



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2024,
Volumen 8, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO
ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS PARA
LA DETERMINACIÓN DEL PORCIENTO DISUELTO DE
TABLETAS DE PARACETAMOL**

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF AN ANALYTICAL
METHOD BY UV/VIS SPECTROPHOMETRY FOR THE
DETERMINATION OF THE DISSOLVED PERCENTAGE OF
PARACETAMOL TABLETS

Kassandra Arias Rivas
Universidad de Guadalajara

Cuauhtémoc Raúl García Lemus
Universidad de Guadalajara

Adriana Cavazos Garduño
Universidad de Guadalajara

César Ricardo Cortez Alvarez
Universidad de Guadalajara

Monseratt Abud González
Universidad de Guadalajara

Desarrollo y Validación de un Método Analítico por Espectrofotometría Uv/Vis para la Determinación del porcentaje disuelto de tabletas de paracetamol

Kassandra Arias Rivas¹

kassandraa18@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0002-2993-9962>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco, México

Cuauhtémoc Raúl García Lemus

cuauhtemoc.glemus@academicos.udg.mx

<https://orcid.org/0009-0009-7772-2849>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco, México

Adriana Cavazos Garduño

adriana.cavazos@academicos.udg.mx

<https://orcid.org/0000-0002-3077-5371>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco, México

César Ricardo Cortez Alvarez

cesar.cortez@academicos.udg.mx

<https://orcid.org/0000-0002-3763-7115>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco, México

Monseratt Abud González

monseratt.abud@academicos.udg.mx

<https://orcid.org/0000-0001-8935-6123>

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco, México

RESUMEN

Se realizó el desarrollo y validación de un método analítico por espectrofotometría Uv/Vis para su posterior utilización en la determinación del porcentaje disuelto de tabletas de paracetamol para estudios de intercambiabilidad mediante el factor de similitud de distintas marcas que contienen paracetamol al compararse con la referencia. La validación de un método analítico incluye la evaluación de una serie de parámetros de evaluación y es un proceso que establece mediante estudios de laboratorio que el método es apropiado para el uso propuesto. El paracetamol es un analgésico y antipirético descubierto en el siglo XIX y en la actualidad es uno de los medicamentos de venta libre más utilizados para el tratamiento del dolor y la fiebre. Para la validación se utilizó como referencia la guía de validación de la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC) en su documento P-058 para métodos fisicoquímicos normalizados y así garantizar sus criterios tanto de aplicabilidad como de confianza. De acuerdo a la guía el método desarrollado resultó ser lineal, exacto y preciso para el objetivo con el cual fue diseñado.

Palabras clave: paracetamol, preciso, método validado, perfiles de disolución, lineal.

¹ Autor principal

Correspondencia: kassandraa18@gmail.com

Development and validation of an analytical method by Uv/Vis spectrophotometry for the determination of the dissolved percentage of paracetamol tablets

ABSTRACT

The development and validation of an analytical method by Uv/Vis spectrophotometry was carried out for its subsequent use in the determination of the dissolved percentage of paracetamol tablets for interchangeability studies through the similarity factor of different brands that contain paracetamol when compared with the reference. Validation of an analytical method includes the evaluation of a series of parameters and is a process that establishes through laboratory studies that the method is appropriate for the proposed use. Paracetamol is an analgesic and antipyretic discovered in the 19th century and is currently one of the most widely used over-the-counter medications for the treatment of pain and fever. For validation, the validation guide of the Commission for Analytical Control and Expansion of Coverage (CCAYAC) in its document P-058 for standardized physicochemical methods is used as a reference and thus guarantee its criteria of both applicability and confidence. According to the guide, the developed method turned out to be linear, exact and precise for the objective for which it was designed.

Keywords: paracetamol, accurate, validated method, dissolution profiles, linear.

Artículo recibido 05 septiembre 2024

Aceptado para publicación: 15 octubre 2024



INTRODUCCIÓN

El paracetamol es uno de los medicamentos más utilizados por la población en general como analgésico y antipirético de primera opción debido a varios factores tales como su fácil acceso, su bajo costo, los pocos efectos secundarios que presenta, así como interacciones leves con otros medicamentos; por este motivo distintas farmacéuticas han generado su medicamento genérico con este principio activo. (1)

El paracetamol es un analgésico y antipirético de primer uso en el primer escalón de la escala del dolor según la OMS (6), su origen data del siglo XIX mediante la reducción de p-nitrofenol en ácido acético glacial, sin embargo, no tuvo fines medicinales hasta dos décadas después. El paracetamol fue puesto a la venta en el año de 1955 con la marca innovadora de TYLENOL quien tuvo la patente algunos años. Hoy en día el uso del paracetamol sigue teniendo el mismo uso sin embargo no es considerado dentro de los AINES debido a que no posee propiedades antiinflamatorias; es un medicamento de muy bajo costo y de fácil acceso para la población en general además de que sus niveles de seguridad son altos, y constituye una alternativa para el tratamiento del dolor para personas sensibles al ácido acetilsalicílico debido a que no irrita el estómago (12).

La validación de un método analítico es la evidencia documentada generada a través de la recopilación y evaluación científica de los datos obtenidos en la calificación y de las pruebas específicas a lo largo de todo un ciclo de vida de un producto cuya finalidad es demostrar, consistencia y robustez de un proceso dado en cuanto a su capacidad para entregar un producto de calidad (2). Considerando lo anterior se ha realizado la validación de un método analítico que permita evaluar los porcentajes disueltos de paracetamol para posteriormente calcular el factor de similitud (F2), el método en cuestión es espectrofotometría ultravioleta/visible y se ha validado con la guía de validación de la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCYAC) en su documento P-058 (2).



METODOLOGÍA

Balanza Analítica; Marca: Ohaus, Modelo: Explorer.

Espectrofotometro Uv/Vis; longitud de onda de 200-700 nm, marca: Espectronic, Modelo: Genesys

Para el desarrollo del método analítico se realizó una búsqueda bibliográfica sobre la metodología, y se realizó un barrido en el medio de disolución que la farmacopea establecía para la disolución de tabletas (solución amortiguadora de fosfatos de pH 5,8) de paracetamol con la sustancia de referencia de paracetamol en el intervalo de 400 a 200 nm de longitud de onda. Se realizó la adecuación del sistema para obtener las condiciones óptimas que se utilizaron en la validación y análisis de las muestras.

El intervalo de trabajo se estableció a partir del punto central de la curva que corresponde al 100% y a una concentración de 5.5 µg/ml de paracetamol y construir una curva de 5 niveles que corresponden al 50, 75, 100, 125 y 150%.

Analizar cada nivel a la longitud de onda seleccionada para establecer si las absorbancias son las adecuadas.

Determinar los parámetros de la validación del método de acuerdo a CCAYAC p-058 como son:

1.1 Linealidad del sistema

Preparación del medio de disolución.

Colocar en un matraz volumétrico de 250 mL, 62.5 mL de solución de fosfato monobásico de potasio 0.2 M, mas 4.5 mL de la solución de NaOH 0.2 M y aforar con agua, mezclar y aforar con agua, mezclar y medir el pH, este debe ser de 5.8.

Preparar 3 curvas de calibración con 5 niveles de concentración (50%, 75%, 100%, 125%, 150% equivalentes a 2.2; 4.4; 5.5; 6.6; 8.8 µg/ml respectivamente en solución amortiguadora de fosfatos de pH 5.8). Tomar lectura de las absorbancias de cada una de las soluciones en el espectrofotómetro en la región ultravioleta a una longitud de onda máxima de 243 nm de longitud de onda; se registraron las absorbancias obtenidas en cada una de las curvas y se graficaron los resultados de cada una de manera independiente con la relación de la concentración obtenida y el coeficiente de correlación además elaborar un gráfico de residuales mediante una hoja de cálculo de Excel y se verifica la linealidad de manera visual.



1.2 Linealidad del método

Preparar 3 curvas de calibración con 5 niveles de concentración (50%, 75%, 100%, 125%, 150% equivalentes a 2.2; 4.4; 5.5; 6.6; 8.8 µg/ml respectivamente en solución amortiguadora de fosfatos de pH 5.8 adicionada de placebo de tabletas). Se leyeron las absorbancias de cada una de las soluciones en el espectrofotómetro en la región ultravioleta a una longitud de onda máxima de 243 nm; registrar las absorbancias obtenidas en cada una de las curvas, se graficaron los resultados en una hoja de cálculo de Excel y se verificó la linealidad de manera visual.

1.3 Intervalo de trabajo

Con base a los resultados obtenidos en el intervalo lineal con las 3 curvas realizadas de manera individual, calcular con una hoja de Excel el valor de la pendiente de la recta y el coeficiente de correlación.

1.4 Límites de detección y cuantificación

Basado en los resultados obtenidos en la linealidad del sistema y con una Hoja de calculo de Excel calcular la pendiente de la recta, la desviación estándar y se estimaron los límites con las siguientes fórmulas

Límite de Detección = $3.3 \cdot (sb_0) / m$

Límite de Cuantificación = $10 \cdot (sb_0) / m$

1.5 Recuperación y sesgo

Con los resultados obtenidos en las 3 curvas del intervalo lineal calcular el promedio del porcentaje de la recuperación y en base a la relación existente entre la concentración adicionada y la calculada, mediante una resta aritmética establecer el parámetro

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

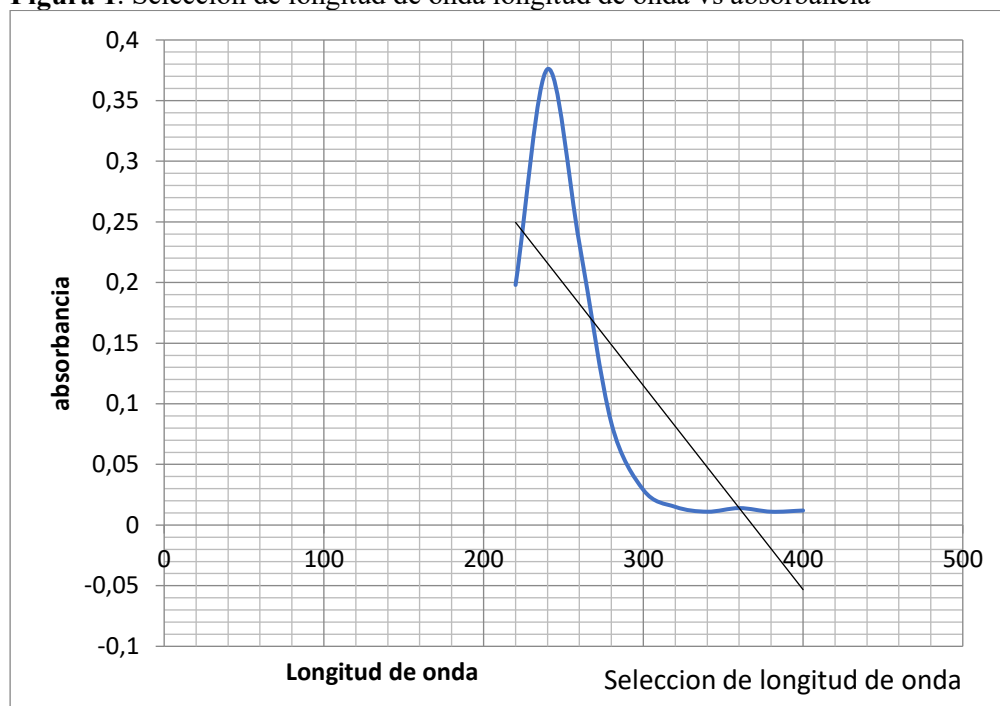
Desarrollo del método

En base a la revisión bibliográfica y a la búsqueda experimental de la longitud de onda de máxima absorción se selecciona el valor de 243 nm, el medio de disolución utilizado fue una solución reguladora de fosfatos pH 5.8, el indicado en la monografía correspondiente de acuerdo a la FEUM 13 EDICIÓN.

En la figura 1 se observa la longitud de onda seleccionada que la representa el máximo del pico de

absorción empleando las condiciones antes mencionadas.

Figura 1. Selección de longitud de onda longitud de onda vs absorbancia



Linealidad del sistema

En la determinación del parámetro de linealidad del sistema se obtuvieron los resultados de la tabla 1

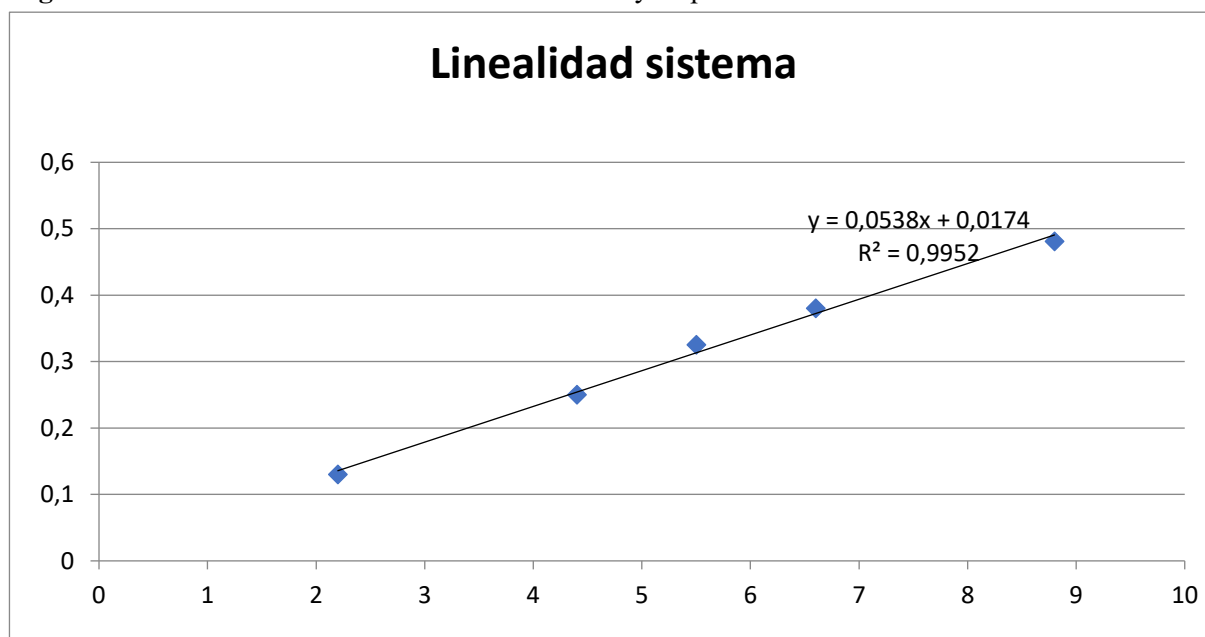
Tabla 1: Resultados obtenidos de las 3 replicas para la evaluación de la linealidad del sistema.

Con los resultados antes observados se obtuvo el gráfico de la relación de concentración contra respuesta en absorbancia para el sistema que se muestra en la figura 1, así mismo se muestra la ecuación de línea recta obtenida por regresión lineal y el valor del coeficiente de determinación mayor a lo especificado en guía utilizada.

	Nivel	Concentración adicionada	Absorbancia
Curva 1	N1	2.2	0.13
	N2	4.4	0.25
	N3	5.5	0.325
	N4	6.6	0.38
	N5	8.8	0.481
Curva 2	N1	2.2	0.122

Curva 3	N2	4.4	0.244	
	N3	5.5	0.32	
	N4	6.6	0.386	
	N5	8.8	0.48	
	N1	2.2	0.125	
	N2	4.4	0.253	
	N3	5.5	0.321	
	N4	6.6	0.39	
	N5	8.8	0.52	
	r	0.9952	b	0.0174
	m	0.0538		

Figura 1: Gráfico de la relación entre concentración y respuesta de la linealidad del sistema



Linealidad del método

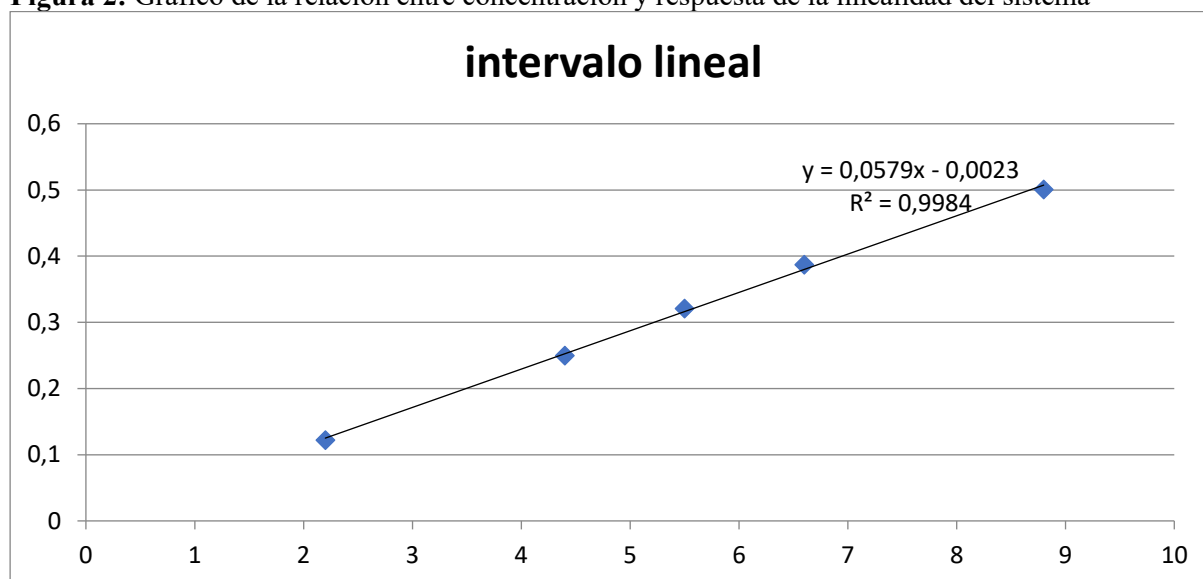
Para el análisis de la linealidad del método al analizar por triplicado los cinco niveles de concentración se obtuvieron los siguientes resultados.

La tabla 2 muestra los datos para la evaluación de la linealidad del métodos en sus 3 replicas

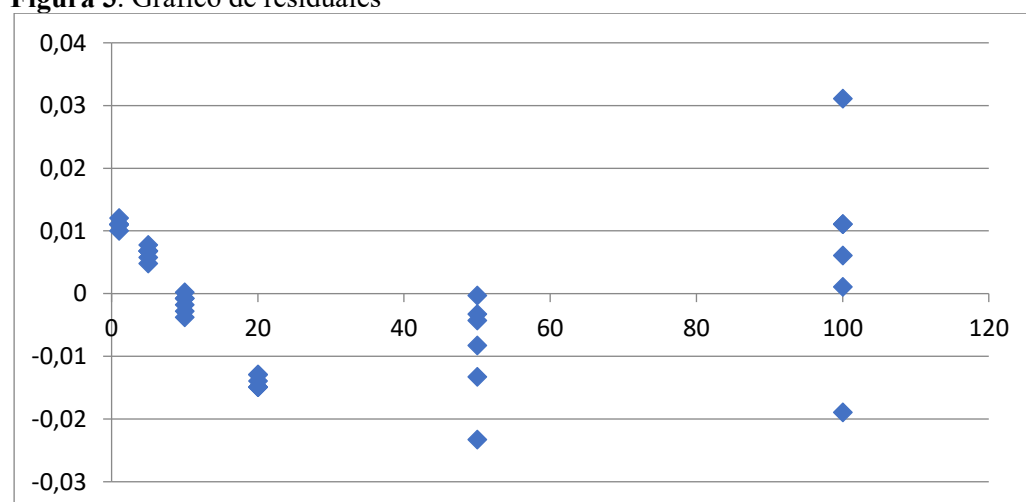
Tabla 2: Resultados obtenidos de las 3 replicas para la evaluación de la linealidad del método

Con los resultados antes observados se obtuvo el gráfico de la relación de concentración contra respuesta en absorbancia del método que se muestra en la figura 1, así mismo se muestra la ecuación de linea recta obtenida por regresión lineal y el valor del coeficiente de determinación mayor a lo especificado en guía utilizada.

	Nivel	Concentración	Absorbancia	
		adicionada		
Curva 1	N1	2.2	0.122	
	N2	4.4	0.25	
	N3	5.5	0.321	
	N4	6.6	0.387	
	N5	8.8	0.501	
Curva 2	N1	2.2	0.123	
	N2	4.4	0.246	
	N3	5.5	0.322	
	N4	6.6	0.389	
	N5	8.8	0.503	
Curva 3	N1	2.2	0.121	
	N2	4.4	0.247	
	N3	5.5	0.323	
	N4	6.6	0.387	
	N5	8.8	0.508	
	r	0.9984	b	0.0579

Figura 2: Gráfico de la relación entre concentración y respuesta de la linealidad del sistema

El la figura 3 se muestra la aleatoriedad de los residuales alrededor de la recta para los datos de las curvas con las que se evaluó el intervalo lineal. El comportamiento de los residuales no presenta tendencias sistemáticas, es decir, presenta un comportamiento aleatorio lo que es indicativo de linealidad,

Figura 3. Gráfico de residuales

Intervalo de trabajo

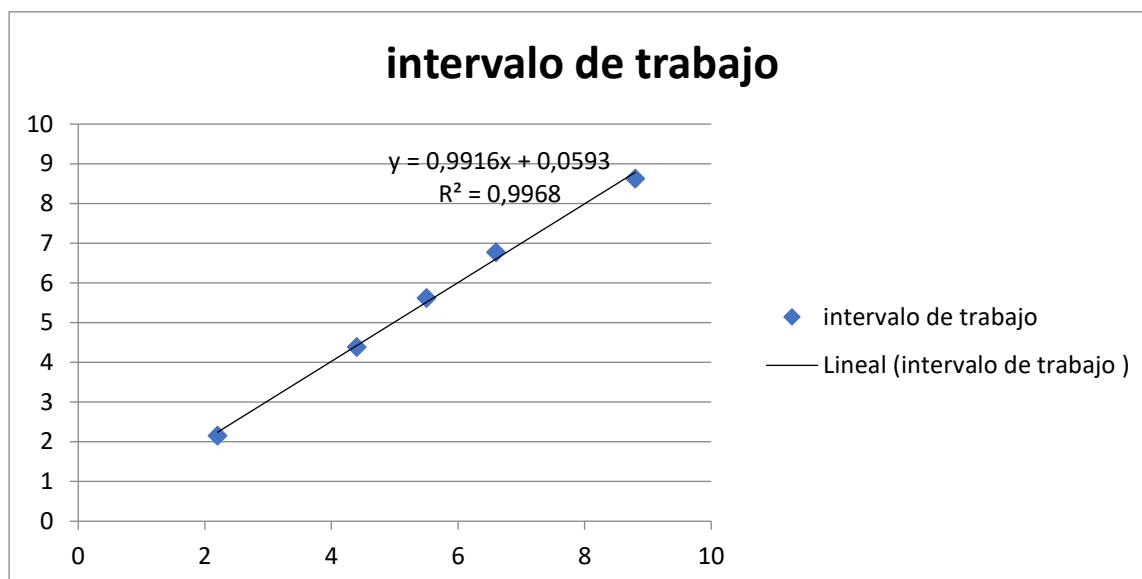
Para el análisis del intervalo de trabajo la tabla 3.muestra los resultados obtenidos para su evaluación (Concentración adicionada vs. concentración obtenida).

Tabla 3: Resultados de la concentración adicionada vs concentración recuperada.

	Nivel	Concentración adicionada	Absorbancia	Concentración calculada
Curva 1	N1	2.2	0.122	2.151
	N2	4.4	0.25	4.3856
	N3	5.5	0.321	5.6247
	N4	6.6	0.387	6.7766
	N5	8.8	0.501	8.6265
Curva 2	N1	2.2	0.123	2.1692
	N2	4.4	0.246	4.3158
	N3	5.5	0.322	5.6422
	N4	6.6	0.389	6.8115
	N5	8.8	0.503	8.3647
Curva 3	N1	2.2	0.121	2.1343
	N2	4.4	0.247	4.333
	N3	5.5	0.323	5.6596
	N4	6.6	0.387	6.7766
	N5	8.8	0.508	8.9581
	R	0.9968	B	0.9916
	M	0.0593		

Con los resultados antes observados se obtuvo el gráfico de la relación de concentración añadida contra la concentración recuperada que se muestra en la figura 4, así mismo se muestra la ecuación de línea recta obtenida por regresión lineal y el valor del coeficiente de correlación mayor a lo especificado en guía utilizada.

Figura 4. Intervalo de trabajo.



Límite de detección y cuantificación

Con los resultados obtenidos en la linealidad se calculó el valor de la pendiente de la recta (m), la desviación estándar de la ordenada de origen (s_{b0}) de la respuesta analítica contra el nivel de concentración adicionado y se estimaron los límites de detección y cuantificación con las siguientes fórmulas.

$$\text{Límite de Detección} = 3.3 * (s_{b0}) / m$$

$$\text{Límite de Cuantificación} = 10 * (s_{b0}) / m$$

Teniendo como resultado 0.2258 como límite inferior de detección y como límite de cuantificación el valor de 0.6840

7.2.5 Recuperación y sesgo

Con base en los resultados de recuperación obtenidos en los datos de las 3 repeticiones de la curva de calibración se establece el promedio, el porcentaje de recuperación en la validación del método resultando ser del 100.84%

Con base en los resultados de recuperación obtenidos de los datos de las tres repeticiones de la curva de calibración, se establece que el intervalo abarca de 2.01 a 8.57 y un valor para el sesgo de 5.22 lo que significa que los valores son 5.22 mayores que los valores verdaderos

Repetibilidad

Para la evaluación de la repetibilidad del sistema se obtuvieron % de coeficientes de variación inferiores a 3 que es la tolerancia máxima para métodos espectrofotométricos, mostrados en la tabla 4

Tabla 4 Repetibilidad del sistema

Nivel	Desviación	%CV
N1	0.0027	2.24
N3	0.0025	0.78
N5	0.0152	2.99

Lo mismo se observa en la tabla para la reproducibilidad o precisión intermedia, los valores del % de coeficiente de variación son inferiores a 3%, los valores se muestran en la tabla 5

Tabla 5 Reproducibilidad del método.

Nivel	Desviación	%CV
N1	0.0019	1.48
N3	0.0072	2.26
N5	0.0139	2.83

En la tabla 5 se muestran los resultados totales obtenidos en la validación del método.

Tabla 5: Parámetros y criterios del método analítico, valores de referencia de CCAYAC

Como puede observarse todos los parámetros evaluados cumplen con los criterios de CCAYAC p-58 que se utilizó como normativa de COFEPRIS para el cumplimiento de la validación del método analítico

PARAMETRO	CRITERIO DE CCAYAC	RESULTADO	DICTAMEN
Intervalo lineal	Comportamiento lineal de la gráfica	r= 0.9984	Cumple
	Datos aleatorios en el gráfico de residuales	Comportamiento lineal. Datos aleatorios en el gráfico de residuales	
Intervalo de trabajo	Pendiente con valor cercano a 1	r= 0.9968 m= 0.9916	Cumple

	Coeficiente de correlación: $r = 0.99$		
Límite de detección	Nivel inferior en el intervalo de trabajo	LD 0.2258	Cumple
Límite de cuantificación	Nivel inferior en el intervalo de trabajo	LC 0.6840	Cumple
Exactitud	Intervalo entre 98-102%	Intervalo de 99.73%	Cumple
Repetibilidad	CV < 3	N1= 2.23; N2= 0.7822; N3= 2.99	Cumple
Reproducibilidad	CV < 3	N1= 1.48; N2= 2.26; N3= 2.83	Cumple

CONCLUSIONES

La validación de un método analítico se lleva a cabo para asegurar que los procedimientos y resultados obtenidos son capaces de cumplir los requisitos para su uso previsto. Es un elemento básico en los sistemas de calidad, para confirmar por medio de evidencias que los métodos analíticos cumplen los requisitos para un uso específico, garantizando calidad, confianza y seguridad. Hoy en día existen muchas empresas farmacéuticas que producen en grandes cantidades para su comercialización paracetamol en presentación de tabletas de 500 mg; debido a que es un medicamento muy utilizado como antipirético y también utilizado para el tratamiento del dolor por lo cual es necesario realizar un análisis de ellos para poder asegurar que cumplen con lo establecido por la normatividad y así tener la seguridad que será eficiente para el paciente.

En el presente trabajo se ha desarrollado una metodología con lo cual se demuestra que los resultados obtenidos son confiables.

Se desarrolló y validó un método analítico por espectrofotometría UV/visible a 243 nm de longitud de onda de acuerdo a los requisitos establecidos en el documento CCAYAC p-058 de la COFEPRIS teniendo resultados satisfactorios en sus parámetros y criterios.

El método resultó ser lineal confiable, exacto y repetible para el uso previsto que es la determinación del porcentaje disuelto a partir de la disolución de tabletas que contienen paracetamol en una dosis de 500 mg, para el control de la calidad en su porcentaje disuelto a un tiempo determinado o evaluar perfiles de

disolución y comparación contra el medicamento de referencia utilizando el cálculo del factor de similitud o el del factor de diferencia.

LISTA DE REFERENCIAS

- Benista Marta. 2014.Paracetamol mechanism of action, applications and safety concert. *Acta polanie pharmaceutica. Vol 71 (1), 11-23*
- Comision de Control Analitico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC). 2011. *Documento P-058. Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. Secretaria de Salud. México
- Davies, A., Buchanan, A., Zeppetella, G., Porta-Sales, J., Likar, R., Weismayr. 2013. Breakthrough cancer pain: an observational study of 1000 European oncology patients. *Journal of pain and symptom management. (Internet)*. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885392413001206>
- Gaete Castro Javier. 2014. Validación de la metodología analítica de paracetamol y aplicación a un estudio de bioexención. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. *Tesis. Universidad de Chile. Chile*.
- Diario Oficial de la Federación (DOF: 19/09/2017) acuerdo que determina el tipo de prueba para demostrar la intercambiabilidad de medicamentos genéricos y define los criterios que deberían aplicárseles.
- Esteva estilita 2008. Analgésicos clasificación y uso. (Internet) *OFFARM. Vol. 27*. Consultado 11 de abril de 2019
- Esparza, M., Litter, M., Wong, M., & Mori, V. (2009). Métodos espectrofotométricos UV-Vis. *IBEROARSEN*, 3, 43-45.0
- FEUM (2021). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13ª. Edición.
- Guerrero Jaramillo, P. A. 2017. Prevalencia de la automedicación de aines relacionada con el nivel de instrucción en sujetos de 18 a 70 años que acuden a las cadenas mas que farmacias al sur de Quito abril-mayo 2016 (Master's thesis).
- Guía para la industria. 2018. Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. FDA. Consultado 21 de febrero de 2019. México. Disponible en:



<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guia-para-la-industria-pruebas-de-disolucion-de-formas-de-dosificacion-oral-solidas-de-liberacion>

Jung Colk Helgi, De Anda Jauregui Guillermo. 2015. Comparación de perfiles de disolución. Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de F2. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Universidad Autónoma Nacional. (Internet). México. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=SI870-01952012000300007

Norma Oficial Mexicana 177-SSA1-2013. Pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad. (20 de septiembre de 2013). *Diario Oficial de la Federación*.

Redondo Flores Laura. (2015). Estudio de equivalencia in vitro de formulaciones genéricas. (Tesis).

Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. Madrid. Consultado 21 de junio de 2019.

Secretaría de Salud de la Ciudad de México. 2016. Ficha técnica de medicamentos Analgesia. Dirección de insumos, medicamentos y tecnología

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2008). Principios de análisis instrumental.

