

Validación del método para control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas

Validation of the quality control method for sodium dicloxacillin in Diclofenac capsules

MSc. Yaslenis Rodríguez Hernández,^I MSc. Maikel Pérez Navarro,^{II} DraC. Yanía Suárez Pérez^{III}

^I Laboratorios GM. Guayaquil, Ecuador.

^{II} Laboratorios Dr. A. Bjarner C.A, Guayaquil, Ecuador.

^{III} Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Cuba.

RESUMEN

Introducción: la dicloxacilina sódica es un derivado semisintético perteneciente al grupo de las isoxasocil penicilinas que se presenta en suspensión oral y cápsulas. Para el análisis de la materia prima y de estas formas terminadas se recomienda el uso de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), método que no se encuentra disponible en el laboratorio productor de diclofenac cápsulas para el análisis de rutina de este medicamento.

Objetivo: desarrollar y validar un método por espectrofotometría UV útil para el control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas.

Métodos: se desarrolló un método por espectrofotometría UV directa basado en la determinación de una solución acuosa del analito a 274 nm; el cual fue una modificación del método de identificación establecido en la Farmacopea japonesa, 2011, para la materia prima. Por tratarse de un método modificado se realizó su validación a través de los parámetros linealidad, precisión, exactitud y especificidad frente a los componentes de la formulación diclofenac cápsulas.

Resultados: la concentración prefijada en el procedimiento propuesto como 100 % fue de 0,3 mg/mL de analito, lo cual está en correspondencia con la adecuada respuesta medida. En el espectro UV del dicloxacilina sódica se observaron dos máximos de absorción, a la $\lambda_{m\acute{a}xima} = 274$ nm y a 283 nm. Se seleccionó el valor de $\lambda = 274$ nm para la cuantificación. Se estableció una metodología analítica muy sencilla que permitiera obtener una solución transparente a partir de la forma terminada, de igual concentración a la solución de referencia. El cumplimiento satisfactorio de todos los criterios de aceptación establecidos para los parámetros

especificidad, linealidad, exactitud y precisión permitió demostrar la validez del método en estudio para el control de calidad de dicloxacina sódica en diclofenac cápsulas en el rango de 80 a 120 %.

Conclusiones: el método por espectrofotometría UV resulta específico, lineal, exacto y preciso para su aplicación al control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas.

Palabras clave: dicloxacilina sódica, espectrofotometría UV, cápsulas, validación.

ABSTRACT

Introduction: sodium dicloxacillin is a semi synthetic derivative of the isoxasocyl penicillin group that may appear in oral suspension form and in caplets. For the analysis of the raw materials and the finished products, it is recommended to use high performance liquid chromatography that is an unavailable method at the diclofenac capsule manufacturing lab for the routine analysis of the drug.

Objective: to develop and to validate a useful ultraviolet spectrophotometry method for the quality control of sodium dicloxacillin in Diclofenac capsules.

Methods: a direct ultraviolet spectrophotometry was developed on the basis of determination of aqueous solution of the analyte at 274 nm distance; the latter was a change from the original detection method set by the Japanese pharmacopeia, 2011 for the raw materials. Since this was a modified method, it had to be validated through parameters such as linearity, precision, accuracy and specificity versus the components of Diclofenac capsule formulation.

Results: the preset 100 % concentration in the suggested procedure was 0.3 mg/mL of analyte, which is in line with the adequate response measured in this test. The ultraviolet spectrum of sodium dicloxacillin showed two maximum absorption values, $\lambda_{\text{maximum}} = 274 \text{ nm}$ and 283 nm. The choice was $\lambda = 274 \text{ nm}$ for quantitation. The set analytical methodology was very simple and allowed obtaining a transparent solution from the finished form, which had a concentration value similar to that of the reference solution. The compliance with all the set acceptance criteria for specificity, linearity, accuracy and precision allowed demonstrating the validity of the method under study for the quality control of sodium dicloxacillin in Diclofenac capsules in the 80-120 % range

Conclusions: the ultraviolet spectrophotometry method proved to be specific, linear, accurate and precise for the quality control of sodium dicloxacillin in Diclofenac capsules.

Keywords: sodium dicloxacillin, ultraviolet spectrophotometry, capsules, validation.

INTRODUCCIÓN

Las penicilinas son antibióticos β lactámicos que han sido ampliamente utilizados como fármacos antimicrobianos por más de 80 años y aun en la actualidad, se consideran uno de los grupos más importantes de antibióticos.¹

La dicloxacilina sódica es un derivado semisintético perteneciente al grupo de las isoxasocil penicilinas que tiene como ventaja ser un potente inhibidor del

crecimiento de los estafilococos productores de penicilasas. Actúa por vía oral contra bacterias grampositivas y se indica fundamentalmente para el tratamiento de infecciones dermatológicas y del tracto respiratorio o se indica por vía intravenosa para la osteomielitis.²

Es un polvo cristalino, higroscópico, libremente soluble en agua y soluble en etanol³ que se identifica por su espectro IR, por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)^{3,4} o por su absorción al UV.⁵ Se formula como suspensión o cápsulas para administración oral⁴ ya que se considera relativamente estable en medio ácido.⁶

Desde el descubrimiento de estos antibióticos, han sido diversos los métodos analíticos propuestos para su determinación en formulaciones farmacéuticas, en alimentos de origen animal y en fluidos biológicos (plasma, suero y orina). Se refiere la aplicación además de las técnicas microbiológicas que son poco sensibles, de diversos métodos colorimétricos⁷⁻⁹ y potenciométricos^{10,11} en los análisis de rutina por su menor especificidad. Por las ventajas de la CLAR actualmente se considera el método más utilizado en el análisis de antibióticos β lactámicos en diferentes matrices.¹²⁻¹⁷

Incluso, es la técnica que oficialmente se recomienda para la cuantificación de dicloxacilina sódica como materia prima⁴⁻⁶ y en forma de cápsulas y suspensión oral.⁴ No obstante, la necesidad de contar con los recursos necesarios para utilizar un método por CLAR en el control de calidad de rutina, constituye un reto para muchos laboratorios. Por esta razón, los fabricantes destinan sus esfuerzos a buscar alternativas confiables a partir de los recursos disponibles.

Las técnicas por espectrofotometría UV-Vis, son sencillas, rápidas y no requieren de equipos complejos, ya que los espectrofotómetros por su amplia aplicación se encuentran disponibles en cualquier laboratorio.

Los métodos colorimétricos han sido desarrollados para el análisis de antibióticos β lactámicos,⁷⁻⁹ sin embargo, la aplicación de espectrofotometría UV directa no ha sido amplia.¹⁸

El objetivo de este trabajo es desarrollar y validar un método por espectrofotometría UV útil para control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas.

MÉTODOS

MÉTODO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV PARA CUANTIFICAR DICLOXACILINA SÓDICA EN DICLOFENAC CÁPSULAS

Equipos:

- Micropipeta automática EPPENDORF. MULTIPETTE® PLUS. Alemania.
- Balanza analítica Sartorius ED224S. Alemania.
- Espectrofotómetro UV- VIS, Thermo Scientific Evolution 201. Madison. USA.
- Baño ultrasónico, modelo 3510, marca Branson.

Se utilizó el método reportado en la Farmacopea Japonesa del 2011⁶ para la identificación de dicloxacilina sódica materia prima, el cual se adaptó para su utilización en la forma terminada.

Teniendo en cuenta la forma farmacéutica en estudio para la cual se propone el método, se aplicó el procedimiento previo establecido para tomar la muestra representativa del analito a partir de las cápsulas dicloxen.

Preparación de la solución de referencia (SR):

1. Pesar con exactitud 15 mg de dicloxacilina sódica estándar de referencia (estándar de referencia secundario, lote: 10040002, código: 1189009, proveedor Sagra) y trasvasar a un volumétrico de 50 mL.
2. Añadir 20 mL de H₂O y agitar por 5 min en baño ultrasónico.
3. Completar a volumen y mezclar por inversión para obtener una concentración de 0,3 mg/mL (equivalente al 100 %).
4. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 274 nm.

Preparación de la muestra:

1. Pesar una cantidad equivalente a 150 mg de dicloxacilina sódica a partir de las cápsulas y llevar a un volumétrico de 100 mL.
2. Añadir 50 mL de H₂O y agitar por 5 min en baño ultrasónico.
3. Completar a volumen y mezclar por inversión.
4. Tomar una alícuota de 2 mL y trasvasar a un volumétrico de 10 mL.
5. Completar a volumen con H₂O.
6. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 274 nm.

En ambos casos se utiliza agua como blanco de corrección.

Procedimiento aplicado para el cálculo:

Se calculó la concentración de dicloxacilina sódica (C_m) por comparación con la respuesta analítica obtenida para la SR de concentración conocida a través de la siguiente expresión:

$$C_m = \frac{C_p \times Abs(m)}{Abs(p)}$$

Donde:

C_m: concentración de la muestra expresada en %.

C_p: concentración de SR expresada en %.

Abs (m): obtenida para la muestra.

Abs (p): absorbancia obtenida para SR.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTROL DE CALIDAD DE DICLOXEN CÁPSULAS

El método requirió una validación según los parámetros recomendados en la USP para la categoría I, pues está destinado al control de calidad de la dicloxacilina sódica presente en diclofenac cápsulas.

Especificidad: Se evaluó por triplicado placebos cargados con materia prima (dicloxacilina sódica compactada, código: D062071), SR, placebos y blanco (H₂O). Se determinaron los espectros de absorción en el rango de 250-400 nm, así como los valores de absorbancia obtenidos a $\lambda = 274$ nm para el placebo cargado al 100 % con la materia prima y se compararon con los obtenidos para la SR de dicloxacilina sódica a la concentración equivalente al 100 %. Igualmente se compararon los resultados entre placebo y blanco. La comparación se realizó de forma cualitativa (espectros UV) y cuantitativa (absorbancia a 274 nm).

Criterio de aceptación: Ninguno de los componentes de la matriz en estudio debe dar respuesta cuantificable como interferencia en el rango de interés analítico para el analito. Los resultados entre SR y placebo cargado no deben ser diferentes desde el punto de vista estadístico.

Linealidad del sistema: Se analizaron cinco concentraciones de dicloxacilina sódica, en un rango de 80-120 % de la cantidad teórica declarada como 100 %. Se construyó una curva de calibración de respuesta analítica: absorbancia a 274 nm (Y) vs. concentración teórica de analito expresada en % (X). Los resultados se procesaron estadísticamente a través del programa STATGRAPHICS versión 5.1 (opción regresión lineal múltiple) y se determinó: r (coeficiente de correlación lineal), r² (coeficiente de determinación), a (intercepto) y b (pendiente), para el 99 % de confianza.

Criterios de aceptación:

- $r \geq 0,99$ y $r^2 \geq 0,98$.
- Prueba de proporcionalidad del método analítico o hipótesis nula de la ordenada en el origen $a = 0$. Se empleó la prueba estadística t de Student para n-2 grados de libertad, siendo n el número total de valores donde: $t_{exp} < t_{tab}$.
- Prueba de la hipótesis nula de la pendiente: $b = 0$. Se determinó a partir de una prueba ANOVA, si la $p < 0,05$, el valor de "b" difiere significativamente de cero.
- Se calcularon los factores de respuesta (f) según la expresión:

$$f = \frac{y}{x}$$

Donde:

y: respuesta analítica.

x: cantidad de analito.

Con estos resultados se determinó el valor medio (\bar{f}) y la desviación estándar (DE) de los factores de respuesta. El coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_f) debe ser menor que 5 %.

Linealidad del método/exactitud: Se construyeron las curvas de calibración (5 puntos por triplicado de 80-120 % de absorbancia vs. concentración en %) y de recuperación (% recuperado vs. % teórico de los puntos equivalentes al 80, 100 y 120 % analizando por triplicado placebos del producto). Los resultados fueron procesados estadísticamente de igual forma que la curva de calibración de la linealidad del sistema.

Además se calculó el % de recobro (R), el recobrado medio (\bar{R}) y el CV total. Se aplicó la prueba G de Cochran (G_{tab} para $\alpha = 0,05$; $k = 3$; $n = 3$), para determinar si el factor concentración tiene alguna influencia en los resultados. Por último se aplicó la prueba t de Student para demostrar que no existen diferencias significativas entre el valor medio de recobro obtenido (\bar{R}) y el 100 %.

Criterios de aceptación:

\bar{R} : 97-103 %; $CV \leq 3,0$ %

Si $G_{exp} < G_{tab}$ las varianzas de las tres concentraciones son equivalentes, o lo que es igual, el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados. Si $t_{exp} < t_{tab}$, no existen diferencias estadísticamente significativas entre \bar{R} y 100 %

Precisión

- Repetibilidad: se evaluaron por triplicado placebos cargados con analito en la concentración equivalente al 100 % y un valor bajo y otro alto comprendido dentro del rango de la linealidad. Se calculó el CV en estos tres niveles de concentración y se comparó con el criterio establecido. Las determinaciones las realizó el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo, realizando la comparación de las respuestas con la SR en cada caso.
- Precisión intermedia: participaron dos analistas, en dos días diferentes, en el mismo laboratorio. Se analizaron por triplicado en cada caso muestras procedentes de un lote industrial equivalentes al 100 %. Se calculó el CV total. Además se realizaron las pruebas: F de Snedecor (para determinar si existen diferencias significativas entre los resultados de los analistas que emplearon el mismo método y entre los días en que se realizaron los análisis) y la prueba t de Student (para comprobar si los valores medios obtenidos entre los analistas y entre los dos días en que realizaron los análisis eran homogéneos, para el nivel de significación $\alpha = 0,05$ y los grados de libertad seleccionados $F = (n_1 + n_2) - 2$).

Criterio de aceptación:

$CV \leq 3,0$ %.

Si $F_{exp} < F_{tab}$ y $t_{exp} < t_{tab}$, no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los analistas, en dos días de trabajo diferentes.

Rango: Se estableció el intervalo en que se cumplieron los criterios de linealidad, exactitud y precisión del método.

COMPARACIÓN DEL MÉTODO CON EL NORMALIZADO

Por último se procedió a comparar los resultados obtenidos al analizar por triplicado muestras procedentes de diclofenac cápsulas mediante el método espectrofotométrico desarrollado y validado para control de calidad en este trabajo, con los obtenidos al analizar las mismas muestras por el método de CLAR propuesto en la USP 32⁴ para el análisis de cápsulas de dicloxacilina sódica. Los resultados se compararon estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación doble (ANOVA-2) empleando el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

RESULTADOS

La concentración prefijada en el procedimiento propuesto como 100 % fue de 0,3 mg/mL de analito, lo cual está en correspondencia con la adecuada respuesta medida. En esta concentración de analito los valores de absorbancia estuvieron próximos a 0,5.

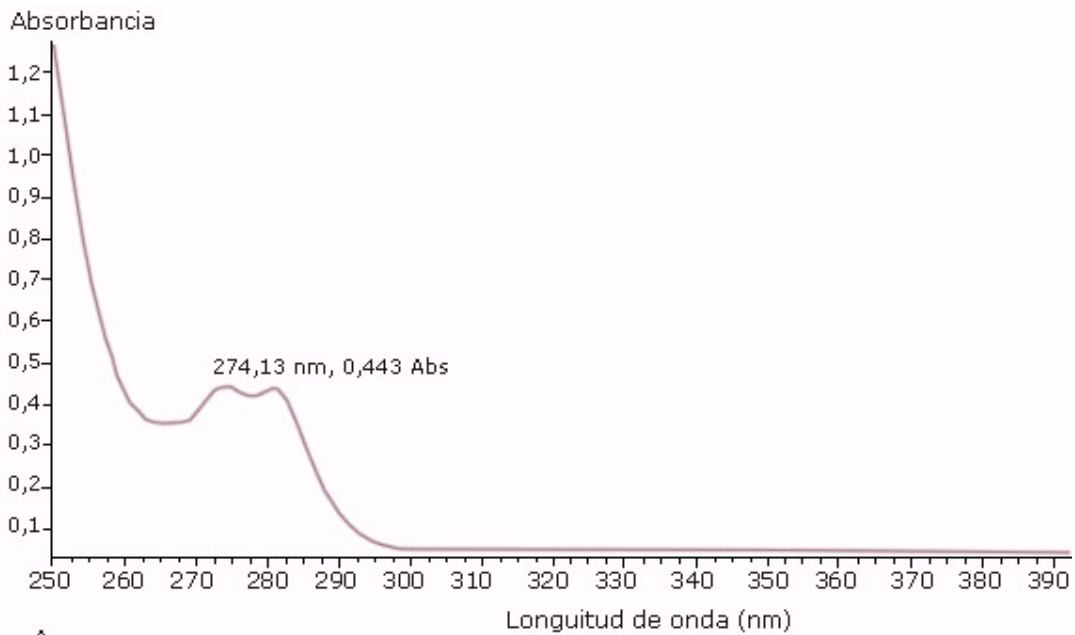
El espectro UV del dicloxacilina sódica SR en agua se muestra en la figura (A), el cual dio total correspondencia con el obtenido para dicloxacilina sódica materia prima y placebo cargado (Fig.) (B). Se observaron dos máximos de absorción, a la $\lambda_{\text{máxima}} = 274\text{nm}$ y a 283 nm. Se seleccionó el valor de $\lambda = 274\text{ nm}$ para la cuantificación.

Una vez seleccionada la λ de máxima absorción con la concentración de fármaco cuya absorbancia fue adecuada, se procedió a establecer una metodología analítica muy sencilla que permitiera obtener una solución transparente a partir de la forma terminada, de igual concentración a la SR. Esta se basó en la liberación del analito de la matriz para su disolución en medio acuoso.

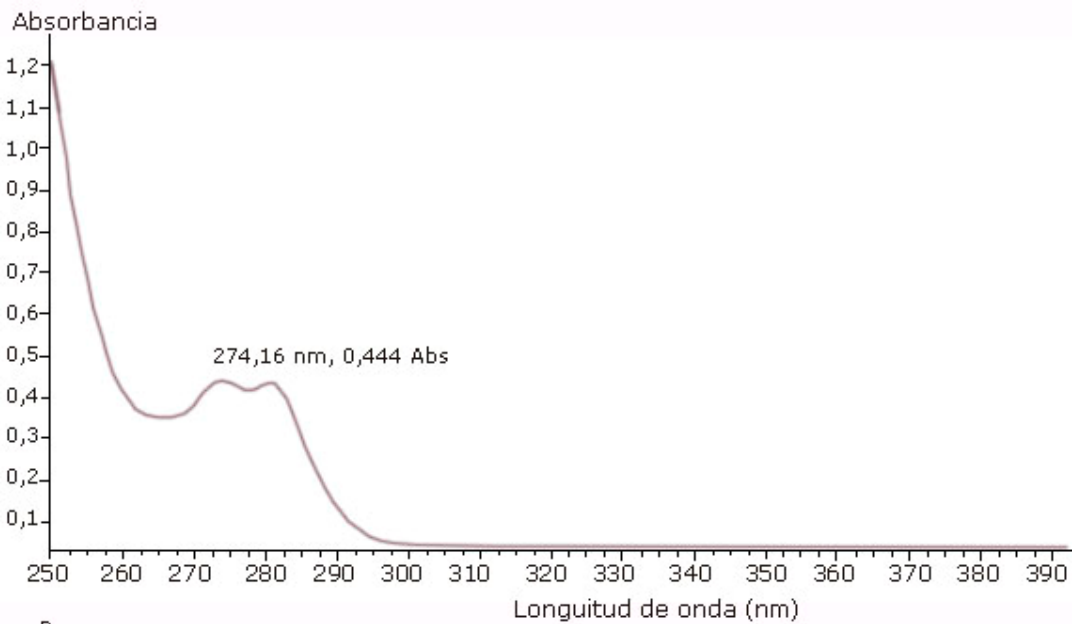
RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA CONTROL DE CALIDAD

El primer parámetro analizado durante la etapa de validación fue la especificidad. En la figura (A y B) se muestra la total correspondencia en la respuesta de SR y del placebo cargado tratado por el método propuesto. Ni el blanco ni el placebo dieron ninguna respuesta analítica en el rango evaluado. Estos resultados se corroboraron con la determinación cuantitativa de la absorbancia a 274 nm (tabla 1). Como se observa, el placebo no absorbió a la $\lambda_{\text{máxima}}$, ya que se obtuvieron resultados muy similares para blancos y placebos. Tampoco existieron diferencias entre la respuesta de SR y del placebo cargado (tabla 1), lo cual significó que no existieron interferencias en la respuesta analítica debido a la presencia de los componentes de la matriz que se emplearon en la formulación de cápsulas, lo cual demuestra la especificidad del método.

Los resultados del procesamiento estadístico de la linealidad del sistema, del método y de la exactitud, se muestran en la tabla 2. La regresión lineal aplicada dio resultados satisfactorios, ya que se logró el cumplimiento de todos los criterios estadísticos establecidos, lo cual avaló la proporcionalidad directa entre respuesta medida y la concentración en el rango de 80 a 120 % de analito.



A



B

Fig. Espectro UV de SR de dicloxacilina sódica (A) en agua y del placebo cargado con dicloxacilina sódica materia prima al 100 % (B).

Tabla 1. Resultados de la especificidad para el método en estudio

Réplicas	Resultados (absorbancia a 274 nm)			
	Blanco	Placebo	SR	Placebo + 100 % de analito
1	0,000	0,000	0,440	0,431
2	0,000	0,000	0,437	0,434
3	0,000	0,000	0,441	0,441
Media	0,000	0,000	0,439	0,435
$R_{\text{promedio}} (\%)$				99,090 %

Tabla 2. Resumen de los resultados del procesamiento estadístico de la regresión lineal para la linealidad del sistema, del método y del parámetro exactitud (curva de recuperación)

Parámetros	Resultados	Criterios
Linealidad del sistema	$y = 0,0054x - 0,0074$ $r = 0,9952, r^2 = 0,9904$ $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}} (\alpha = 0,05; n = 13) \Rightarrow -0,501019 < 2,16$ $b = 0,0054$ $t = 36,6853$ $p = 0,0000$ $CV_f = 1,49820 \%$	$y = bx + a$ $r \geq 0,99, r^2 \geq 0,98$
Linealidad del método	$y = 0,0042x + 0,0136$ $r = 0,9973, r^2 = 0,9945$ $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}} (\alpha = 0,05; n = 13) \Rightarrow 1,54025 < 2,16$ $b = 0,0042$ $t = 48,6116$ $p = 0,0000$ $CV_f = 1,080 \%$	$t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$: no significativo $b \approx 1, t$ alta, $p \leq 0,05$, significativa
Exactitud	$y = 0,9726x + 3,1033$ $r = 0,9973, r^2 = 0,9945$ $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}} (\alpha = 0,05; n = 7) \Rightarrow 1,5361 < 2,364$ $b = 0,9726$ $t = 48,6234$ $p = 0,0000$ $CV_f = 1,080 \%$	$CV_f \leq 5 \%$

Al realizar el procesamiento estadístico adicional a la regresión de los resultados de la exactitud (curva de recuperación), se comprobó el cumplimiento de todos los criterios de aceptación exigidos, tal como aparece en la [tabla 3](#), por lo que el método fue exacto y no se afectó por errores sistemáticos de forma significativa.

Para la repetibilidad se estimó el CV para tres niveles de concentración: bajo, medio y alto. Se informaron CV bajos, inferiores al 3,0 % establecido como límite ([tabla 4](#)).

Tabla 3. Resultados del parámetro exactitud del método

Concentración teórica (%)	Absorbancia	Concentración experimental (%)	R (%)
80	0,358	81,92	102,403
	0,351	80,32	100,400
	0,352	80,55	100,686
100	0,442	101,14	101,144
	0,440	100,69	100,686
	0,436	99,77	99,771
120	0,518	118,54	98,780
	0,521	119,22	99,352
	0,518	118,54	98,780
Parámetros	Criterios		Resultados
Recobrado medio (%)	97-103 %		100,12
CV (%)	≤ 3,0 %		1,180
Prueba de Cochran	$G_{exp} < G_{tab}; \alpha = 0,05; K = 3; n = 3$		$G_{exp} = 0,5375$ $G_{tab} = 0,8709$
Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$		$t_{exp} = -0,566$ $t_{tab} = 2,306$

Tabla 4. Resultados del ensayo de precisión del método

Resultados de la repetibilidad			
Concentración teórica (%)	Concentración experimental (%)	DE	CV (%)
80	80,56	0,0038	1,0705
100	100,07	0,0031	0,6954
120	118,22	0,0017	0,3337
Resultados de la precisión intermedia (%)			
	Analista 1	Analista 2	
Día 1	100,68	100,46	
	100,23	99,54	
	99,32	99,32	
Día 2	99,32	98,63	
	100,00	99,32	
	100,68	100,23	
CV (%)	0,659		
Fischer (F) y Student (t) entre analistas	$F_{exp} = 1,1629 < F_{tab} = 5,05$ $t_{exp} = -0,868 < t_{tab} = 2,23$		
Fischer (F) y Student (t) entre días	$F_{exp} = 1,5094 < F_{tab} = 5,05$ $t_{exp} = 0,411 < t_{tab} = 2,23$		

La precisión intermedia también fue evaluada y dio resultados satisfactorios. Se obtuvieron CV acordes con el criterio de aceptación ($CV \leq 3,0\%$). Se cumplieron satisfactoriamente las restantes pruebas aplicadas (tabla 4), por lo que los errores aleatorios no repercutieron en el método desarrollado.

El conjunto de resultados obtenidos permitió establecer como rango una concentración entre 0,24 y 0,36 mg/mL equivalentes al 80 y 120 % respectivamente.

En la tabla 5 se muestran los resultados de realizar la comparación de los resultados obtenidos por el método propuesto (método A) y el método normalizado de la USP⁴ (método B) empleado como referencia. Como se observa, no existieron diferencias significativas ni entre las réplicas ni entre los métodos, lo cual avala la posibilidad de aplicación del método espectrofotométrico con el objetivo para el cual fue diseñado: control de calidad.

Tabla 5. Resultados de la comparación del método en estudio (método A) con el método oficial (método B)

Réplicas	Contenido de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas (%)	
	Método A	Método B
1	101,14	100,96
2	100,69	99,98
3	99,77	100,75
Media (%)	100,533	100,563
DE	0,698	0,516
CV (%)	0,695	0,513
F entre réplicas	0,098 ns	
F entre métodos	0,438 ns	

ns: no significativo.

DISCUSIÓN

Se desarrolló un método espectrofotométrico directo, muy rápido, económico y sin impacto significativo para el medio ambiente para el control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas; pues se contaba con el equipamiento necesario para su ejecución. Su aplicación se fundamenta por la presencia de grupos cromóforos en la estructura de este compuesto y su solubilidad en agua.³⁻⁵ No obstante, el método carece de la especificidad necesaria para ampliar su alcance a otro tipo de estudio, por ejemplo, a estudios de estabilidad química.¹⁵

Se decidió aplicar un procedimiento directo, debido a que por la composición de la formulación de las cápsulas (diclofenac), no existían riesgos de interferencias por la presencia de otros componentes capaces de afectar los resultados analíticos (no presentan grupos cromóforos), siendo este el procedimiento más sencillo.

La concentración prefijada en el procedimiento propuesto como 100 % fue de 0,3 mg/mL, permitió obtener valores adecuados de absorbancia a 274 nm (absorbancia= 0,44), muy próximos al valor ideal para la cuantificación: 0,5.

Para el tratamiento de la muestra previo al análisis se consideraron las características de la matriz en estudio, por lo que se propuso el procedimiento habitual correspondiente a las formas sólidas, considerando en este caso las particularidades del trabajo con cápsulas.³⁻⁵

El procesamiento estadístico de los datos de la linealidad del sistema, del método y de la exactitud ([tabla 2](#)), dio resultados satisfactorios, ya que las ecuaciones de regresión en los tres casos, tuvieron elevados coeficientes de correlación lineal y de determinación; el intercepto no fue diferente de cero y los $CV_r < 5\%$. Estos resultados avalaron la proporcionalidad existente entre la respuesta analítica (absorbancia en linealidad y % recuperado en exactitud) y la concentración del analito en el rango analizado.

Los coeficientes de recobrado medio quedaron dentro del límite permitido (97-103 %) y el CV total fue inferior al 3,0 % establecido ([tabla 3](#)). Adicionalmente se evaluó la influencia de la concentración de analito en la varianza (S) de los resultados a través de la prueba de G de Cochran. Como la $G_{exp} < G_{tab}$, las varianzas de los tres niveles de concentración evaluados, fueron equivalentes; es decir, no influyó el factor concentración en la exactitud del método. Por su parte, la prueba t de Student corroboró la exactitud, ya que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre el recobrado medio y el 100 %.

El método fue repetible con muy baja influencia de los errores aleatorios cuando el método es ejecutado en las mismas condiciones de operación ([tabla 4](#)). En el estudio de la precisión intermedia los resultados entre réplicas mostraron baja variabilidad ([tabla 4](#)). El análisis se complementó con las pruebas de F de Snedecor y t de Student. Como $F_{exp} < F_{tab}$ en el método estudiado, no existieron diferencias significativas entre las precisiones de los analistas, independientemente del día en que se efectuó el ensayo. Los valores de las t_{exp} resultaron menores que las t_{tab} en cada caso, por lo que no existieron diferencias significativas entre los valores medios obtenidos por los analistas. El conjunto de estos resultados permitió asegurar que fueran homogéneos y ratificaron la precisión del método en estudio.

En los intervalos utilizados se garantizó adecuada exactitud y precisión, pues los puntos extremos (80 y 120 %) fueron los seleccionados como niveles bajo y alto para las determinaciones realizadas en el caso de las cápsulas.

Se confirmó la validez del método espectrofotométrico para llevar a cabo el control de la dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas, ya que no existieron diferencias estadísticamente significativas respecto al método por CLAR recomendado en la USP⁴ con este propósito, por lo que puede ser usado en la liberación de este producto terminado.

En conclusión, el método por espectrofotometría UV resultó específico, lineal, exacto y preciso para su aplicación al control de calidad de dicloxacilina sódica en diclofenac cápsulas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman and Gilman's the Pharmacological Bases of Therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
2. Flórez J. Farmacología humana. Antibióticos blactámicos. 3ra ed. Barcelona: Masson SA; 1997. p. 1085, 1088.
3. British Pharmacopoeia (BP). Her Majesty Stationary Office (versión electrónica). London: UK; 2009.
4. United States Pharmacopeia/The National Formulary, USP 32/NF 27. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2009
5. Japanese Pharmacopoeia XVI. Official Monographs. Dicloxacillin Sodium Hydrate. 16 ed. Japan; 2011. p 713.
6. Sunder TJ, Bharati CH, Ranga K, Satyanarayana P, Narayan GKASS, Kalpesh P. Identification and characterization of degradation products of dicloxacillin in bulk drug and pharmaceutical dosage forms. J Pharm Biomed Anal. 2007;43:1479-75.
7. Amin AS, Issa YM. Spectrophotometric determination of 6-aminopenicillanic acid using bromophenol blue and bromothymol blue. Mikrochim Acta. 1995;117:187.
8. Amin AS. Pyrocatechol violet in pharmaceutical analysis. Part I. A spectrophotometric method for the determination of some b-lactam antibiotics in pure and in pharmaceutical dosage forms. II Farmaco. 2001;56:211-8.
9. Salem H, Saleh GA. Selective spectrophotometric determination of phenolic β -lactam antibiotics. J Pharm Biomed Anal. 2002;28:1205-13.
10. Hopkala H. Potentiometric determination of ampicillin and amoxycillin with copper (II)-selective electrode. Chem Anal (Warsaw). 1987;32:929.
11. Yao S, Shiao J, Nie L. Potentiometric determination of penicillins with ion-selective electrodes. Talanta. 1989;36:1249.
12. Takeba K, Fujinuma K, Miyazaki T, Nakazawa H. Simultaneous determination of β -lactam antibiotics in milk by ion-pair liquid chromatography. J Chromatogr. 1998;812:205.
13. Schuegerl K, Seidel G. Monitoring of the concentration of b-lactam antibiotics and their precursors in complex cultivation media by HPLC. J Chromatogr. 1998;128:179.
14. Verdon E, Couedor P. Multiresidue analytical method for the determination of eight penicillin antibiotics in muscle tissue by ion-pair reversed-phase HPLC after precolumn derivatization. J AOAC Int. 1999;82:1083.
15. Mc B, Miller JH. System suitability criteria. A case study: The determination of impurities in dicloxacillin sodium. Pharmeuropa. 2000;12:8.

16. Alderete O, González-Esquivel DF, Misael L, Castro N. Application of a liquid chromatographic procedure for the analysis of penicillin. J Chromatography B. 2004;805:353-6.
17. Rambla-Alegre M, Marti-Centelles R, Esteve-Romero J, Carda-Broch S. Application of a liquid chromatographic procedure for the analysis of penicillin antibiotics in biological fluids and pharmaceutical formulations using sodium dodecyl sulphate/propanol mobile phases and direct injection. J Chromatography A. 2011;1218:4972-81.
18. Abdel-Moety EM. Spectrophotometric determination of amoxycillin and dicloxacillin in binary mixtures and in capsules. J Pharm Biomed Anal. 1991;9:187.

Recibido: 2 de julio de 2014.
Aprobado: 6 de agosto de 2014.

Yania Suárez Pérez. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Ave 23 No. 21425 e/ 214 y 222, La Coronela, La Lisa, CP 13600, La Habana, Cuba. Correo electrónico: yaniasp@ifal.uh.cu