

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA
CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN TABLETAS**

Informe Final de Tesis

Presentado por:

Ana Lucrecia Aquino García

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Febrero de 2005

ÍNDICE

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Antecedentes	4
4. Justificación	7
5. Objetivos	8
6. Hipótesis	9
7. Materiales y Métodos	10
8. Resultados	20
9. Discusión de Resultados	28
10. Conclusiones	33
11. Recomendaciones	35
12. Referencias	36
13. Anexos	40

1. RESUMEN

Derivado de la necesidad de disponer de un método de análisis validado y confiable para la determinación cuantitativa de Loratadina, sustancia activa formulada en tabletas de 10 mg, se desarrolló y validó un método analítico para evaluar la calidad de esta sustancia activa en la presentación de tabletas.

Con esta finalidad se desarrolló el método espectrofotométrico ultravioleta para cuantificación de Loratadina tabletas de 10 mg que cumple con las características necesarias para ser utilizado como metodología analítica validada. Este satisface los requerimientos de validación para este tipo de metodología de análisis.

Se demostró que la metodología propuesta, para la cuantificación resultó ser específica para la cuantificación de Loratadina, ya que no se encontró interferencias entre la matriz con analito y la matriz sin analito, lo que indica que los excipientes utilizados en la formulación no interfieren en el análisis de esta sustancia activa.

Además se comprobó que el método propuesto es lineal debido a que se obtuvo un coeficiente de correlación lineal (R^2) igual a 0.995636. Cumpliéndose así con la ley de Beer, ya que existe una relación directamente proporcional entre la absorbancia y la concentración, demostrada a través de valores P mayores de 0.05 para el intercepto = 0 y la pendiente = 1.

El método es preciso, porque existe concordancia entre las mediciones al hacer las repeticiones necesarias, obteniéndose un coeficiente de variación (previamente establecido) menor del 3% para las concentraciones de 7.5 hasta 15 mg por tableta. Así mismo la metodología resultó ser reproducible debido a que al analizar la misma muestra en diferentes equipos, diferentes analistas y diferentes días se demostró que la diferencia entre los resultados obtenidos no es significativa, ya que luego de aplicar un análisis de varianza se obtuvieron valores de "P" mayores de 0.05 para las concentraciones trabajadas.

El método es exacto para las concentraciones de 7.5 mg/tab hasta 15 mg/tab porque presentó un porcentaje de recuperación de 98.85 y un valor de P igual a 0.09. No obstante el método resultó no ser preciso, ni exacto a la concentración de 5 mg/tab y por lo tanto no es válida; esto puede deberse a que es una concentración muy pequeña y cualquier error o variación es muy significativa.

2. INTRODUCCIÓN

La Loratadina es un principio activo antagonista H_1 , que tiene selectividad por estos receptores y no demuestra acciones anticolinérgicas significativas; su absorción en el Sistema Nervioso Central es mínima, por lo que la frecuencia de efectos adversos también lo es (17). En la terapéutica se utiliza principalmente para el tratamiento de rinitis alérgica, problemas asmáticos y la urticaria crónica (14) (15). En consecuencia, es importante garantizar además de la eficacia, la seguridad del paciente en cuanto al uso de la dosis indicada de este producto.

En Guatemala se utiliza como base para la metodología analítica y especificaciones de una sustancia activa la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), sin embargo esta no reporta la Loratadina.

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece por medio de estudios de laboratorio, las características con las que el método cumple los requerimientos que se desean para las aplicaciones analíticas (17).

Derivado de que no se dispone de un método de análisis validado y confiable para la determinación cuantitativa de esta sustancia activa formulada en tabletas, es prioritario desarrollar y validar un método analítico para evaluar la calidad de Loratadina 10 mg tabletas.

3. ANTECEDENTES

La información de Loratadina 10 mg tableta disponible en Guatemala se refiere básicamente a aspectos de tipo farmacológico, no se encontró información referente a metodología analítica que permita cuantificar dicha sustancia en alguna forma farmacéutica en particular. Existe un trabajo de tesis titulado "Estudio comparativo de los rangos de disolución de tabletas a base de pseudoefedrina y Loratadina de liberación controlada distribuidas en Guatemala"(7).

Varios métodos analíticos se basan en las interacciones entre la materia prima y una radiación electromagnética. El fenómeno que se aprovecha en el análisis de átomos o moléculas es la absorción de la radiación o la restitución en forma de la luz de la energía que se absorbe; dentro de estos métodos se encuentra la espectroscopia en la región ultravioleta (16). El espectro en la región ultravioleta, se origina por excitación de la molécula por luz irradiante. Los espectros en esta región señalan la presencia de insaturaciones en la molécula absorbente, esto se debe a que sólo las moléculas que contienen enlaces múltiples tiene suficientes estados excitados estables para absorber en el ultravioleta cercano. La absorción de radiación por moléculas a longitudes de onda específicas se usa frecuentemente para el análisis cuantitativo, debido a la relación directa que existe entre la absorbancia y la concentración (Ley de Beer). La sensibilidad del análisis espectrométrico depende de la magnitud de la absorción y de la absorbancia mínima que puede ser medida con el grado de certeza requerido (20).

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece por medio de estudios de laboratorio, que las características del método cumplen con los parámetros establecidos para las aplicaciones analíticas. Las características

con las que debe cumplir un método analítico típico son: Exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y rango (17).

Estas se definen como:

- **Exactitud:** Es la proximidad de los resultados del ensayo contra el valor de referencia. La exactitud de un método analítico debe establecerse a través de un rango, es expresada como el porcentaje de recuperación por el ensayo de una cantidad conocida de un analito en la muestra.
- **Precisión:** Grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a varias muestras obtenidas de una muestra homogénea del producto. Usualmente es expresada en términos de desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación).
- **Especificidad:** Habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.
- **Límite de detección:** Es la cantidad mínima de un analito en una muestra que se puede detectar, pero no necesariamente cuantificar, bajo condiciones experimentales establecidas. Se asegura que el analito se encuentra presente en la muestra.
- **Límite de cuantificación:** Cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptable bajo condiciones experimentales establecidas. Generalmente se expresa como la concentración de analito (porcentaje, partes por billón) en una muestra.
- **Linealidad y rango:** Linealidad es la habilidad de obtener resultados del ensayo que son directos o matemáticamente proporcionales a la concentración de analito en muestras dentro de un rango establecido. El rango se define como el intervalo entre la concentración del analito más

alto y el más bajo en el cual se demuestra que puede ser determinado con el adecuado nivel de precisión, exactitud y linealidad, con el método que ha sido escrito.

- Resistencia o tolerancia: Es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo una variedad de condiciones, como diferentes laboratorios, analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempos de ensayo, temperaturas, días, etc. Se expresa como la ausencia de influencia sobre el ensayo de las variables operacionales y ambientales del método analítico.
- Robustez: es la medida de la capacidad de permanecer sin ser afectado por una pequeña pero deliberada variación en los parámetros del método y provee una indicación de su flexibilidad, durante su uso normal (17).

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existen laboratorios farmacéuticos en Guatemala que fabrican preparados de Loratadina en forma de tabletas. El control de calidad tiene algunas dificultades, ya que no se dispone de un método oficial para cuantificar esta sustancia activa incluida en tabletas. Es por esto que cada laboratorio tiene que desarrollar su propio método de análisis.

Derivado de que no se dispone de un método de análisis validado y confiable para la determinación cuantitativa de esta sustancia activa formulada en tabletas, es prioritario desarrollar y validar un método analítico para evaluar la calidad de dicha forma farmacéutica.

La validación de los métodos de cuantificación es una de las exigencias que deben cumplirse según Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Laboratorio para garantizar la calidad de los productos con base al cumplimiento de las especificaciones que previamente se han definido (7).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Proponer una metodología analítica para cuantificación de Loratadina en tabletas, que cumpla con las características necesarias para ser utilizado como un método analítico.

5.2 Objetivos específicos:

- 5.2.1 Demostrar que el método propuesto para cuantificar Loratadina en tabletas es selectivo para esta sustancia activa.
- 5.2.2. Garantizar que los resultados obtenidos con el método para cuantificar Loratadina en tabletas son confiables.
- 5.2.3 Demostrar que el método propuesto es reproducible siempre que se utilicen las mismas condiciones en el sistema.
- 5.2.4 Comprobar que el método propuesto para cuantificación de Loratadina en tabletas es exacto, preciso y lineal, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo.

6. HIPÓTESIS

El método para cuantificar Loratadina en tabletas propuesto en este trabajo cumple con las características de especificidad, exactitud, precisión, linealidad y robustez para ser utilizado como un método de análisis válido según la Farmacopea de los Estados Unidos, edición 27.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de trabajo:

7.1.1 Universo:

Preparaciones farmacéuticas formuladas a base de Loratadina fabricados en Industrias Bioquímicas.

7.1.2 Muestra:

Tabletas de Loratadina de 10 mg de diferentes lotes fabricados en Industrias Bioquímicas.

7.2. Recursos Humanos:

Autor: Br. Ana Lucrecia Aquino García.

Asesor: Lic. Elfego Rolando López G.

7.3. Recursos Materiales:

7.3.1 Equipo:

- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro UV/VIS.
- Mortero y pistilo.
- Espátulas.
- Baño de ultrasonido.
- Cronómetro.
- Piseta.
- Papel filtro.

7.3.2. Cristalería:

- Balones aforados de 100 mL.
- Balones aforados de 50 mL.
- Balones aforados de 10 mL.
- Pipetas volumétricas de 2 mL.
- Pipetas volumétricas de 1 mL.
- Embudos de vidrio.
- Beakers de 250 mL.
- Beakers de 100 mL.

7.3.3. Reactivos:

- Agua
- Etanol absoluto

7.4. Procedimiento:

7.4.1 Desarrollo del método para cuantificación:

- Utilizar un espectrofotómetro UV-visible, llevar a cabo un barrido en el rango de 200-400 nm de una solución de Loratadina para determinar la longitud de onda a la cual hay mayor absorbancia del activo.
- Realizar un blanco con los excipientes utilizados en formulación para determinar que no haya interferencia con el activo.

- Definida la longitud de onda, proceder a determinar las absorbancias de las muestras.
- Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico para la validación del método.

7.4.2. Preparación de la muestra:

- Determinar el peso promedio de 10 tabletas de Loratadina
- Pulverizar las 10 tabletas.
- Pesar 330 mg del polvo (equivalente a 2.5 tabletas), transferir a un balón aforado de 100 mL con etanol.
- Disolver con agitación por 10 minutos y aforar a 100 mL con etanol.
- Filtrar la solución con papel filtro.
- Medir una alícuota de 1 mL de la solución filtrada, colocarla en un balón de 10 mL y diluir hasta aforar, agitar.
- La solución debe tener una concentración de 0.025 mg/mL de Loratadina.
- Elaborar soluciones a las siguientes concentraciones 0.01, 0.025, 0.04, 0.055 y 0.07 mg/mL, para tener 5 concentraciones en total.
- Leer en forma inmediata en el espectro UV a una longitud de onda de 247nm, utilizar como blanco etanol.

7.4.3 Preparación del estándar:

- Pesar 25 mg de estándar secundario de Loratadina.
- Transferirlos a un balón aforado de 100 mL y diluir con etanol.

- Disolver con agitación por 10 minutos y aforar a 100 mL.
- Filtrar la solución con papel filtro.
- Medir una alícuota de 1 mL de la solución filtrada, colocarla en un balón de 10 mL y diluir hasta aforar, agitar.
- La solución debe tener una concentración de 0.025 mg/mL de Loratadina.
- Leer en forma inmediata en el espectro UV a una longitud de onda de 247nm, utilizar como blanco etanol.

7.4.4 Cálculos:

$$\% \text{ de Loratadina} = \text{AbsM} * (\text{St})/\text{AbsSt}/(\text{M})\text{teórico} * 100.$$

Donde:

AbsM = Absorbancia de la muestra.

(St) = Concentración del estándar en mg/mL.

AbsSt = Absorbancia del estándar.

(M) teórico = Concentración de la muestra en mg/mL.

7.5 Validación del método:

7.5.1 Precisión:

Se determina mediante el análisis repetido en una muestra problema homogénea y se comprueba la dispersión de los valores individuales obtenidos alrededor del valor central. Se mide por la desviación estándar y el coeficiente de variación.

7.5.2 Exactitud:

Se determina por la valoración repetida de una muestra de concentración conocida; esta muestra puede ser un estándar o bien un placebo al que se le añade una concentración conocida de analito patrón. Se representa mediante el "porcentaje de recuperación", y calculándose mediante un "test de Student".

7.5.3 Especificidad:

Se determina al agregar a la muestra impurezas más frecuentes; se realiza el análisis repetido y se comparan los resultados con los obtenidos en el ensayo de precisión que se realizó con la misma muestra pero sin impurezas.

7.5.4 Robustez:

Para su determinación se llevan a cabo nuevos ensayos de precisión con las mismas muestras problema, pero realizadas por analistas distintos en distintas localizaciones y condiciones. Se comparan estos ensayos con los resultados del ensayo de precisión y se comprueba la dispersión de los datos de cada analista.

7.5.5 Rango/Linealidad:

Para su determinación se miden las absorbancias de una serie de soluciones de concentración conocida del estándar, que cubran los porcentajes de concentraciones 80-90-100-110-120% de la concentración teórica, y se comprueba el rango de concentración en que la relación de éstas con las absorbancias es lineal.

7.6 Diseño de la Investigación: Análisis de los Datos

7.6.1 Validación de métodos para cuantificación:

Al validar un método analítica se deben evaluar las siguientes características:

7.6.1.1 Especificidad:

Análisis para determinar que no existan interferencias en la matriz.

Diseño pareado.

Tratamientos:	A: Matriz sin analito
Concentración de analito	B: Matriz con analito

Concentración de analito	1. Y mg/dl
	2. Y mg/dl
	3. Y mg/dl
	4. Y mg/dl
	5. Y mg/dl

Repeticiones: 3 veces cada concentración (grupo B), 15 veces el grupo B.

El análisis químico debe hacerse por pares (A y B).

Análisis estadístico: t de Student pareada.

Si se conocen posibles interferentes es recomendable realizar un tercer grupo conteniéndolos en 5 diferentes

concentraciones (tres veces cada una), agregadas a las concentraciones del analito y analizar los resultados de igual forma, primero contra el grupo A y luego contra el grupo B. Seguidamente hacer un análisis de correlación lineal (producto sin interferente en el eje X y producto con interferente en el eje Y).

7.6.1.2 Linealidad:

Determina el rango lineal de la respuesta analítica. Con los mismos datos del grupo B, realizar un análisis de regresión lineal (concentración conocida en el eje de X y respuesta analítica en el eje Y). Evaluar la ecuación de regresión por medio de un análisis de varianza, t de Student para el coeficiente de correlación "r". Siendo por lo tanto "R²" el coeficiente de determinación.

7.6.1.3 Sensibilidad:

Determinación del rango dentro del cual el analito puede ser determinado y la relación entre la concentración teórica y la reportada por el método analítico.

Con los mismos datos del grupo B, realizar la prueba de t de Student para la hipótesis $H_0: b = 1$.

Si no son buenos resultados, se eliminan extremos y se repite el procedimiento, para dar el rango lineal y de sensibilidad.

7.6.1.4 Precisión:

Grado de concordancia entre las valoraciones al hacerlas repetidas veces.

7.6.1.4.1 Repetibilidad:

Utilizar un estándar de concentración conocida dentro del rango analítico (0.025mg/mL) y medir la concentración del analito por lo menos 10 veces, realizar las mediciones bajo las mismas condiciones. Calcular el promedio y desviación estándar, con estos datos la repetibilidad puede establecerse por medio del coeficiente de variación, el cual no debe ser mayor a un porcentaje preestablecido, según se indica:

TIPO DE MÉTODO	PORCENTAJE
Métodos cromatográficos	2%
Métodos químicos y espectrofotométricos	3%
Métodos microbiológicos	5%

El valor máximo de coeficiente de variación puede establecerse *a priori* por el investigador.

7.6.1.4.2 Reproducibilidad:

- Diseño experimental: Diseño cuadrado latino.
- Factores a analizar:
 - 1) Cinco concentraciones diferentes del analito.
 - 2) Cinco técnicos o analistas diferentes.
 - 3) Cinco condiciones diferentes de instrumental.(Puede reducirse el número de repeticiones al utilizar tres de cada uno de los factores).
- Análisis estadístico: Análisis de varianza, interpretándose la reproducibilidad como la no diferencia entre los resultados obtenidos entre los factores 2 y 3.

7.6.1.4.3 Perfil de precisión:

Con los datos obtenidos del grupo B del inciso 1, se calculan los coeficientes de variación para cada concentración y se trazan una gráfica (perfil de precisión). En el eje X se colocan las concentraciones conocidas del analito y en el eje Y los coeficientes de variación.

Se interpreta de acuerdo al valor límite preestablecido del coeficiente de variación. De igual

forma, se puede establecer el perfil de precisión con los datos del inciso 6.6.1.4.2.

7.6.1.5. Exactitud:

Con los mismos datos del grupo B del inciso 1, determinar el porcentaje de recuperación del analito (%r):

$$\%r = \frac{\text{Concentración encontrada} \times 100}{\text{Concentración conocida}}$$

Con estos valores calcular su promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Prueba de hipótesis Ho: $y = 100\%$ (t de Student)

Luego analizar la ecuación de la recta en función de la siguiente hipótesis:

Ho: $a = 0$

Ho: $b = 1$

El análisis estadístico se efectúa por medio de la prueba de t de Student e indica si existe algún sesgo o lectura de fondo que afecte la exactitud.

8. RESULTADOS

Tabla No. 1

- Valores obtenidos para la matriz con analito:

Concentración teórica	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
Concentración teórica mg/tab	Concentración detectada mg/tab	Concentración detectada mg/tab	Concentración detectada mg/tab
15 150%	14.49 144.90%	14.88 148.84%	14.52 145.29%
12.5 125%	12.76 127.59%	12.61 126.07%	12.54 125.46%
10 100%	9.57 95.69%	9.87 98.71%	9.78 97.87%
7.5 75%	7.38 73.84%	7.67 76.68%	7.31 73.08%
5 50%	4.88 48.86%	4.63 46.36%	4.56 45.62%

Para el parámetro de especificidad se utilizó la matriz propuesta y el analito en las concentraciones de 5, 7.5, 10, 12.5 y 15 mg/tableta. Los resultados del análisis se presentan en la tabla No. 1.

Los resultados de la metodología analítica aplicada a la matriz sin analito se presentan en la tabla No. 2.

Tabla No. 2

- Valores obtenidos para la matriz sin analito:

Concentración teórica mg/tab	Concentración Detectada mg/tab
0 0%	0.003258 3.26%
0 0%	0.002172 2.17%
0 0%	0.003258 3.26%

Tabla No. 3

Concentración teórica (mg/tableta)	Concentración detectada (mg/tableta)
15	14.49
15	14.88
15	14.52
12.5	12.76
12.5	12.61
12.5	12.54
10	9.57
10	9.87
10	9.78
7.5	7.38
7.5	7.67
7.5	7.31
5	4.88
5	4.63
5	4.56

Ecuación $Y = -0.19533333 + 1.00253333X$ (Ecuación No.1).

Donde Y = Concentración detectada.

X = Concentración teórica.

R = 0.997815638.

$R^2 = 0.995636048$.

Tabla No. 4

No.	Concentración teórica	Concentración detectada	Porcentaje
1	10	9.81	98.1
2	10	9.78	97.8
3	10	9.77	97.7
4	10	9.78	97.8
5	10	9.74	97.4
6	10	9.73	97.3
7	10	9.74	97.4
8	10	9.73	97.3
9	10	9.75	97.5
10	10	9.75	97.5

$$X = 9.758$$

$$D_{std} = 0.026$$

$$DSR = 0.2681\%$$

Para el parámetro de repetibilidad se efectuaron 10 lecturas de la misma muestra y los resultados se observan en la tabla No. 4.

De acuerdo a la metodología propuesta para reproducibilidad se prepararon matrices con analito a las cinco concentraciones indicadas: los resultados se presentan en la tabla No. 5 para el espectrofotómetro UV/Visible Espectronic Genesis 2 336009. En la tabla No. 6 para el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda 2S. En la tabla No. 7 para el espectrofotómetro UV/Visible Beckman DU 650. Cada una de las tablas representa un analista, un equipo y un día diferente de análisis.

Tabla No. 5

Concentración teórica mg/tab	Concentración detectada R1 mg/tab	Concentración detectada R2 mg/tab	Concentración detectada R3 mg/tab
15	15.14	15.79	15.55
12	12.03	12.18	12.17
10	9.84	9.06	9.94
7.5	7.25	7.53	7.4
5	4.46	4.53	4.79

Tabla No. 6

Concentración teórica mg/tab	Concentración detectada R1 mg/tab	Concentración detectada R2 mg/tab	Concentración detectada R3 mg/tab
15	14.49	14.88	14.52
12	12.76	12.61	12.54
10	9.57	9.87	9.78
7.5	7.38	7.67	7.31
5	4.88	4.63	4.56

Tabla No. 7

Concentración teórica mg/tab	Concentración detectada R1 mg/tab	Concentración detectada R2 mg/tab	Concentración detectada R3 mg/tab
15	16.44	16.38	16.78
12	12.73	12.22	11.88
10	9.44	10.19	9.89
7.5	7.65	7.16	7.37
5	4.7	4.85	4.77

Tabla No.8

Análisis estadístico: Análisis de varianza (ver anexo 13.2.2)

Concentración (mg/tab)	Probabilidad (Valor de P)
15	0.00032
12.5	0.12190
10	0.29154
7.5	0.91274
5	0.38100

Tabla No. 9

Concentración teórica	Concentración detectada	Media	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
15	14.49 14.88 14.52	14.630	0.217025	1.483426
12.5	12.76 12.61 12.54	12.637	0.112398	0.889460
10	9.57 9.87 9.78	9.740	0.153948	1.580575
7.5	7.38 7.67 7.31	7.453	0.190875	2.560937
5	4.88 4.63 4.56	4.690	0.168220	3.586909

Los resultados para establecer el perfil de precisión se describen en la tabla No. 8; habiéndose calculado el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para las tres lecturas de cada concentración.

Tabla No. 10

No.	Concentración teórica	Concentración detectada	Porcentaje de Recuperación
1	15	14.49	96.60
2	15	14.88	99.20
3	15	14.52	96.80
4	12.5	12.76	102.08
5	12.5	12.61	100.88
6	12.5	12.54	100.32
7	10	9.57	95.70
8	10	9.87	98.70
9	10	9.78	97.80
10	7.5	7.38	98.40
11	7.5	7.67	102.27
12	7.5	7.31	97.47
13	5	4.88	97.60
14	5	4.63	92.60
15	5	4.56	91.20

Análisis estadístico para todas las concentraciones:

$$X = 97.84 \%$$

$$D_{std} = 3.10$$

$$CV. = 3.17\%$$

Análisis estadístico para las concentraciones de 7.5 mg/tab hasta 15 mg/tab (excluyendo 5 mg/tab).

$$X = 98.85$$

$$D_{std} = 2.15$$

$$CV. = 2.17\%$$

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Derivado a que no se disponía de un método de análisis para determinar cuantitativamente la sustancia Loratadina en tabletas, se propuso un método espectrofotométrico ultravioleta, debido a que la mayoría de laboratorios en Guatemala cuenta con un espectrofotómetro UV/Visible; además es una técnica de análisis mas económica en comparación con la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Luego de desarrollar el método analítico, fue necesario validar por medio de estudios de laboratorio que las características del método cumplirán con los parámetros establecidos para las aplicaciones analíticas. Se evaluaron las siguientes características: especificidad, linealidad, sensibilidad, precisión, exactitud.

El método demostró ser lineal, ya que luego de evaluar las concentraciones de 5, 7.5, 10, 12.5 y 15 mg por tableta; tres repeticiones de cada una, se obtuvo la ecuación de la recta:

$$Y = -0.19533333 + 1.00253333X \text{ (ecuación No. 1).}$$

$$R = 0.997815638.$$

$$R^2 = 0.995636048.$$

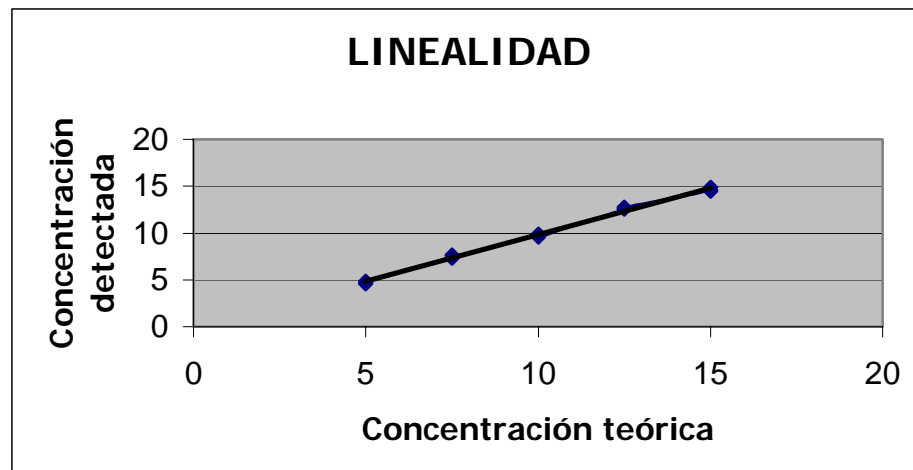
$$T \text{ de student para el intercepto} = 0 \text{ igual a } 0.3354.$$

$$T \text{ de student para la pendiente} = 1 \text{ igual a } 0.8927.$$

Esto demuestra que se cumple la Ley de Beer, la cual indica que debe existir una relación directamente proporcional entre la absorbancia y la concentración. Por lo tanto se puede decir que en un rango entre 5 y 15 mg por tableta (50-150% de la dosis declarada en la etiqueta) el método es lineal. Esto permite decir que dentro del rango 90-110% del activo, que se maneja en las farmacopeas para tabletas el método es lineal, y si se necesita ampliar el rango como es el caso del

ensayo de uniformidad de contenido (requerimiento necesario en tabletas de baja dosis como es el caso de Loratadina cuya dosis en tabletas es de 10 miligramos por tableta) que se acepta un rango de 85-115% del activo el método se mantiene lineal. Al obtener tanto en el intercepto como en la pendiente un valor de P superior a 0.05, confirma que la relación entre la concentración y la absorbancia guardan una relación directamente proporcional que puede ser representada con una recta (Gráfica No. 1).

Gráfica No. 1



Se desarrolló un método sensible ya que se demostró que este es capaz de cuantificar el principio activo de interés, la Loratadina, sin que en el análisis interfieran los excipientes.

Para la determinación del parámetro de especificidad se analizaron cinco concentraciones de Loratadina diferentes, tres repeticiones de cada una y de la misma manera se prepararon placebos (mezcla de excipientes sin principio activo) y se trabajaron de la misma manera que las muestras para determinar que no exista interferencia entre el analito y la matriz. La determinación es necesaria

debido a que los excipientes utilizados en la fórmula pueden absorber y causar interferencia en los resultados obtenidos; uno de los principales causantes de estas interferencias son los colorantes utilizados en la formulación. En el caso del método propuesto para Loratadina tabletas se determinó que la matriz no causa interferencia con el activo, ya que absorbe tan poco (0.29%) que no es representativo en el análisis. Cuando el intercepto con el origen es mayor que 0 la matriz absorbe y se dice que hay problemas de interferencia. En el análisis de regresión lineal se determinó que el intercepto es igual a -0.19533333 de lo que se infiere que no hay interferencia en el método y este es específico para cuantificar Loratadina.

El parámetro de precisión indica el grado de concordancia entre las mediciones al hacerlas repetidas veces. Para la evaluación de este parámetro se dividió en:

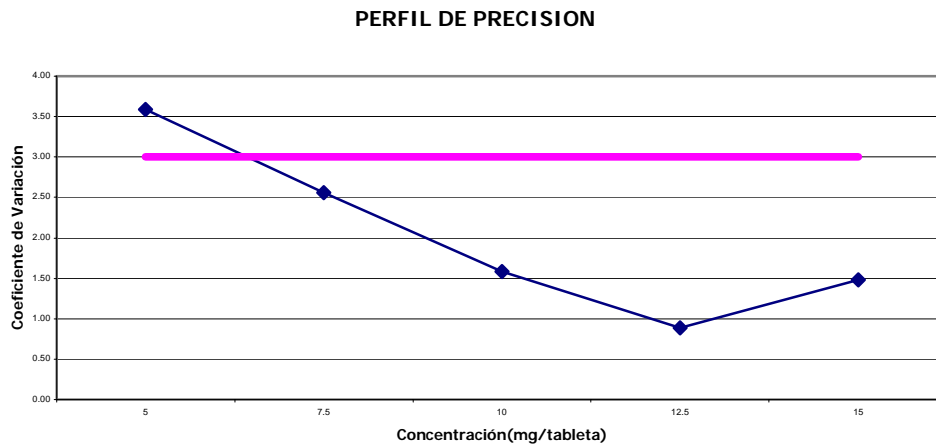
- Repetibilidad: se analizó un estándar de concentración conocida (10 mg/mL); las muestras fueron realizadas por el mismo analista, el mismo día y en el mismo equipo. Se obtuvo un promedio de 9.758 mg/tab; una desviación estándar de 0.026 y un coeficiente de variación de 0.2681. Para métodos espectrofotométricos se considera aceptable un coeficiente de variación del 3%; por lo que se puede decir que el método cumple con el parámetro de repetibilidad.
- Reproducibilidad: para evaluar el parámetro de reproducibilidad se desarrolló sobre la misma muestra el análisis propuesto por el método utilizando dos equipos diferentes y dos analistas diferentes en días diferentes y se realizó una comparación de los valores obtenidos para cada una de las concentraciones a través de un análisis de varianza obteniéndose valores de "P" mayores de 0.05 para las concentraciones de 5 a 12.5

mg/tableta y un valor de "P" mayor de 0.05 para la concentración de 15 mg/tableta (ver anexo 13.2.2).

Estos resultados indican que el método utilizado es reproducible a todas las concentraciones, exceptuando la concentración de 15 mg/tab ya que hubo una diferencia significativa entre analistas y equipos y la diferencia se encontró en el analista 3, equipo 3 (Tabla No. 7). Esto puede deberse a problemas con el aparato o a errores humanos en el analista, ya que en las otras concentraciones también es el que presenta mayores diferencias con respecto a los otros dos aparatos. En el rango que interesa que el de 10 mg/tab la reproducibilidad no tiene problemas ya que el valor de P está sobre 0.05.

- Perfil de precisión: Se estableció que el coeficiente de variación para el método debía ser menor al 3% y tal y como se puede observar en la gráfica No. 2 el método es preciso de un rango de concentración de 7.5 a 15 mg/tableta ya que presenta un coeficiente de variación menor al 3%. Sin embargo para la concentración de 5 mg/tableta, los datos están mas dispersos y el método deja de ser preciso debido a que el coeficiente de variación es 3.58% (mayor del 3%), esto se puede deber a que mientras mas baja sea la concentración más difícil es detectar los errores y las variaciones son más significativas. Se puede observar que en el rango de cuantificación (90-110%) resulta preciso, incluso para utilizarlo para evaluar la uniformidad de contenido (85-115%). Si se quisiera utilizar este método para evaluar 5 mg de Loratadina en una tableta se debería hacer una serie de diluciones diferentes y validarse la variación al método.

Gráfica No. 2



El parámetro de exactitud se determinó a través del porcentaje de recuperación, se utilizaron 5 concentraciones diferentes, tres repeticiones de cada una. Se obtuvo un promedio de recuperación de 97.84% con una desviación estándar de 3.10 y un coeficiente de variación de 3.17%. Se aplicó una T de student, que resultó ser igual a 0.02 para las cinco concentraciones lo cual indica que el método no es exacto para las cinco concentraciones; sin embargo cuando se elimina la concentración de 5 mg/tableta se obtiene una T de student de 0.09 y se puede decir que el método es exacto entre el rango de 7.5 a 15 mg de Loratadina por tableta. Las razones por las cuales para la concentración de 5 mg no es válida esta metodología, puede deberse a que es una concentración muy pequeña y cualquier error o variación es muy significativa. Además es importante señalar, que la dosis de 10 mg de Loratadina por tableta es la concentración farmacológicamente activa.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Se desarrolló un método para la cuantificación de Loratadina en tabletas de 10 mg que cumple con los parámetros necesarios, por lo que puede ser utilizado como metodología analítica, validada y confiable.
- 10.2 Se concluye que el método analítico espectrofotométrico desarrollado para la cuantificación de Loratadina 10mg, cumple con los requerimientos de validación de métodos analíticos: Exactitud, sensibilidad, precisión, especificidad, linealidad y rango.
- 10.3 Se demuestra estadísticamente que la metodología propuesta para cuantificación es específica para el activo Loratadina, no habiendo una interferencia química entre la matriz con analito y la matriz sin analito, lo que indica que los excipientes utilizados en la formulación no interfieren en el análisis del activo.
- 10.4 La linealidad del método se demuestra estadísticamente, confirmado que el método de análisis es capaz en un intervalo determinado de obtener resultados directamente proporcionales a la concentración del analito.
- 10.5 Se cumple con la ley de Beer ya que existe una relación directamente proporcional entre la absorbancia y la concentración.
- 10.6 Al utilizar la media estadística en el ensayo, se demuestra que el método de análisis propuesto es preciso, existiendo una concordancia entre las mediciones al hacerlas repetidas veces, obteniendo un coeficiente de variación menor al 3% para las concentraciones de 7.5 hasta 15 mg por tableta.

- 10.7 La reproducibilidad del método, que es la dispersión de los resultados queda demostrada al aplicar un análisis de varianza donde se obtuvieron valores de P mayores de 0.05, al analizar la misma muestra en diferentes equipos, diferentes analistas y diferentes días.
- 10.8 El método de análisis demuestra que es exacto para las concentraciones de 7.5 a 15 mg por tableta, definiendo así la concordancia entre el valor medio y el valor real.
- 10.9 Se demostró que la metodología propuesta es reproducible, siempre y cuando se utilicen en las mismas condiciones establecidas.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Utilizar esta metodología analítica (Ultravioleta para Loratadina 10 mg tabletas) como un método alternativo de análisis debido a que esta se encuentra respaldada por la validación presentada.
- 11.2 Fomentar la investigación de metodologías analíticas para principios activos que no se encuentran reportados en las farmacopeas.

12. REFERENCIAS

- 12.1 Agalloco, J.P. PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. 14:20-40. January. 1990.
- 12.2 ANALYTICAL PROCEDURES AND METHODS VALIDATION. Guidance Document US. Department of Health and Human Services Food and Drugs Administration Center of Drug Evaluation and research (CDER) Center for Biologic Evaluation and Research (CBER). August 2000.
- 12.3 Benítez P, Enrique. GOOD MANUFACTURING PRACTICES. La gestión técnica en la fabricación de medicamentos. Consejos prácticos. Centro de Estudios Superiores de la Industria Farmacéutica. España 1996.
- 12.4 Berry, Ira/ Nash, Robert. PHARMACEUTICAL PROCESS VALIDATION. Second edition. Marcel Dekker Inc. USA 1993.
- 12.5 BRITISH PHARMACOPEIA [Base de datos en Internet].2003-2004 [Consultado el 6/Julio/2004] Disponible en:
<http://pharmacopeia.org.uk/index.html>.
- 12.6 Delgado, J & Reemers, W. TEXTBOOK OF ORGANIC MEDICINAL AND FARMACEUTICAL CHEMISTRY. 10th edition. USA. 1998.
- 12.7 EUROPEAN PHARMACOPEIA 4.8 [Base de datos en Internet].4th edition 2004. [Consultado el 6/Julio/2004] Disponible en:
<http://online.phEur.org./500TER/ep500.dll?f=templates&fn=main-hit-h.htm&20>.

- 12.8 García Elías, Zully Viviana. ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS RANGOS DE DISOLUCIÓN A BASE DE PSEUDOEFEDRINA Y LORATADINA DE LIBERACIÓN CONTROLADA DISTRIBUIDAS EN GUATEMALA. Mayo 2000. 40 pp.
- 12.9 Gil-Alegre, M. PROTOCOLOS DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS, MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS TERMINADOS. Universidad Complutense. Madrid, España. 1995.
- 12.10 Goodman & Gilman. LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA. Novena edición. McGraw-Hill Interamericana. 1996. Pp 632.
- 12.11 GUIDELINE FOR INDUSTRY. Text on Validation of Analytical Procedures. ICH-Q2A. March 1995.
- 12.12 Hokanson, Gerald. A LIFE CYCLE APPROACH TO THE VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS DURING PHARMACEUTICAL PRODUCT DEVELOPMENT, PART I: THE INITIAL METHOD VALIDATION PROCESS. Pharmaceutical Technology. September 1994.
- 12.13 INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION GUIDELINE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURE. Definition and Terminology, 60 FR 11260, March 1. 1995.
- 12.14 JAPANESE PHARMACOPEIA [Base de datos en Internet]. JP XIV English versión. 2001.[Consultado el 5/Julio/2004] Disponible en:
http://jpdb.nihs.go.jp/jp14e/14data/general_test/Contents.pdf.

- 12.15 Johnson, James & Van Buskirk, Gale. ANALYTICAL METHOD VALIDATION. Journal of Validation Technology. Volumen 2, Number 2. 1999.
- 12.16 Katzung, B. FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA. Séptima edición. Editorial el Manual Moderno. México 1999. Pp 316-320.
- 12.17 Martindale the extra pharmacopeia. Thirty-Second edition. Printed by Word Color Book Services. USA. 1999. Pp 413.
- 12.18 Nash, R. PROCESS VALIDATION FOR SOLIDS DOSAGE FORMS. Pharmaceutical Technology. (105-107) June, 1989.
- 12.19 Pradeau, D & Cohen Yves. ANÁLISIS QUÍMICOS FARMACÉUTICOS DE MEDICAMENTOS. Primera edición. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. México. 1998. 1124 pp.
- 12.20 Suárez, Yania/ García Oscar. DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE BENZOCAÍNA EN UN NUEVO UNGÜENTO RECTAL. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Cuba. 2001.
- 12.21 UNITED STATES PHARMACOPEIA. 24 edition. 19 NF. USA 2000. Pp.2149-2152.
- 12.22 UNITED STATES PHARMACOPEIA [Base de datos en Internet]. 27 edition. 22 NF. USA 2004.[Consultado el 5/Julio/2004] Disponible en:
<http://oldwww.uspnf.com/uspnf/usp27-nf22S1/.htm>.

- 12.23 VALIDACIÓN INDUSTRIAL. Apuntes sobre tecnología Farmacéutica. Su Aplicación a la Industria Farmacéutica y Afines. GMP Good Manufacturing Practices. S.A. España. 1999.
- 12.24 Velásquez Valdez, Ana Mariela. VALIDACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FENILPRANOLAMINA EN COMPRIMIDOS UTILIZADOS COMO ANTIGRIPALES. Agosto 2002. 44pp.
- 12.25 Wenzel, Brenda M. VALIDATION TRAINING: HOW DO YOU DO IT? Air Force Research Laboratory, Warfighter Training Research Division, Validation Service Inc. Volume 6 Number 2 January 2002.
- 12.26 Willard, Hobart. Et al. MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS. Primera edición. Grupo editorial Iberoamerica. México 1991. Pp. 157-159,603-604.

13. ANEXOS

13.1 MONOGRAFÍA DE LORATADINA

LORATADINA

La Loratadina es un antagonista de los receptores H₁ de segunda generación, que tiene la característica de ser relativamente menos sedante, lo cual se debe de manera principal a su menor distribución en el sistema nervioso central.

- **Propiedades farmacológicas:**

Los antagonistas de receptores H₁ inhiben casi todas las respuestas del músculo liso a la histamina. En el árbol vascular, los antagonistas de receptores inhiben los efectos vasoconstrictores de la histamina y, en cierta medida, los efectos vasodilatadores más rápidos mediados por dichos receptores en las células endoteliales.

Durante las reacciones de hipersensibilidad, la histamina es uno de los muchos autacoides potentes liberados, y su contribución relativa a los síntomas que surgen varían de manera amplia entre una y otra especies, en diferentes tejidos. La protección que brindan los antagonistas de histamina obviamente varía también de ese modo.

La segunda generación de antagonista de los receptores (no sedantes), son excluidos en gran medida del encéfalo si se administra a dosis terapéuticas porque no cruzan en grado apreciable la barrera hematoencefálica.

- **Farmacocinética:**

La Loratadina rápidamente se absorbe por el tracto gastrointestinal después de la administración oral, concentraciones plasmáticas se encuentran después de

una hora y esta concentración plasmática disminuye cuando se administra junto con los alimentos. Tiene un metabolismo muy extenso. Su metabolito más abundante es la descarboetoxiloratadina (desloratadina) la cual presenta una potente actividad antihistamínica. La vida media de la Loratadina y descarboetoxiloratadina es de 8.4 y 28 horas respectivamente. La Loratadina se ha detectado en la leche materna, pero no atraviesa la barrera del cerebro. La mayoría de la dosis es excretada por la orina y las heces, en forma de metabolitos.

- **Efectos adversos y precauciones:**

En orden de frecuencia, los efectos adversos afectan al tubo digestivo e incluyen: anorexia, náuseas, vómitos, molestias epigástricas y estreñimiento o diarrea. Su incidencia puede disminuir si se administra el fármaco junto con los alimentos. Los antagonistas intensifican el apetito y en algunas personas ocasionan aumento ponderal.

- **Interacciones:**

Como un antihistamínico no sedante en general.

Loratadina es metabolizada por el citocromo P450 y las isoenzimas CYP3A4 Y CYP2D6. Su administración con otras drogas que inhiben o se metabolizan por estas enzimas hepáticas puede causar cambios en la concentración plasmática de ambas drogas y provocar efectos adversos. Las drogas que se conoce que inhiben una o varias de estas enzimas incluyen la cimetidina, eritromicina, ketoconazol, quinidina, fluconazol y fluoxetina.

- **Usos y Administración:**

Loratadina es una piperina derivada de la azatadina, es un antihistamínico de larga actividad, no sedante. No presenta actividad sedante ni antimuscarínica.

Es utilizada en la sintomatología de condiciones alérgicas incluyendo rinitis y urticaria crónica.

La Loratadina se debe administrar por un mes en una dosis de 10 mg una vez al día. Se recomienda que las personas que padecen de problemas hepáticos o renales administrar 10 mg en días alternos. En niños menores de 5 años administrar 5 mg una vez al día.

13.2 ANALISIS ESTADÍSTICOS

13.2.1 LINEALIDAD

RESUMEN

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.997815638
Coefficiente de determinación R ²	0.995636048
R ² ajustado	0.995300359
Error típico	0.252067858
Observaciones	15

- ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	188.4512033	188.4512033	2965.951	9.92356E-17
Residuos	13	0.825996667	0.063538205		
Total	14	189.2772			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>
Intercepción	-0.195333333	0.195250923	-1.000422072	0.33536467	-0.617147227
Variable X 1	1.002533333	0.018408434	54.46054539	9.9236E-17	0.962764338

	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 99,0%</i>	<i>Superior 99,0%</i>
Intercepción	0.22648056	-0.783484338	0.392817671
Variable X 1	1.042302329	0.947081925	1.057984742

13.2.2 REPRODUCIBILIDAD

Análisis de Varianza

CONC.	APARATO 1	APARATO 2	APARATO 3
15	14.49	16.44	15.14
15	14.88	16.38	15.79
15	14.52	16.78	15.55
12	12.76	12.73	12.03
12	12.61	12.22	12.18
12	12.54	11.88	12.17
10	9.57	9.44	9.84
10	9.87	10.19	9.06
10	9.78	9.89	9.94
7.5	7.38	7.65	7.25
7.5	7.67	7.16	7.53
7.5	7.31	7.37	7.4
5	4.88	4.7	4.46
5	4.63	4.85	4.53
5	4.56	4.77	4.79

- Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
15	3	46.07	15.3566667	0.98583333
15	3	47.05	15.68333333	0.57103333
15	3	46.85	15.6166667	1.28023333
12	3	37.52	12.5066667	0.17063333
12	3	37.01	12.3366667	0.05643333
12	3	36.59	12.1966667	0.10943333
10	3	28.85	9.61666667	0.04163333
10	3	29.12	9.70666667	0.33923333
10	3	29.61	9.87	0.0067
7.5	3	22.28	7.42666667	0.04163333
7.5	3	22.36	7.45333333	0.06943333
7.5	3	22.08	7.36	0.0021
5	3	14.04	4.68	0.0444
5	3	14.01	4.67	0.0268
5	3	14.12	4.70666667	0.01623333
APARATO1	15	147.45	9.83	13.5198
APARATO2	15	152.45	10.16333333	17.6067238
APARATO3	15	147.66	9.844	15.2182971

- ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	Promedio de los cuadrados	<i>F</i>	Probabilidad	<i>Valor crítico para F</i>
Concentr.	642.3703644	14	45.88359746	198.964703	3.4262E-24	2.06354045
Aparatos	1.066404444	2	0.533202222	2.31212083	0.117664779	3.340389299
Error	6.457128889	28	0.230611746			
Total	649.8938978	44				

15 mg/tab

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
APARATO1	3	43.89	14.63	0.0471
APARATO2	3	49.6	16.5333333	0.04653333
APARATO3	3	46.48	15.4933333	0.10803333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5.449622222	2	2.724811111	40.5343802	0.00032724	5.143249382
Dentro de los grupos	0.403333333	6	0.067222222			
Total	5.852955556	8				

12 mg/tab

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	37.91	12.6366667	0.01263333
Columna 2	3	36.83	12.2766667	0.18303333
Columna 3	3	36.38	12.1266667	0.00703333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.4122	2	0.2061	3.050320671	0.121906983	5.143249382
Dentro de los grupos	0.4054	6	0.067566667			
Total	0.8176	8				

10 mg/tab

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	29.22	9.74	0.0237
Columna 2	3	29.52	9.84	0.1425
Columna 3	3	28.84	9.61333333	0.23213333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.077422222	2	0.038711111	0.291548117	0.757117247	5.143249382
Dentro de los grupos	0.796666667	6	0.132777778			
Total	0.874088889	8				

7.5 mg/tab

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	22.36	7.45333333	0.03643333
Columna 2	3	22.18	7.39333333	0.06043333
Columna 3	3	22.18	7.39333333	0.01963333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.0072	2	0.0036	0.092703863	0.912743511	5.143249382
Dentro de los grupos	0.233	6	0.038833333			
Total	0.2402	8				

5 mg/tab

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	14.07	4.69	0.0283
Columna 2	3	14.32	4.77333333	0.00563333
Columna 3	3	13.78	4.59333333	0.03023333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.048688889	2	0.024344444	1.138181818	0.381008846	5.143249382
Dentro de los grupos	0.128333333	6	0.021388889			
Total	0.177022222	8				