV.
- Columna: C18 (150 mm x 4.6 mm, 5 μ m).
- Fase Móvil: Mezcla de tampón fosfato 25 mM (pH 3.0) y acetonitrilo en proporción 65:35 (v/v).
- Flujo: 1.0 mL/min.
- Preparación de Muestra: Se tritura y homogeniza una tableta. Se pesa una cantidad equivalente a 50 mg de AAS, se disuelve en la fase móvil y se diluye a 100 mL. Se filtra antes de la inyección.
- Preparación del Estándar: Se prepara una solución estándar de AAS de referencia de 0.5 mg/mL en fase móvil.

1. ¿Cómo se garantiza que el método por CLAR-UV es selectivo para los analitos?

Figura 1. Cromatograma de la solución estándar de ácido salicílico.

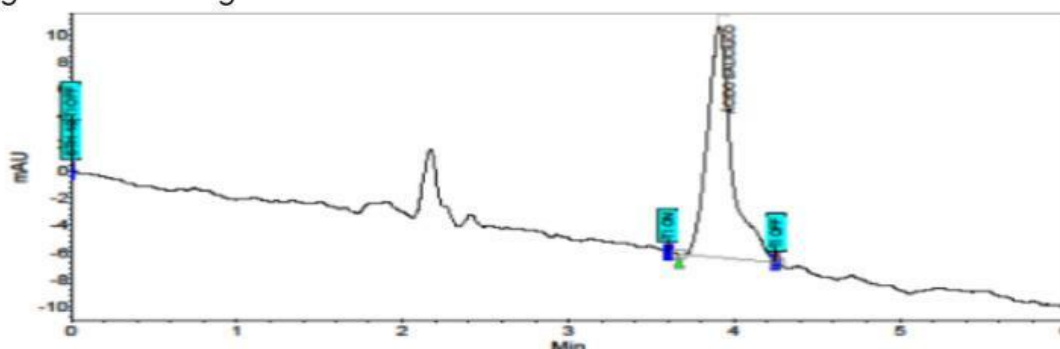
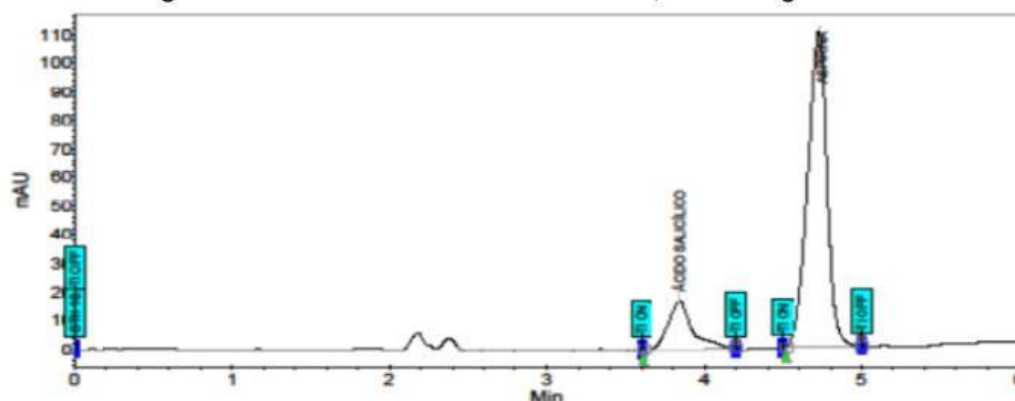


Figura 2. Cromatograma de la solución muestra de Aspirina cargada con ácido salicílico.



2. Revisa los siguientes espectros de UV ¿Cual es λ más recomendable para efectuar la detección UV de AAS y AS? Justifica tu respuesta.

Figura 3. Espectro de UV del AAS.

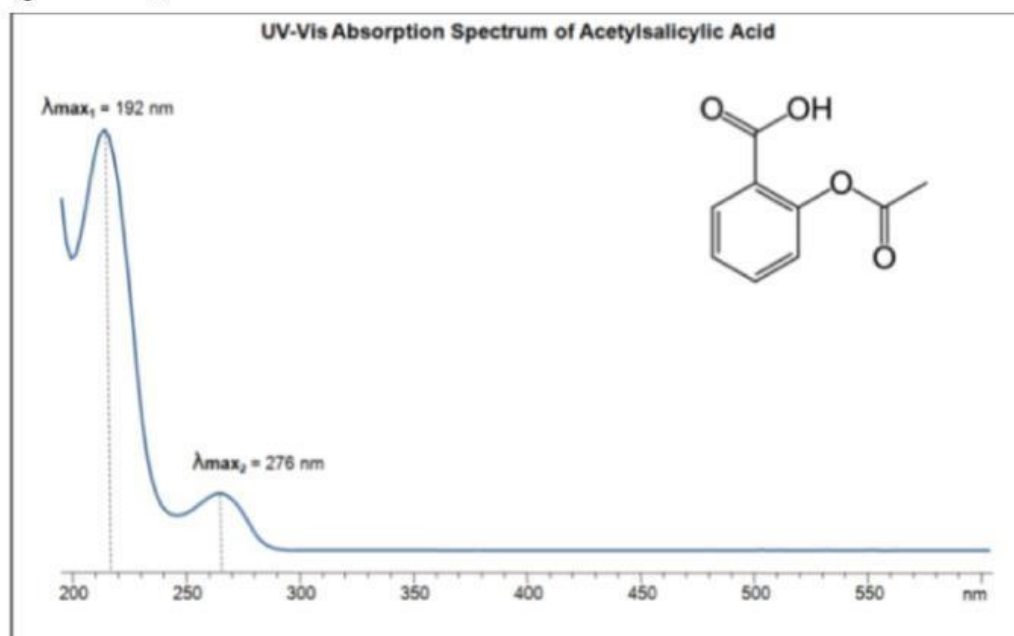
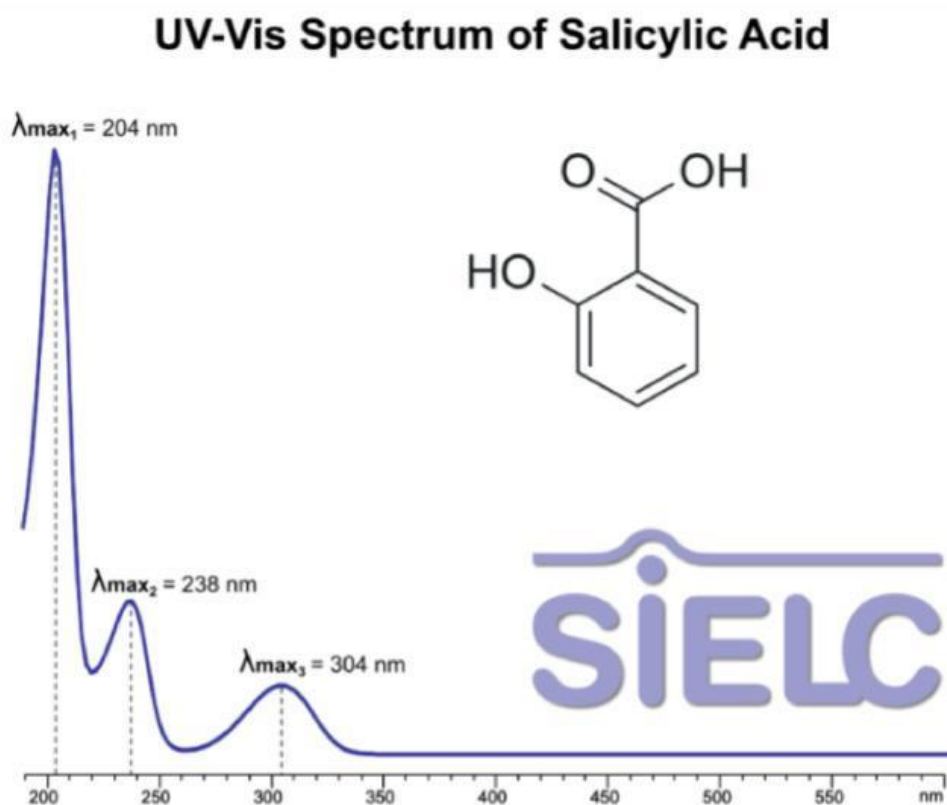


Figura 4. Espectro de UV del AS.



-
3. El objetivo principal de la validación era demostrar que el método era:
 - a) El más económico del mercado
 - b) Adecuado para su propósito previsto
 - c) Más rápido que el mercado anterior
 - d) Capaz de analizar cualquier tipo de muestra.
 2. ¿Por qué se seleccionó la técnica de HPLC-UV para este análisis?
 - a) porque es la técnica más barata disponible
 - b) porque permite separar y cuantificar específicamente el AAS y el ácido salicílico
 - c) Porque es la técnica más rápida para este tipo de análisis
 - d) porque no requiere preparación de muestra
 3. ¿Qué compuesto específico se forma cuando el ácido acetilsalicílico (AAS) se degrada?
 - a) ácido cítrico

- b) ácido salicílico
- c) ácido acético
- d) ácido benzoico

4. ¿Cuál era el problema principal con el método de análisis existente (la valoración) para las tabletas de aspirina?

- a) era demasiado lento
- b) no era específico y no se podía distinguir entre el AAS y su producto de degradación.
- c) Requiere equipos muy costosos
- d) Solo podía usarse en laboratorios especializados.

5. Complete la siguiente tabla en donde se establece los parámetros de validación que permita al método ser validado y realiza una metodología detallada que te permita evaluar los parámetros de validación

Título			
Referencia			
Parámetro	Analizar	Obtener	Criterio
	Se prepararon por triplicado un blanco y cinco niveles de concentración para obtener una curva de calibración. Se obtuvieron 10 curvas de calibración		Coeficiente de determinación mayor o igual a 0.995
	Se prepararon por triplicado un blanco y cinco niveles de concentración para obtener una curva de calibración. Se obtuvieron 10 curvas de calibración		Corresponde al valor de la pendiente de la ecuación de la curva de calibración obtenida por los mínimos cuadrados la cual debe ser distinta a cero
	Se utilizó el método de "adición estándar". Se añadieron cantidades conocidas de AAS estándar (80%, 100% y 120% de la cantidad declarada) a una cantidad conocida de placebo. Cada nivel se preparó por		Se acepta un DER 1.5% para cada nivel.

	triplicado		
	Se prepararon y analizaron 6 réplicas de una misma muestra de tableta (a 100% de la concentración objetivo) por el mismo analista, el mismo día y con el mismo equipo.		Se acepta un CV% no mayor al 2%
	Se utilizó la relación señal/ruido (S/N). Se inyectó una solución diluida de AS y se midió la señal.		$LD < LC$ $LC \leq 1 \text{ mg/L}$

6. A partir de los datos que se proporcionan evalúa los parámetros, para llevar a la validación.

Puedes utilizar herramientas como excel y subir tu trabajo al final.

Linealidad y sensibilidad

Concentración (mg/mL)	Área del Pico (mAU)
0.10	2650
0.30	7680
0.50	12750
0.70	17890
0.90	22950

Ecuación de la recta:

Coefficiente de correlación:

Conclusión:

Precisión:

Réplica	Concentración encontrada (mg/mL)	% del valor teórico
1	0.498	99.6%

2	0.502	100.4%
3	0.501	100.2%
4	0.499	99.8%
5	0.500	100.0%
6	0.502	100.4%

Media:

Desviación Estándar:

DER:

Conclusión:

Exactitud

Nivel	Cantidad añadida (mg)	Cantidad encontrada (mg)	% Recuperación
80%	40.0	39.8	99.5%
80%	40.0	40.2	100.5%
80%	40.0	39.9	99.8%
100%	50.0	50.1	100.2%
100%	50.0	49.8	99.6%
100%	50.0	50.3	100.6%
120%	60.0	59.7	99.5%
120%	60.0	60.2	100.3%
120%	60.0	59.9	99.8%

Recuperación Media global:

DER Total:

Conclusión:

LOD Y LOQ

Parámetro	Valor (µg/mL)	% respecto al AAS
LOD	0,05	0.01%
LOQ	0.15	0.03%

LOD: Concentración donde $S/N \geq 3:1$

LOQ: Concentración donde $S/N \geq 10:1$

7. Reporta los resultados obtenidos y determina si el método fue considerado "VALIDADO" y aprobado para su implementación en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacéutica "Salud S.A." para la liberación rutinaria de lotes de tabletas de Aspirina. Justifica tu respuesta.