

# Metodología de dosificación de las suspensiones acuosas empleadas en la toxicología preclínica de sustancias de naturaleza cerosa

## Dosage method for aqueous solutions used in the preclinical toxicology of waxy substances

**Dr. C. Víctor Luis González Canavaciolo, MSc. Roxana de la Caridad Sierra Pérez, Dr. C. David Marrero Delange, MSc. Eduardo Antonio Rodríguez Leyes**

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba.

---

### RESUMEN

**Introducción:** en los estudios toxicológicos debe garantizarse una adecuada dosificación de las sustancias a evaluar, lo cual se dificulta en el caso de sustancias cerosas lipofílicas, como el D-002 (alcoholes grasos purificados de cera de abejas) y el D-003 (ácidos grasos purificados de cera de caña de azúcar), las cuales requieren ser preparadas como suspensiones acuosas para su administración a los animales, como parte de los estudios de toxicología aguda, crónica y carcinogénesis.

**Objetivo:** desarrollar una metodología analítica para el control de calidad de las suspensiones acuosas empleadas en los estudios toxicológicos de las sustancias D-002 y D-003.

**Métodos:** la metodología se basó en la estandarización de las suspensiones a una misma concentración, de las que se tomó una alícuota para la extracción de los alcoholes y ácidos grasos del D-002 y D-003, respectivamente, con disoluciones de patrones internos en disolventes orgánicos afines a las sustancias activas de interés; posteriormente a lo cual, alícuotas de las fases orgánicas se sometieron a la formación de derivados trimetilsil o ésteres metílicos (alcoholes o ácidos, respectivamente) y se analizaron por cromatografía de gases

**Resultados:** el método analítico desarrollado cumplió con los criterios de validación según las guías internacionales ICH, permitiendo el control de calidad de las suspensiones de D-002 y D-003.

**Conclusiones:** se desarrolló y validó una metodología analítica por cromatografía de gases que puede ser utilizada en el control de calidad de las suspensiones acuosas de D-002 y D-003 empleadas en los estudios toxicológicos.

**Palabras clave:** estudios toxicológicos, D002, D003, suspensiones.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** an accurate dosage the substances to be evaluated should be guaranteed in the toxicological studies. This is particularly difficult with waxy lipophilic substances, such as D-002 (fatty alcohols purified from beeswax) and D-003 (fatty acids purified from sugar cane wax). These substances require to be prepared as aqueous suspensions in order to be administered to animals used in the acute, chronic, and carcinogenic toxicological studies.

**Objetive:** to develop an analytical method for quality control of the aqueous suspensions used in the toxicological studies of the substances D-002 and D-003.

**Methods:** target suspensions were standardized at the same concentration, from these last suspensions an aliquot was taken for extracting the fatty alcohols and acids of D-002 and D-003, respectively. Internal standard solutions, which organic solvents had affinity for the active substances of interest were used. After that, aliquots of the organic phases were submitted to the formation of trimethylsilyl or methyl esters derivatives (alcohols or acids, respectively) and were analyzed by gas chromatography.

**Results:** the analytical method met the validation criteria, according to the international ICH guidelines, allowing the quality control of D-002 and D-003 solutions

**Conclusions:** the developed and validated gas chromatography analytical method can be used for quality control of the D-002 and D-003 aqueous solutions used in toxicological studies

**Key words:** toxicological studies, D-002, D-003, suspensions.

---

## INTRODUCCIÓN

Las sustancias farmacológicamente activas de origen natural presentan composiciones químicas complejas, lo cual dificulta el control de calidad de sus diversas formulaciones, específicamente en cuanto a la determinación de sus dosis. Esta característica complica el desarrollo de los estudios toxicológicos, en los que se debe garantizar una adecuada dosificación de las sustancias a evaluar. Dentro de este panorama se inserta la investigación-desarrollo de sustancias sólidas cerasas, como el D-002 y el D-003, ingredientes activos de carácter netamente lipofílico que requieren ser formulados como suspensiones acuosas para poder ser administrados a los animales de experimentación.

Ambos ingredientes activos, consistentes en mezclas de alcoholes grasos purificados de la cera de abejas (D-002)<sup>1</sup> y ácidos grasos purificados de la cera de caña de azúcar (D-003),<sup>2</sup> han demostrado efectos antioxidantes, además de efectos antiinflamatorio y gastroprotector el primero,<sup>3-5</sup> y antiagregante plaquetario, hipolipemiante y osteoprotector el segundo.<sup>6-9</sup> La amplia utilización de suspensiones acuosas de estas sustancias en estudios de toxicología aguda, crónica y carcinogénesis, exigió el desarrollo y validación de una metodología analítica para la determinación de sus dosis siguiendo los requerimientos establecidos por las ICH.<sup>10</sup> Esta metodología, en sus dos variantes, permite la dosificación individual de los componentes alcohólicos del D-002 y de los componentes ácidos del D-003 en suspensiones con concentraciones entre 10 y 300 mg/mL, siendo la primera vez que se desarrolla una metodología con este fin para el D-002, la cual resulta más sencilla y rápida que la metodología anteriormente empleada para el D-003.<sup>11</sup>

Este trabajo tiene como objetivo desarrollar y validar una metodología analítica para el control de calidad de las suspensiones acuosas que son empleadas en los estudios toxicológicos.

## MÉTODOS

*Equipos.* Se empleó un cromatógrafo de gases GC 14-B (Shimadzu, Japón). Condiciones cromatográficas: columna capilar HP-5 (30 m x 0,25 mm di, y 0,25 µm de espesor de película (Agilent, USA); volumen de inyección 0,5 µL en modo splitless; velocidad lineal del gas portador (hidrógeno) 37 cm/s (1 mL/min); flujo de hidrógeno 40 mL/min; flujo de aire 400 mL/min; temperatura de la columna 70 °C (1 min), 70-200 °C (30 °C/min), 200-320 °C (8 °C/min), 15 min a 320 °C; temperatura del detector y del inyector 320 °C y volumen de inyección 0,5 µL.

Otros equipos empleados fueron generador de hidrógeno OPGU-1500 S (Shimadzu, Japón), balanza analítica (Mettler Toledo, Suiza), termostato seco (Lab-Line Instr., USA), compresor de aire (Shimadzu, Japón) y una zaranda.

*Reactivos.* Se emplearon N-metil, N-trimetilsilil trifluoroacetamida (MSTFA), ácido sulfúrico, tolueno, cloroformo, n-hexano, metanol, goma acacia, y patrones de los alcoholes: 1-eicosanol, 1-tetracosanol, 1-hexacosanol, 1-heptacosanol, 1-octacosanol y 1-triacontanol, y de los ácidos: tetracosanoico, pentacosanoico, hexacosanoico, heptacosanoico, octacosanoico, nonacosanoico, triacontanoico y hentriacontanoico (todos calidad p.a., Sigma, USA).

### *Disoluciones para suspensiones de D-002*

- Disolución de patrón interno (DPI): 1-eicosanol a 0,4 mg/mL en cloroformo.
- Disolución de referencia de alcoholes (DRA): 1-tetracosanol, 1-hexacosanol, 1-octacosanol a 0,12 mg/mL y 1-triacontanol a 0,20 mg/mL en cloroformo.
- Disolución matriz de referencia (DMR): 0,5 mL de la DRA se evaporaron a sequedad a 65 °C con la ayuda de una corriente de aire, se añadieron 0,15 mL de la DPI y 50 µL de MSTFA, se tapó y se calentó a 65 °C durante 15 min.

### *Disoluciones para suspensiones de D-003*

- *Disolución de patrón interno (DPI)*: ácido nonadecanoico a 1 mg/mL en n-hexano.
- *Disolución metilante (DME)*: ácido sulfúrico al 2 % (v/v) en metanol.
- *Disolución neutralizante (DN)*: hidróxido de sodio a 1 mol/L en metanol.
- *Disolución de referencia de ácidos (DRA)*: ácidos tetracosanoico, pentacosanoico, nonacosanoico y hentriaccontanoico a 0,06 mg/mL; ácidos hexacosanoico y heptacosanoico a 0,12 mg/mL; ácido octacosanoico a 1,6 mg/mL y ácido triaccontanoico 0,80 mg/mL en cloroformo.
- *Disolución matriz de referencia (DMR)*: 2 mL de la DRA y 1 mL de DPI se añadieron en un vial y se evaporaron a sequedad a 80 °C con la ayuda de una corriente de aire, se añadieron 1 mL de DME y 1 mL de n-hexano, se tapó y se calentó a 80 °C durante 15 min con agitación a intervalos. Se dejó enfriar y se añadieron 1 mL de n-hexano y 2 mL de DN, se agitó suavemente por 3 min y luego se dejó reposar por 3 min, se extrajo una alícuota de la fase hexánica para su análisis.

### *Preparación de la muestra de ensayo*

- Preparación de la suspensión de trabajo: se tomó el volumen necesario de la suspensión original para preparar 100 mL de una nueva suspensión que contuviera 5 mg/mL de ingrediente activo. Se trasvasó a un matraz de 100 mL, se llevó al volumen con disolución de goma acacia a 10 mg/mL y se agitó para uniformar.
- Preparación de la muestra de ensayo a partir de suspensiones de D-002: se tomaron 5 mL de la suspensión de trabajo y se llevaron a un tubo de ensayos, se añadieron 5 mL de DPI y se calentó a 65 °C durante 20 min con agitación ocasional. Se transfirió a un embudo separador, se recogió la fase orgánica en otro tubo de ensayo y se evaporó a sequedad a 65 °C con ayuda de una corriente de aire. Se adicionaron 5 mL de cloroformo, se calentó a 65 °C por 3 min, se tomó una alícuota de 500 µL y se llevó a otro tubo de ensayo. Se añadieron 50 µL de MSTFA y se calentó a 65 °C durante 15 min (n= 3).
- Preparación de la muestra de ensayo a partir de suspensiones de D-003: se tomaron 5 mL de la suspensión de trabajo y se llevaron a un tubo de ensayo, se añadieron 5 mL de la DPI, se cerró el tubo y se calentó a 80 °C durante 15 min con agitación ocasional. Se transfirió el contenido del tubo a un embudo separador se dejó que se separaran las fases y se colectó la fase orgánica (inferior) y se evaporó a sequedad a 80 °C con ayuda de una corriente suave de aire. Se enfrió a temperatura ambiente, se añadió 1 mL de DME, 1 mL de n-hexano y se cerró el tubo herméticamente. Se calentó a 80 °C durante 15 min, con agitación a intervalos, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se adicionó 1 mL de n-hexano y 1 mL de DN, se agitó durante 3 min, se añadieron 150 µL de tolueno, se selló el vial y se calentó a 80 °C durante 3 min (n= 3).

### *Procedimiento de cuantificación*

Se calcularon los factores másicos de respuesta relativa a partir del análisis de la DMR (n= 3) mediante la fórmula:

$$f_i^m = \frac{A_{pi} \times m_i}{A_i \times m_{pi}}$$

donde:

$A_{pi}$  y  $A_i$ : áreas de los picos cromatográficos del patrón interno y del compuesto de interés.

$m_i$  y  $m_{pi}$ : masas del patrón interno y del compuesto a analizar.

Se calcularon posteriormente las masas de cada componente en la muestra analizada (n= 3) a partir de la fórmula:

$$m_i = \frac{A_i \times f_i^m \times m_{pi}}{A_{pi}}$$

donde:

$m_i$  y  $m_{pi}$ : masas de cada componente y del patrón interno (mg).

$A_i$  y  $A_{pi}$ : áreas bajo los picos cromatográficos del componente a analizar y del patrón interno.

$f_i^m$ : factor másico de respuesta relativa.

Se utilizó el factor de respuesta del 1-triacontanol para el 1-dotriacontanol y el 1-tetratriacontanol (D-002), así como el factor del ácido triacontanoico para los ácidos dotriacontanoico, tetratriacontanoico y hexatriacontanoico, y el factor del ácido hentriacontanoico para los ácidos tritriacontanoico y pentatriacontanoico (D-003). Se calculó la masa total de cada ingrediente activo ( $m_t$ ) mediante la suma de los resultados individuales. Para el cálculo de la concentración de la suspensión original se empleó la fórmula siguiente:

$$C = \frac{20 \times m_t}{V}$$

donde:

C: concentración de la suspensión original (mg/mL).

V: Volumen empleado de la suspensión original para preparar la suspensión de trabajo (mL).

20: factor matemático de dilución.

### *Ensayos de validación*

*Comprobación de la aplicabilidad del sistema.* Se realizaron seis réplicas de inyección de muestras de ambos tipos de suspensiones con 150 mg/mL. A partir de los cromatogramas obtenidos se determinó la resolución cromatográfica entre los componentes individuales, así como la repetibilidad del sistema, mediante el cálculo del coeficiente de variación (CV, %) de la cuantificación total (n= 6).

*Especificidad.* Se compararon por superposición los cromatogramas del patrón interno, de un blanco (goma acacia a 10 mg/mL), de los ingredientes activos y de las suspensiones de 150 mg/mL.

*Linealidad del método.* El estudio contó de cinco puntos con tres réplicas cada uno; el cálculo de la ecuación de regresión y del coeficiente de correlación (r) se realizó mediante el paquete de programas *Statistica* a partir de las concentraciones obtenidas (y) y de las concentraciones teóricas (x). Se determinaron además como criterios de linealidad y proporcionalidad los CV de los factores de respuesta  $f_{y/x}$  (y/x) y de la pendiente (CV<sub>b</sub>, %), así como los límites de confianza del intercepto.

*Precisión.* Se determinó la repetibilidad del método mediante el análisis de suspensiones con concentraciones baja (10 mg/mL), media (150 mg/mL) y alta (300 mg/mL), por el mismo técnico en el mismo día y equipo (n= 10); se determinó además la precisión intermedia mediante el análisis de suspensiones en igual intervalo de concentraciones, por dos técnicos en diferentes equipos durante 3 días (n= 3 en cada caso, para un total de 18 réplicas por suspensión); en ambos ensayos se determinaron los CV y los límites de confianza (LC), donde LC= DE x  $t(0,05, n-1)$ .

*Exactitud.* Con los datos obtenidos en el ensayo de precisión intermedia se calcularon los recobrados promedios y se compararon estadísticamente con el 100 % para un 95 % de confiabilidad, mediante la prueba t de Student. Donde:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|100 - \bar{R}|}{\text{CV}} \times \sqrt{n}$$

## **RESULTADOS**

*Aplicabilidad del sistema.* En todos los casos la resolución cromatográfica entre los componentes individuales fue > 3. La cuantificación total de los ingredientes activos en las suspensiones de D002 y D003 se efectuó con CV de 0,34 y 0,42 %, respectivamente.

*Especificidad.* En las [figuras 1](#) y [2](#) se presentan los cromatogramas obtenidos en este ensayo para los patrones internos, los ingredientes activos, y los vehículos acuosos de las suspensiones.

*Linealidad del método.* En la [tabla 1](#) se presentan las concentraciones teóricas (y) y las determinadas (x), a partir de las cuales se obtuvieron las ecuaciones de regresión presentadas en la [tabla 2](#), con sus correspondientes parámetros estadísticos.

*Precisión.* Los resultados de los ensayos de repetibilidad y precisión intermedia del método, al ser analizadas suspensiones con concentraciones baja, media y alta, se presentan en la [tabla 3](#).

*Exactitud.* En la [tabla 4](#) se presentan los resultados de las determinaciones de concentración, los recobrados correspondientes y las  $t$  experimentales calculadas en cada caso.

## DISCUSIÓN

*Aplicabilidad del sistema.* Al haber sido la resolución cromatográfica en todos los casos  $> 3$ , se puede afirmar que el sistema de cromatografía de gases empleado es capaz de separar y por tanto cuantificar individualmente todos los componentes de interés en ambos ingredientes activos, los cuales en varios casos se diferencian en no más de un átomo de carbono. En cuanto a la determinación de las concentraciones totales, estas se realizaron con  $CV < 0,5\%$ , límite máximo aceptable para sistemas cromatográficos, lo cual muestra una adecuada repetibilidad del sistema. Todo lo anterior garantiza la posibilidad de separar y cuantificar individualmente los componentes de ambos ingredientes activos, formulados como suspensiones, a pesar de sus complejas composiciones químicas, lo cual permite pasar a la validación del método.

*Especificidad.* Al comparar los diferentes cromatogramas obtenidos en este ensayo para cada tipo de suspensión, se encontró que no había interferencias entre el patrón interno, los ingredientes activos, y los ingredientes de los vehículos acuosos, lo cual garantiza la especificidad del método en el análisis de ambas suspensiones.

*Linealidad del método.* Como se puede apreciar, los coeficientes de correlación fueron  $> 0,99$ , lo cual indica que las correlaciones son positivas con una probabilidad  $> 99,9\%$ . Por otra parte, el cero quedó incluido en los LC de los interceptos, por lo que se puede considerar que no existen sesgos. Se observa además que los CV de los factores de respuesta son  $< 5\%$  y los CV de las pendientes son  $< 2\%$ . Al haberse cumplido en ambos casos todos los criterios de linealidad y proporcionalidad exigidos entre el 50 y el 130 % de la menor y de la mayor concentración esperada, respectivamente, se puede asegurar que el método es lineal para suspensiones de D-002 y D-003 entre 10 y 300 mg/mL.

*Precisión.* La repetibilidad estuvo dada por  $CV < 4\%$ , límite de aceptación establecido por Horwitz para contenidos de ingrediente activo entre 2 y 5 % en formulaciones.<sup>10</sup> Esto indica que el método se comporta lo suficientemente repetible en todo el intervalo de concentraciones evaluado. Los CV de la precisión intermedia para las tres suspensiones analizadas también fueron menores que el límite de aceptación anteriormente especificado, y los IC obtenidos en ambos ensayos garantizan dispersiones suficientemente bajas, tanto intradía como interdía e interanalista, por lo que se puede considerar que el método es preciso.

*Exactitud.* Las  $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$  para un 95 % de confiabilidad en todos los casos, lo que significa que los recobrados obtenidos no fueron estadísticamente diferentes del 100 % y que el método es exacto.

Se puede concluir, por tanto, que quedó desarrollado y validado un método analítico para la determinación de D-002 y D-003 en suspensiones acuosas con concentraciones entre 10 y 300 mg/mL, el cual puede ser usado en el control de la calidad de las

mismas, como forma para garantizar su correcta preparación y administración en los estudios toxicológicos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

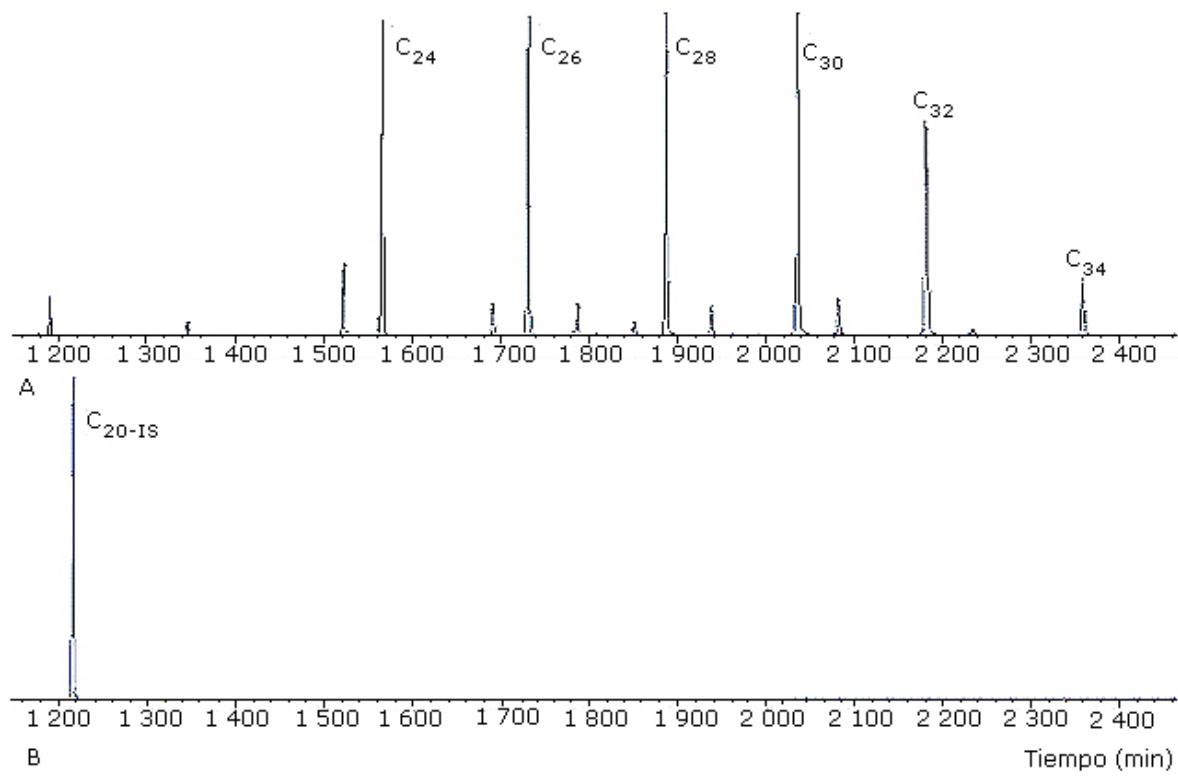
1. Magraner J. Una mezcla natural compuesta por alcoholes alifáticos primarios superiores obtenidos de la cera de abejas para el tratamiento de las úlceras gástricas y duodenales que presenta también actividad antiinflamatoria. Patente CU 22412, 1995. USA Patent 6 235 795.
2. González L, Marrero D, Laguna A, Más R, Arruzazabala ML, Carvajal D, et al. (LABORATORIOS DALMER.SA). Mixture of primary fatty acids obtained from sugar cane wax. Cuban Patent 22,723 (2001); PCT Application WO 98/43631. 1997.
3. López E, Illnait J, Molina V, Oyarzábal A, Fernández L, Pérez Y, et al. Effects of D-002 (beeswax alcohols) on lipid peroxidation in middle- aged and older subjects. Latin Am Pharm. 2008;27:695-703.
4. Hano, O, Illnait J, Mas R, Fernández L, Piñol F, Fernández J. Effects of D-002, a product isolated from beeswax, on duodenal ulcer: a double-blind, placebo-controlled study. Curr Ther Res. 2001;62:394-407.
5. Ravelo Y, Molina V, Carbajal D, Arruzazabala ML, Mas R, Oyarzabal A, et al. Effects of single oral and topical administration of D-002 (beeswax alcohols) on xylene induced ear edema in mice. Latin Am J Pharm. 2010;29(8):1295-1472.
6. Molina V, Arruzazabala L, Carbajal D, Más R. D-003 a potential antithrombotic compound isolated from sugar cane wax with effects on arachidonic acid metabolitos. Prostg Leuk Ess Fatty Acids. 2002;67(1):19-24.
7. Castaño G, Más R, Fernández L, Illnait J, Fernández J, Mendoza S. Effects of D-003 on lipid profile of patients with type II hypercholesterolemia: a phase II clinical study. Clin Drug Invest. 2003;23:789-802.
8. Castaño G, Menéndez R, Mas R, Ledón N, Fernández JC, Pérez JL, et al. Effects of D-003: a new hypocholesterolaemic and antiplatelet compound on lipid profile and lipid peroxidation in healthy volunteers. Clin Drug Invest. 2003;23(3):193-203.
9. Noa M, Mendoza S, Mas R, Valle M, Mendoza N, Goicochea E. Long term effects of D-003, a mixture of high molecular weight acids from sugarcane wax, on bones of ovariectomized rats and apoptosis of bone cells: a one year study. Acta Microscopica. 2007;16(1-2):Suppl 2:3-13.
10. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use-ICH-Harmonized Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: methodology. Q2B, recommended for adoption at step 4 of the ICH process on 6 November 1996 by the ICH Steering Committee, Nov., 1996.

11. Tejeda Y, Sierra R, Méndez E, González V, Laguna A. Validación de una metodología analítica de identificación y cuantificación del D003 en suspensiones acuosas que contienen entre 20 y 200 mg/mL de principio activo. Rev Cubana Farm. 2002;36(1)13-8.

Recibido: 7 de junio de 2012.

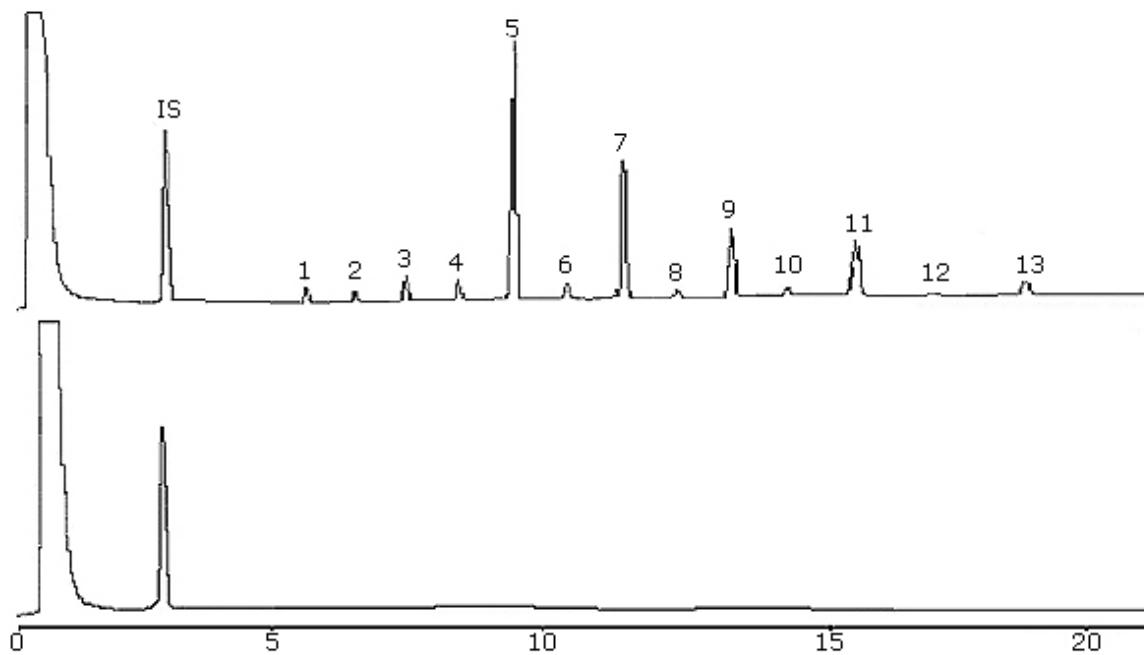
Aprobado: 16 de julio de 2012.

*Víctor Luis González Canavaciolo.* Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ave. 25 y Calle 158, Cubanacán, Playa, Apartado Postal 6414, La Habana, Cuba. Correo electrónico: [victor.gonzalez@cnic.edu.cu](mailto:victor.gonzalez@cnic.edu.cu)



**Fig. 1.** Cromatograma de gases parcial de los alcoholes de alto peso molecular y el estándar interno (C<sub>20</sub>) después de una derivatización como TMS.

[Regresar](#)



**Fig. 2.** Perfil cromatográfico de los ácidos que componen el D-003 (A) y el estándar interno (B) analizados como ésteres metílicos. Picos: IS)  $C_{19:0}$ , 1)  $C_{24:0}$ , 2)  $C_{25:0}$ , 3)  $C_{26:0}$ , 4)  $C_{27:0}$ , 5)  $C_{28:0}$ , 6)  $C_{29:0}$ , 7)  $C_{30:0}$ , 8)  $C_{31:0}$ , 9)  $C_{32:0}$ , 10)  $C_{33:0}$ , 11)  $C_{34:0}$ , 12)  $C_{35:0}$ , y 13)  $C_{36:0}$ .

[Regresar](#)

**Tabla 1.** Resultados del ensayo de linealidad del método

Punto	Concentraciones teóricas (mg/mL)	Concentraciones determinadas de D-002 (mg/mL)			Concentraciones determinadas de D-003 (mg/mL)		
1	10,0	9,6	9,8	10,8	10,2	9,7	9,3
2	100,0	99,4	98,2	101,5	99,8	100,5	99,1
3	200,0	200,3	210,7	205,1	203,4	199,2	201,2
4	300,0	300,8	305,5	297,0	302,6	301,4	298,5
5	400,0	412,1	403,0	390,9	413,1	404,0	421,6

[Regresar](#)

**Tabla 2.** Animales con áreas de necrosis e infiltrado de neutrófilos

Grupos	Animales con necrosis	%	Animales con infiltrado de neutrófilos	%
C-	0/8***	0	0/8***	0
C+	7/8	87,5	7/8	87,5
D-002 (5 mg/kg)	2/8*	25	4/8	50
D-002 (25 mg/kg)	2/8*	25	2/8*	25
D-002 (50 mg/kg)	1/8**	12,5	2/8*	25
D-002 (100 mg/kg)	1/8***	12,5	1/8**	12,5
ESU (100 mg/kg)	1/8**	12,5	1/8**	12,5

\*p< 0,05; \*\*p< 0,01; \*\*\*p<0,001. Comparación vs. C+ (prueba de la probabilidad exacta de Fisher).

[Regresar](#)

**Tabla 3.** Resultados de los ensayos de repetibilidad y precisión intermedia

Suspensión (mg/mL)	Parámetro	D-002		D-003	
		(n= 10)	(n= 18)	(n= 10)	(n= 18)
10	$\bar{x} \pm LC$ (mg/mL)	$9,8 \pm 0,4$	$9,9 \pm 0,5$	$10,1 \pm 0,2$	$10,0 \pm 0,4$
	CV (%)	1,6	2,2	0,8	1,9
150	$\bar{x} \pm LC$ (mg/mL)	$151,2 \pm 6,8$	$150,8 \pm 7,3$	$149,4 \pm 5,7$	$150,2 \pm 6,6$
	CV (%)	2,0	2,3	1,7	2,1
300	$\bar{x} \pm LC$ (mg/mL)	$301,6 \pm 15,0$	$299,2 \pm 15,2$	$299,5 \pm 10,2$	$298,6 \pm 11,3$
	CV (%)	2,2	2,4	1,5	1,8

LC= DE  $\times$   $t_{(0,05, n-1)}$ ; donde  $t_{(0,05;9)}= 2,262$  y  $t_{(0,05;17)}= 2,11$ .

[Regresar](#)

**Tabla 4.** Resultados del estudio de exactitud

Suspensión (mg/mL)	D-002			D-003		
	Concentración (mg/mL) ± DE	Recobrado (%)	$t_{exp}$	Concentración (mg/mL) ± DE	Recobrado (%)	$t_{exp}$
10	10,70 ± 0,4	97,11	3,64	10,70 ± 0,3	97,11	3,64
150	151,83 ± 7,1	96,28	5,90	151,83 ± 6,4	96,28	5,90
300	296,19 ± 14,9	97,96	2,49	296,19 ± 11,5	97,96	2,49

$$t_{tab}(0,05;17) = 2,11.$$

[Regresar](#)