

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

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRFÍA  
LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN PARA LA  
CUANTIFICACIÓN DE IBUPROFENO EN SUSPENSIÓN**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR:

ROSSANA ANLEU LAINFIESTA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

GUATEMALA, MAYO DE 2000.

DL  
06  
T(2060)

**JUNTA DIRECTIVA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

DECANA	LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	DR. OSCAR MANUEL CÓBAR PINTO
VOCAL II	DR. RUBEN DARIEL VELÁSQUEZ MIRANDA
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSÉ
VOCAL IV	BR. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZÁLEZ
VOCAL V	BR. ESTUARDO SOLÓRZANO LEMUS

## DEDICATORIA

- A mis padres: Manuel Anleu Mejía  
Julia Lainfiesta de Anleu
- A mis hermanos: Alejandro Anleu Lainfiesta  
María Inés y Gerald Fernández
- A mi sobrina: Gabriela Fernández Anleu
- A mi abuelita: Mercedes Ponce vda. de Lainfiesta
- A mi novio: Ovidio Villeda Lizama

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y a mis padres, por la oportunidad de vivir.

A mi papá por su esfuerzo y sacrificio para lograr este triunfo.

A mis hermanos, Alejandro, María Inés y Gerald, por su apoyo durante la realización de este trabajo.

A mi novio, Ovidio, por su colaboración en este trabajo.

Al personal del departamento de Garantía de Calidad de Laboratorios LANCASCO, S.A. por su colaboración y apoyo en todo momento.



## ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. ANTECEDENTES.....	6
4. JUSTIFICACIÓN.....	7
5. OBJETIVOS.....	8
6. HIPÓTESIS.....	9
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
6.1 UNIVERSO DE TRABAJO.....	10
6.2 MEDIOS.....	10
6.3 MÉTODO.....	12
8. RESULTADOS.....	19
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	23
10. CONCLUSIONES.....	27
11. RECOMENDACIONES.....	29
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
13. ANEXOS.....	32
13.1 TABLAS DE RESULTADOS.....	33
13.2 ASPECTOS GENERALES.....	38
13.3 MONOGRAFÍA DE IBUPROFENO.....	42
13.4 ESPECIFICACIONES SUSPENSIÓN IBUPROFENO.....	47
13.5 CROMATOGRAMAS.....	48

## 1. RESUMEN

Las Buenas Prácticas de Laboratorio y las Buenas Prácticas de Manufactura requieren que los métodos de análisis sean validados con el fin de verificar que el sistema es capaz de identificar y cuantificar sustancias en los límites indicados en las especificaciones.

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de demostrar que el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución propuesto, cumple con los parámetros de especificidad, exactitud, precisión del método, precisión del sistema, linealidad y robustez para cuantificar ibuprofeno en la forma farmacéutica de suspensión.

Los parámetros mencionados se evaluaron en el presente trabajo para demostrar su validez.

Como objetivos fundamentales en este trabajo de investigación se consideró: demostrar que el método propuesto para cuantificar ibuprofeno en suspensión es selectivo para identificar y cuantificar dicha sustancia así como, garantizar que los resultados obtenidos son confiables y reproducibles, que el método es exacto, preciso y lineal siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo.

La hipótesis del presente trabajo establece que el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión cumple con los requisitos necesarios para ser utilizado como un método de análisis válido y confiable.

Las muestras utilizadas se seleccionaron aleatoriamente y fueron tratadas como se indica en el procedimiento para la evaluación de cada uno de los parámetros descritos.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un tratamiento estadístico para la evaluación de cada uno de los parámetros mencionados, el cual incluyó cálculos de desviación estándar, coeficiente de variación, intervalos 2S y 3S del valor medio, intervalo de confianza del 95 %, regresión lineal y análisis de varianza para comparación de medias. Con esto, se concluye que el método evaluado es válido y puede utilizarse como un método analítico, es decir, que cumple con las características necesarias para poder cuantificar ibuprofeno en la forma farmacéutica de suspensión.



## 2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la Cromatografía Líquida de Alta Resolución ha adquirido una importancia relevante en el análisis químico cuantitativo. Es por eso que en Guatemala, la mayoría de laboratorios nacionales y transnacionales cuentan con el equipo necesario para este tipo de cromatografía.

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución, también llamada HPLC por sus siglas en inglés (High Performance Liquid Chromatography), presenta ventajas sobre los métodos tradicionales. Entre ellas están: que se obtienen tiempos de análisis muy rápidos, pueden separarse sustancias de mezclas complejas con alta resolución, ejecución de los análisis con facilidad y exactitud, obteniéndose errores relativos menores al 1%. Además, existen sistemas automatizados que inyectan la muestra, realizan la separación, imprimen la identificación de cada pico y su concentración para luego repetir el ciclo con la muestra siguiente.

(1,2)

Es por eso que las ediciones más recientes de algunas farmacopeas utilizan esta técnica para la cuantificación de sustancias activas. En las mismas se incluye el método para cuantificar ibuprofeno, ya sea como materia prima o en tabletas. En la edición más reciente de la USP se encuentra también el método para cuantificar ibuprofeno en suspensión.

El presente trabajo de tesis validó el método para cuantificar ibuprofeno en preparaciones pediátricas como suspensión, ya que las Buenas Prácticas de Manufactura y las Buenas Prácticas de Laboratorio requieren que los métodos de análisis sean válidos y confiables, con el fin de verificar que el sistema sea capaz de identificar y cuantificar sustancias en los límites indicados en las especificaciones del mismo.

La validación de un método analítico, es el proceso que establece, por estudios de laboratorio, que el desempeño y las características del método cumplen los requerimientos para las intenciones de aplicación analítica. Las variables analíticas que se estudian básicamente son: especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad, precisión, exactitud, linealidad y robustez. (5,6)

La validación debe ser enmarcada estadísticamente y los dictámenes rutinarios posteriores deben cumplir con la precisión y la veracidad establecida durante la validación. (7)

### 3. ANTECEDENTES

De acuerdo a la revisión bibliográfica efectuada, no se encontraron antecedentes de estudios de validación para la cuantificación de ibuprofeno en preparaciones pediátricas en forma de suspensión.

Sin embargo, cada laboratorio fabricante realiza sus propios estudios para establecer el método de análisis útil para su producto. En Guatemala existen dos laboratorios que fabrican preparados de ibuprofeno en forma de suspensión.

Estos estudios son propiedad de cada laboratorio y por consiguiente, no se tiene acceso a ellos.



#### 4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, existen laboratorios farmacéuticos en países como Venezuela, Estados Unidos y Guatemala que fabrican preparados de ibuprofeno en forma de suspensión. El control de calidad tuvo algunas dificultades ya que no se disponía de un método oficial para cuantificar esta sustancia activa en dichas preparaciones. Es por eso que cada laboratorio se vio en la necesidad de establecer su propio método de análisis.

Por esta razón, surgió la inquietud de proponer un método para cuantificar ibuprofeno en preparaciones pediátricas en suspensión, el cual debía cumplir con los requisitos de validez y confiabilidad para efectuar este ensayo.

La validación de los métodos de cuantificación es una de las exigencias que deben cumplirse según las Buenas Prácticas de Laboratorio para garantizar que los análisis de productos cumplen con las especificaciones. (6)

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General:

Proponer un método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión, 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 ibuprofeno en suspensión es selectivo para ibuprofeno.
- 5.2.2 Garantizar que los resultados obtenidos bajo las mismas condiciones con el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión 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 Demostrar que el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión es exacto, preciso y lineal, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo.

## 6. HIPÓTESIS

El método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión, propuesto en este trabajo, cumple las variables de especificidad, exactitud, precisión del método, precisión del sistema, linealidad y robustez para ser utilizado como un método de análisis válido y confiable.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1 Universo de Trabajo:**

Método de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar ibuprofeno en suspensión.

Muestras de suspensión de ibuprofeno con diferentes concentraciones para realizar los análisis.

### **7.2 Medios:**

#### **7.2.1 Recursos Humanos:**

Autora: Rossana Anleu Lainfiesta.

Asesor: Lic. Elfego Rolando López.

Asesor Estadístico: Lic. Jorge Luis de León.

Personal profesional y técnico del Laboratorio de Garantía de Calidad de Laboratorios Lancasco.

### 7.2.2 Recursos Materiales:

#### 7.2.2.1 Equipo:

- Cromatógrafo líquido de alta resolución Perkin Elmer compuesto por una bomba binaria Serie 200 Ic, un detector UV-VIS LC 295 de longitud de onda variable y un integrador PE Nelson con enlace Serie 600 e interfase Serie 900.
- Balanza analítica.
- Sistema de filtración de muestras.
- Sistema de filtración de solventes.
- Sistema de desgasificación de solventes.
- Computadora.

#### 7.2.2.2 Cristalería:

- Balones volumétricos.
- Pipetas volumétricas.
- Picnómetros de 10 mL.
- Vidrios de reloj.
- Jeringas de inyección de 5 mL.
- Embudos.

#### 7.2.2.3 Reactivos:

- Isopropanol grado HPLC.
- Agua desionizada.



### 7.3 Método:

#### 7.3.1 Preparación de las soluciones:

7.3.1.1 Preparación de la fase móvil: hacer una mezcla de isopropanol grado HPLC y agua desionizada (60:40) y filtrar.

7.3.1.2 Preparación de la muestra: medir la densidad de la suspensión a 25°C, previamente homogenizada, y pesar el equivalente a 40 mg de ibuprofeno. Para tomar la muestra, introducir la pipeta a manera de tomarla del centro del balón (unos 2 cm arriba del fondo). Transferir cuantitativamente a un balón volumétrico de 100 mL con ayuda de 25 mL de fase móvil, agitar hasta disolución, llevar a volumen con fase móvil, y mezclar. Diluir 10 mL en 100 mL, llevar a volumen con fase móvil, y mezclar.

7.3.1.3 Preparación del estándar: pesar exactamente 40.000 mg de Ibuprofeno USP y transferir cuantitativamente a un balón volumétrico de 100 mL con ayuda de 25 mL de fase móvil, agitar hasta disolución, llevar a volumen con fase móvil, y mezclar. Diluir 10 mL en 100 mL, llevar a volumen con fase móvil, y mezclar.



### 7.3.2 Condiciones cromatográficas:

Columna: FR C-18 4 X 75 mm, partícula 5  $\mu\text{m}$ .

Fase móvil: Isopropanol/agua (60:40).

Velocidad de flujo: 1 mL/min.

Capacidad de la válvula de inyección (loop): 10  $\mu\text{L}$ .

Volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ .

Longitud de onda del detector UV: 225 nm.

Sensibilidad del detector: 1.000 AUFS.

Integrador: 1 cm/min carta completa.

Factor de respuesta: área de los picos.

### 7.3.3 Procedimiento:

Inyectar la preparación del estándar y esperar que salga el cromatograma en el cual el pico que aparece corresponde a ibuprofeno. Seguidamente inyectar la preparación de la muestra y proceder en igual forma.

Calcular la cantidad de ibuprofeno en  $\mu\text{g/mL}$  por la fórmula:

$$C_p = \frac{A_m}{A_e} \times C_e$$

donde:  $C_p$  = concentración del patrón (40  $\mu\text{g/mL}$ ).

$A_m$  = área de la muestra. \*

$A_e$  = área del estándar. \*

\* *Estos datos se obtienen del cromatograma y los integra la computadora.*

#### 7.3.4 Validación:

7.3.4.1 Especificidad: se realizaron tres inyecciones del placebo, tres inyecciones de estándar de ibuprofeno y tres inyecciones de estándar de acetaminofén, previamente preparadas como se indica en el inciso 7.3.1.2.

7.3.4.2 Exactitud: se realizaron las siguientes inyecciones:

un estándar de ibuprofeno por duplicado,

una muestra original por triplicado,

una muestra original más 25% de activo por triplicado,

una muestra original más 50% de activo por triplicado.

7.3.4.3 Precisión del método: se realizaron, por triplicado, inyecciones de 10 muestras de un mismo lote y, por duplicado, inyecciones de un estándar de ibuprofeno. La inyección del estándar se hizo a intervalos de 10 inyecciones de muestra.

7.3.4.4 Precisión del sistema: se hicieron 10 inyecciones de estándar de ibuprofeno bajo las mismas condiciones.

7.3.4.5 Linealidad: se realizaron, por duplicado, inyecciones del principio activo a las siguientes concentraciones: 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%.

7.3.4.6 Robustez: se inyectaron, por triplicado, 10 muestras de un mismo lote, cada una contra un estándar de ibuprofeno por duplicado. Se inyectó el estándar a intervalos de cada 10 inyecciones de muestra. Esto lo realizaron 6 diferentes analistas.

#### 7.3.5 Diseño de la Investigación:

Con base a los cromatogramas obtenidos después de analizar las muestras en el cromatógrafo líquido de alta resolución se evaluó cada uno de los parámetros mencionados anteriormente de la manera siguiente:

##### 7.3.5.1 Especificidad:

Se analizaron los siguientes componentes, en forma ordenada evaluados en el límite de la especificación:

3 inyecciones de placebo,

3 inyecciones de estándar de ibuprofeno,

3 inyecciones de estándar de acetaminofén.

Se aseguró la especificidad o selectividad del método exclusivamente para aquellas sustancias que fueron analizadas. Esta prueba es satisfactoria siempre y cuando el cromatograma incluya un listado de sustancias con sus correspondientes tiempos de retención, así como los picos desconocidos provenientes de otras sustancias ajenas al principio activo (excipientes).

#### 7.3.5.2 Exactitud:

Para la evaluación de este atributo se efectuaron en el cromatógrafo las siguientes inyecciones:

una inyección de estándar de ibuprofeno por duplicado,

una inyección de muestra original por triplicado,

una inyección de muestra más 25% de principio activo por triplicado,

una inyección de muestra más 50% de principio activo por triplicado.

Se calculó la desviación estándar y la media. Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje de recuperación. Se calculó el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) con la fórmula:

$$C.V. = (S/X)*100,$$

donde: S = desviación estándar

X = media



#### 7.3.5.3 Precisión del método:

10 muestras de suspensión de ibuprofeno pertenecientes a un mismo lote se inyectaron por triplicado contra un estándar de ibuprofeno por duplicado cada 10 inyecciones. Se evaluó la repetitividad por la desviación estándar y el coeficiente de variación, intervalos 2S y 3S del valor medio, con un nivel de confianza de 95.0%.

#### 7.3.5.4 Precisión del sistema:

Se realizó con la misma solución estándar inyectándola 10 veces. La repetitividad de la desviación estándar se calculó sobre los 10 resultados (área o altura del pico en el cromatograma). Como medición de la precisión del sistema se utilizó:

La repetitividad de la desviación estándar.

El coeficiente de variación.

Intervalos 2S y 3S del valor medio.

Nivel de confianza de 95.0%.

#### 7.3.5.5 Linealidad:

Se efectuaron inyecciones por duplicado de la muestra a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, 125% y 150% del principio activo.

Los valores obtenidos se graficaron en función de la concentración, esto soporta el grado de confiabilidad de acuerdo a los intervalos de confianza de la recta. Con los valores de concentración vrs. áreas de los picos se determinó la ecuación de la recta ( $Y = mX + b$ ) y para su evaluación se calculó el coeficiente de determinación que es el porcentaje de desviación de los resultados explicado en la recta, y el intercepto (b) que para este caso debe ser no mayor de 3% del valor máximo de concentración (150% del principio activo).

#### 7.3.5.6 Robustez:

Para comparar y calcular las diferentes desviaciones estándar fueron necesarias 10 muestras de un mismo lote y seis analistas diferentes, para la obtención de resultados.

Para cada muestra se calculó la desviación estándar. Se analizaron 10 muestras de un mismo lote por triplicado contra un estándar por duplicado cada 10 inyecciones. El mismo procedimiento se efectuó por seis diferentes analistas bajo las mismas condiciones.



## 8. RESULTADOS

### 8.1 Especificidad:

Para la evaluación de este parámetro los resultados son los siguientes:

<b>Preparación</b>	<b>Tiempo de Retención</b>
Estándar de ibuprofeno	2.39 min
Estándar de acetaminofén	0.88 min
Placebo	0.61 min

Se realizaron tres inyecciones de estándar de ibuprofeno, tres inyecciones de estándar de acetaminofén y tres inyecciones del placebo. Con la diferencia en los tiempos de retención, se demuestra que el método es capaz de identificar y diferenciar el ibuprofeno tanto del placebo como de otras sustancias, por lo que el método es selectivo para ibuprofeno. (Tabla 1, Anexo 1)

### 8.2 Exactitud:

Se realizaron inyecciones de muestras con niveles del 100%, 125%, y 150% de ibuprofeno. Cada muestra se inyectó tres veces contra dos inyecciones de estándar de ibuprofeno.

Se calculó el porcentaje de recuperación en cada inyección de los niveles empleados, y se obtuvo un promedio de 101.04% de

recuperación, con una desviación estándar de 1.53 y un coeficiente de variación de 1.52%. El valor de la t de Student calculada fue de 2.045 contra una t crítica de 2.306. (Tabla 2, Anexo 1)

### **8.3 Precisión del método:**

Se utilizaron 10 muestras de un mismo lote de suspensión de ibuprofeno y se prepararon como se indica en el procedimiento. Cada muestra fue inyectada tres veces contra un estándar de ibuprofeno que se inyectó dos veces a intervalos de cada 10 inyecciones simples de muestra.

La concentración promedio de ibuprofeno fue de 40.47 $\mu$ g, con una desviación estándar de 1.18 y un coeficiente de variación de 2.92%.

El intervalo 2S del valor medio se encuentra entre 38.10 y 42.83 $\mu$ g, mientras que el intervalo 3S del valor medio oscila entre 36.92 y 44.02 $\mu$ g.

La t de Student con un nivel de confianza del 95.0% y 29 grados de libertad es de 2.167, lo que muestra un intervalo de precisión del método de 34.06 a 46.87 $\mu$ g. (Tabla 3, Anexo1)

#### **8.4 Precisión del sistema:**

Se preparó una solución estándar de ibuprofeno y se inyectó 10 veces. La evaluación indicó un área promedio de 678612.51 unidades de absorbancia con una desviación estándar de 13075.01 y un coeficiente de variación de 1.93%. (Tabla 4, Anexo 1)

#### **8.5 Linealidad:**

Para este parámetro se inyectaron, por duplicado, soluciones de muestras a concentraciones del 25, 50, 75, 100, 125, y 150% de ibuprofeno. Se graficaron las concentraciones vrs. área de los picos, y de esta manera se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$Y = 589225.657X + 20416.7667,$$

con un coeficiente de determinación de 0.99798877 para 12 muestras y 10 grados de libertad. Lo que implica que las variaciones entre X y Y están explicadas en un 99.80% de los casos y un 0.20% no está explicado en la recta. (Tabla 5, Anexo 1)

### 8.6 Robustez:

Para evaluar este parámetro, se calcularon las desviaciones estándar obtenidas de 10 muestras de un mismo lote preparadas por 6 analistas diferentes. Las muestras se inyectaron tres veces contra un estándar de ibuprofeno que se inyectó dos veces.

Los resultados obtenidos fueron:

<b>Analista</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de Variación</b>
1	626666.09	24633.71	3.93%
2	663387.66	21771.84	3.28%
3	648331.16	12081.46	1.86%
4	649888.37	9467.87	1.46%
5	639824.24	8511.77	1.33%
6	658408.21	8917.20	1.35%

En el análisis de varianza se obtiene un valor para F de 2.266, que es menor que la F crítica de 2.420, lo que demuestra que el método es reproducible de un analista a otro. (Tabla 6, Anexo 1)



## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos demuestran que el método propuesto en este trabajo para cuantificar ibuprofeno en suspensión por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, es válido ya que cumple con todos los parámetros necesarios para ser utilizado como un método analítico para esta forma farmacéutica, siempre y cuando se trabaje bajo las mismas condiciones especificadas en el mismo.

El método demostró ser selectivo para ibuprofeno ya que los tiempos de retención de las inyecciones del estándar de ibuprofeno son muy diferentes a los tiempos de retención de las inyecciones de placebo y acetaminofén. Esto indica que el ibuprofeno puede ser identificado y cuantificado por dicho método.

Además, el método también demostró ser exacto ya que con un promedio de 101.04% de recuperación del principio activo, con una desviación estándar de 1.53 y un coeficiente de variación de 1.52%, los resultados son confiables y exactos. El coeficiente de variación es menor que 3% que es el máximo permitido para la cuantificación de principios activos; y la *t* de Student calculada fue de 2.045 que es menor a la *t* crítica de 2.306, con lo que se puede decir que el valor medio para el 100% de la población está en el intervalo de confianza del 95%.

La evaluación de la precisión del método se realizó mediante la cuantificación del grado de dispersión de un total de 30 observaciones con respecto a la media que es de  $40\mu\text{g}$  de ibuprofeno y se obtuvo una desviación estándar de 1.18 y un coeficiente de variación de 2.92%. Los intervalos 2S y 3S indican que el método es preciso ya que el 95.0% de los resultados se encuentran en el intervalo de 38.10 y  $42.83\mu\text{g}$  de ibuprofeno, y el 99.7% de los resultados están en el intervalo de 36.92 y  $44.02\mu\text{g}$  de ibuprofeno. El valor de la t de Student calculada con un nivel de confianza del 95.0% indica que el método propuesto es preciso en el intervalo de 34.06 a  $46.87\mu\text{g}$  de ibuprofeno.

Para la evaluación de la precisión del sistema se realizaron 10 inyecciones de un estándar de ibuprofeno y se calculó el promedio de las áreas de los picos obtenidos la cual fue de 678612.51 unidades de absorbancia con una desviación estándar de 13075.01 y un coeficiente de variación de 1.93%.

Al calcular los intervalos 2S y 3S se puede predecir que al realizar una cuantificación de ibuprofeno en suspensión, con el método propuesto en este trabajo, el 95% de los resultados obtenidos estarán dentro del intervalo de 652462.50 a 704762.52 UA y el 99.7% de los resultados estarán dentro del intervalo de 639387.50 a 717837.53 UA.



El parámetro de linealidad fue evaluado por duplicado en muestras con concentraciones del 25, 50, 75, 100, 125, y 150% de ibuprofeno, tratadas como se indica en el presente trabajo. Se graficaron los valores de concentración vrs. el área obtenida para cada concentración y se ajustó a la mejor línea recta con el cálculo de mínimos cuadrados, para obtener la ecuación de la recta:

$$Y = 589225.657X + 20416.7667,$$

Donde:  $Y =$  Área en unidades de absorbancia

$X =$  Porcentaje de ibuprofeno en la muestra

589225.657 = Pendiente de la línea recta

20416.7667 = Intercepto entre la recta y el eje Y

Si se calcula el valor de Y para una concentración X máxima de 150%, se obtiene un valor de área de 88404265.32 UA, el 3% de ese valor es de 2652127.96 UA por lo que el intercepto en 20416.7667 UA no es mayor del 3% del valor esperado para Y para la concentración máxima de  $X = 150\%$ .

El coeficiente de determinación obtenido es de 0.9980, lo que indica que el 99.80% de los valores del área en Y están explicados por la ecuación de la recta.

La robustez del método se evaluó mediante los resultados obtenidos de 6 diferentes analistas quienes trabajaron 10 muestras de un mismo lote de acuerdo a las condiciones descritas en el presente trabajo. Se hizo la comparación de las desviaciones estándar las cuales se encuentran dentro de valores aceptados.

El análisis de varianza de dos vías para comparación de más de dos medias se realizó mediante el cálculo del valor F que fue de 2.266, menor que el valor crítico de F de 2.420 para 174 grados de libertad y un total de 180 observaciones con un alfa de 0.05, lo que demuestra que no hay diferencia en los resultados promedios obtenidos por los 6 diferentes analistas. Esto demuestra que el método propuesto en el presente trabajo es reproducible de un analista a otro, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones de análisis.

## 10. CONCLUSIONES

- 10.1** El método propuesto para cuantificar ibuprofeno en suspensión por Cromatografía Líquida de Alta Resolución cumple con los parámetros establecidos para la validación de métodos según la USP XXIII, por lo que los resultados son confiables. (3)
- 10.2** El método propuesto es selectivo para ibuprofeno, ya que separa esta sustancia del resto de ingredientes en la formulación (placebo).
- 10.3** El método validado en el presente trabajo es exacto, ya que los resultados coinciden con el valor real..
- 10.4** El método evaluado para cuantificar ibuprofeno en suspensión es preciso, ya que los resultados obtenidos de una muestra homogénea son similares, al efectuarse en forma repetida.

- 10.5** El sistema de Cromatografía Líquida de Alta Resolución utilizado en el presente trabajo, es preciso, ya que es capaz de reproducir resultados de una misma preparación inyectada varias veces.
- 10.6** El método propuesto es lineal, ya que las áreas obtenidas son proporcionales a las diferentes concentraciones trabajadas y son predecibles, siempre que se trabaje en el intervalo de concentración indicado.
- 10.7** El método estudiado es reproducible, ya que al ser utilizado por diferentes analistas, los resultados obtenidos son confiables, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones de análisis.
- 10.8** Los resultados obtenidos mediante el método propuesto son válidos y confiables, siempre y cuando se trabaje en el intervalo de concentración descrito, o sea del 25% al 150% de la concentración de ibuprofeno utilizada para propósitos de esta validación (40 $\mu$ g).



## 11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Trabajar bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo para garantizar la confiabilidad de los resultados, ya que la modificación de una o varias condiciones implica una nueva validación para el método.
- 11.2 Antes de utilizar el método propuesto en el presente trabajo con otro cromatógrafo líquido de alta resolución, es necesario adecuar el sistema, que incluye la evaluación de la precisión del sistema, la linealidad, la resolución entre picos y la simetría.
- 11.3 Con el fin de evaluar la robustez del método y la precisión del sistema, se debe establecer una buena comunicación con otros laboratorios de análisis, para verificar resultados.
- 11.4 Evaluar con el presente método las distintas suspensiones de ibuprofeno que se encuentran en el mercado.
- 11.5 Establecer un tiempo exacto entre la homogenización de la muestra y la toma de la misma.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 12.1** Johnson E, Stevenson R. Basic Liquid Chromatography. USA. Varian. 1978.
- 12.1** Steven B, Schram S. The LDC Basic Book on Liquid Cromatography. Laboratory Data Control. USA. Milton Roy Company. 1982.
- 12.2** The United States Pharmacopeia. The National Formulary. XXIII Ed. USA. United States Pharmacopeial Convention. 1995.
- 12.3** European Pharmacopoeia. 3th. Ed. 1997.
- 12.4** Guía de Validación en HPLC. 1993. Manual de Trabajo. Perkin Elmer - Anaqui. Guatemala.
- 12.5** Buenas Prácticas de Manufactura Vigentes Inspección y Auditoría, Curso Teórico - Práctico. División de Sistemas y Servicios de Salud. OPS. OMS. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias. Tomo 10.

- 12.6** Pryde A, Gilbert M. Applications of High Performance Liquid Chromatography. USA. Chapan And Hall Ltd. 1979.
- 12.7** De León Barrientos, Sandra, Validación del método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificación de vitamina "A" en tabletas multivitamínicas masticables. Guatemala. Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de CC.QQ. y Farmacia). 1998.
- 12.8** De León Mendizabal Sandra. Validación del método para cuantificar Epinefrina por Cromatografía Líquida de Alta Precisión en cartuchos de anestésico dental. Guatemala. Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de CC.QQ. y Farmacia). 1996.

## **13 ANEXOS**

**13.1** Tablas de Resultados.

**13.2** Aspectos Generales.

**13.3** Monografía de Ibuprofeno como materia prima.

**13.4** Especificaciones de Análisis de una Suspensión de  
Ibuprofeno.

**13.5** Cromatogramas.



## 13.1 Tablas de Resultados:

Tabla 1. Especificidad

Componente	No. de Inyección	Tiempo de retención
Ibuprofeno	1	2.38 min.
	2	2.39 min.
	3	2.39 min.
Acetaminofén	1	0.88 min.
	2	0.88 min.
	3	0.88 min.
Placebo	1	0.61 min.
	2	0.61 min.
	3	0.62 min.

Tabla 2. Exactitud

Nivel	Peso	# de Inyección	$\mu\text{g}$ Teóricos	$\mu\text{g}$ Prácticos	% Recuperación
Estándar			40.00		
100 %	2.2890 g	1		41.01	101.76
		2	40.30	41.31	102.51
		3		40.84	101.34
125 %	2.2855 g	1		49.39	98.19
		2	50.30	50.70	100.80
		3		50.12	99.64
150 %	2.2946 g	1		60.64	100.67
		2	60.24	60.87	101.04
		3		62.31	103.44
				Media	<b>101.04</b>
				Desv. Std.	<b>1.53</b>
				Coef. Var.	<b>1.52</b>
				t	<b>2.045</b>

(2.2720 g es el peso de suspensión equivalente a 40 mg de Ibuprofeno.)



Tabla 3. Precisión del Método

Muestra	Área	Concentración en $\mu\text{g/mL}$	
Estándar 1	660146.00		
Estándar 1	577859.60		
Muestra 1	627443.50	40.55	
Muestra 1	627958.20	40.58	
Muestra 1	621788.83	40.18	
Muestra 2	629511.80	40.68	
Muestra 2	633212.01	40.92	
Muestra 2	638739.20	41.28	
Muestra 3	635139.00	41.04	
Muestra 3	644592.53	41.65	
Muestra 3	617562.40	39.91	
Estándar 2	609903.40		
Estándar 2	621896.80		
Muestra 4	640286.80	41.58	
Muestra 4	602238.20	39.11	
Muestra 4	612297.60	39.77	
Muestra 5	633330.90	41.13	
Muestra 5	614976.15	39.94	
Muestra 5	659331.70	42.82	
Muestra 6	624407.10	40.55	
Muestra 6	613515.40	39.85	
Muestra 6	597308.40	38.79	
Estándar 3	586058.26		
Estándar 3	641962.34		
Muestra 7	624667.80	40.69	
Muestra 7	593484.80	38.66	
Muestra 7	611486.00	39.84	
Muestra 8	593829.80	38.69	
Muestra 8	593829.80	38.69	
Muestra 8	599766.50	39.07	
Muestra 9	596473.70	38.86	
Muestra 9	644163.40	41.96	
Muestra 9	633351.20	41.26	
Estándar 4	580576.80		
Estándar 4	575047.60		
Muestra 10	606225.40	41.97	
Muestra 10	607277.42	42.04	
Muestra 10	606560.82	41.99	
Media			40.47 $\mu\text{g/mL}$
Desv. Std.			1.18
Coef. Var.			2.92
Intervalo 2S		38.10 $\mu\text{g/mL}$	42.83 $\mu\text{g/mL}$
Intervalo 3S		36.92 $\mu\text{g/mL}$	44.02 $\mu\text{g/mL}$
T			2.167
Intervalo 95 %		34.06 $\mu\text{g/mL}$	46.87 $\mu\text{g/mL}$



Tabla 4. Precisión del Sistema

Inyección	Área	
1	660146.00	
2	695956.00	
3	658463.60	
4	671562.20	
5	672346.40	
6	689276.40	
7	681697.60	
8	694576.00	
9	683488.40	
10	678612.51	
Media		<b>678612.51</b>
Desv. Std.		<b>13075.01</b>
Coef. Var.		<b>1.93</b>
Intervalo 2S	<b>652462.50</b>	<b>704762.52</b>
Intervalo 3S	<b>639387.50</b>	<b>717837.53</b>

Tabla 5. Linealidad

Nivel de Concentración	Inyección	Área
25 %	1	153557.2
	2	156176.6
50 %	1	328402.8
	2	330658.8
75 %	1	479583.6
	2	460000.4
100 %	1	597746.0
	2	594768.0
125 %	1	764136.4
	2	771120.2
150 %	1	895184.6
	2	900536.0

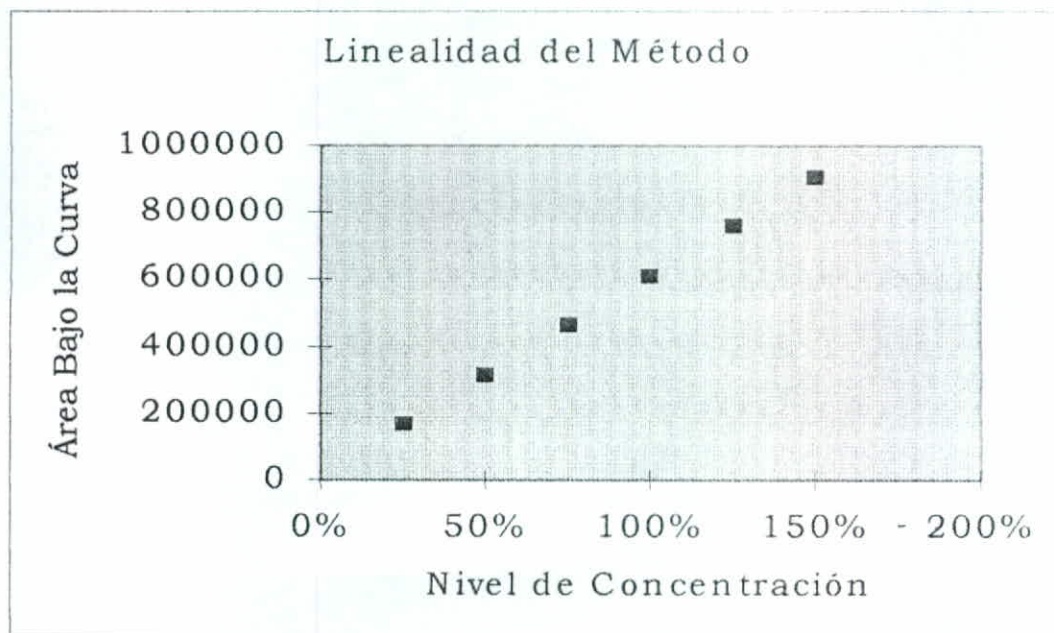
Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0.9990
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.9980
R <sup>2</sup> ajustado	0.9975
Error típico	13831.82
Observaciones	6

#### Análisis de Varianza

	gl	Suma de X <sup>2</sup>	Promedio de X <sup>2</sup>	F	F Crítico
Regresión	1	3.79736E+11	3.79736E+11	1984.828237	1.5179E-06
Residuos	4	765276586.5	191319146.6		
Total	5	3.80501E+11			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepto	20416.76667	12876.72035	1.585556423	0.18802	-15334.81458	56168.34792
Pendiente	589225.6571	13225.7462	44.55141117	1.51792E-06	552505.0228	625946.2915

GRÁFICA 1



**Ecuación de la Recta:**

$$Y = 589225.657X + 20416.7667$$



Tabla 6. Robustez

Muestra	Analista 1	Analista 2	Analista 3	Analista 4	Analista 5	Analista 6
1A	657443.50	664659.40	652435.00	656144.43	631298.25	646802.90
1B	637958.20	655660.15	673053.50	653673.51	647294.18	663154.20
1C	646788.83	657539.88	672780.50	655250.99	650311.20	666136.20
2A	659511.80	650072.45	661759.00	653717.14	643581.98	657980.08
2B	673212.01	648996.80	643690.25	647037.28	635577.98	658897.75
2C	638739.20	651281.23	643350.75	646485.86	635081.18	659382.33
3A	660139.00	662719.33	655693.50	647344.40	650026.58	670980.18
3B	659592.53	661306.43	656272.75	661007.75	652617.53	671184.30
3C	617562.40	660314.20	653954.00	660438.88	631363.80	647363.80
4A	640286.80	649172.53	641642.75	660365.59	642148.50	661065.03
4B	602238.20	649926.90	641697.00	654573.93	642647.03	660667.43
4C	612297.60	653026.05	648415.20	652977.26	643285.28	673131.48
5A	633330.90	638968.05	626676.75	645398.72	623737.58	647282.15
5B	614976.15	640400.48	625563.75	645232.95	626331.98	648627.60
5C	659331.70	655754.23	642397.00	645309.73	639749.03	662918.13
6A	624407.10	659336.18	641788.00	627360.66	640288.95	664842.23
6B	593515.40	611982.73	652242.50	628220.94	639440.25	648182.08
6C	597308.40	646840.18	653866.50	631405.57	639961.20	648199.83
7A	624667.80	689276.40	660529.63	644137.09	649026.08	667648.50
7B	593484.80	697205.80	659569.75	644374.41	647618.48	659007.80
7C	611486.00	690927.63	651337.75	643543.79	641601.68	660108.30
8A	593829.80	686909.03	642729.50	652944.97	637503.08	656435.83
8B	594056.12	700777.10	654357.38	653357.67	649477.16	666208.98
8C	599766.50	700512.63	654539.38	662402.00	651447.98	669924.05
9A	596473.70	643655.83	652484.00	663054.63	639217.73	648514.00
9B	654163.40	644190.10	649981.50	661277.35	638923.61	649894.06
9C	633351.20	691005.73	640836.00	653452.77	640075.05	660913.26
10A	616225.40	693274.18	642731.25	644168.50	640599.45	667531.35
10B	637277.42	673131.48	625237.38	644428.50	622115.21	644712.84
10C	616560.82	672806.65	628322.63	657563.99	622379.14	644549.54
Media	<b>626666.55</b>	<b>663387.66</b>	<b>648331.16</b>	<b>649888.37</b>	<b>639824.24</b>	<b>658408.21</b>
Desv. Std.	<b>24633.71</b>	<b>21771.84</b>	<b>12081.46</b>	<b>9467.87</b>	<b>8511.77</b>	<b>8917.20</b>
Coef. Var.	<b>3.93</b>	<b>3.28</b>	<b>1.86</b>	<b>1.46</b>	<b>1.33</b>	<b>1.35</b>

Grupos	Inyecciones	Suma	Promedio	Varianza
Analista 1	30	18799982.67	626666.09	606819900.41
Analista 2	30	19901629.68	663387.66	474012996.75
Analista 3	30	19449934.83	648331.16	145961619.61
Analista 4	30	19496651.17	649888.37	89640559.32
Analista 5	30	19194727.05	639824.24	72450195.23
Analista 6	30	19752246.15	658408.21	79516531.47

## Análisis de Varianza

Origen variación	Suma de X <sup>2</sup>	gl	Prom. X <sup>2</sup>	F	F crítico
Entre analistas	2.61E+10	5	5222338278	21.33894797	2.266063
Dentro de analistas	4.26E+10	174	244733653.8		
Total	6.87E+10	179			



### **13.2 Aspectos Generales:**

Durante el desarrollo, la obtención y la comercialización de un producto farmacéutico, se realiza todo un conjunto de procesos, los cuales deben llevarse a cabo de acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura.

Con el propósito de asegurar la calidad del producto obtenido, cada uno de los procesos involucrados debe ser validado mediante la aplicación de Buenas Prácticas de Validación. La validación de varios de los procesos seguidos para lograr el producto de óptima calidad se lleva a cabo con un método de análisis, el cual debe ser validado de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio. (5,6)

El proceso de validación del método de análisis, consiste en demostrar experimentalmente, la funcionalidad del método para las aplicaciones analíticas propuestas, como también obtener la evidencia documentada del procedimiento seguido, lo cual debe corresponder a un diseño experimental, a un tratamiento estadístico apropiado y a criterios de aceptación establecidos. (6)

Los atributos del método que configuran el proceso de validación y que le confieren las características que lo califican generalmente son: especificidad o selectividad, cantidad mínima detectable o límite de detección, cantidad mínima cuantificable o

límite de cuantificación, sensibilidad, precisión, exactitud, linealidad y robustez o solidez del método. (5,6,8,9)

Se pueden aplicar varios criterios y formas para evaluar cada uno de los atributos que permiten validar el método, cualquiera que sea la modalidad debe ser "exigente y rigurosa" y debe definir de manera clara y precisa el procedimiento a seguir, el tratamiento estadístico y los criterios de aceptación. (6)

#### **Atributos del Método:**

**ESPECIFICIDAD:** Es un atributo o propiedad del método por el cual la respuesta obtenida corresponde exclusivamente al compuesto que se desea detectar y cuantificar, sin ninguna interferencia por parte de los demás componentes de la muestra.

**LÍMITE DE DETECCIÓN:** Hace referencia a la mínima concentración del compuesto en estudio que es posible detectar con certeza, es decir que se puede diferenciar de la respuesta dada por un blanco, el cual contiene todos los componentes de la muestra menos el compuesto en estudio.

**LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:** Es la concentración más baja de un compuesto presente en una muestra, que puede ser cuantificada con un grado de confianza previamente establecido. Este valor de concentración debe cumplir con los criterios de exactitud y de precisión.

**SENSIBILIDAD:** Es una propiedad del método para presentar un gran cambio en la respuesta cuando se produce un pequeño cambio en la concentración. No debe considerarse como sinónimo de cantidad mínima detectable.

**PRECISIÓN:** Es el grado de concordancia entre resultados individuales, cuando el método de análisis se aplica repetidamente a diferentes muestras a partir de una muestra homogénea. El concepto de precisión diferencia entre el desarrollo del método en condiciones repetitivas como: el mismo experimentador, en el mismo día, en el mismo laboratorio, es decir la repetitividad del método y en condiciones reproducibles como: diferentes experimentadores, diferentes días, diferentes laboratorios. El estimador estadístico de la precisión es la desviación estándar la cual normalmente se expresa como desviación estándar relativa o coeficiente de variación.

**EXACTITUD:** Es la diferencia entre el valor de la concentración considerado como verdadero y el valor experimental, cuando se aplica el método varias veces a diferentes muestras. Es debida a la ocurrencia de errores aleatorios y sistemáticos. Generalmente se expresa la exactitud en función del porcentaje de recuperación.



**LINEALIDAD:** La regresión lineal del método, es la propiedad para dar respuestas que son directamente, o a través de transformaciones matemáticas, proporcionales a la concentración del compuesto dentro de un intervalo apropiado de concentración. Este atributo se evalúa por la regresión, por el desvío de la linealidad y por la convergencia al origen.

**ROBUSTEZ O SOLIDEZ:** Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos para las mismas muestras, cuando se introducen algunas variaciones al método y es desarrollado por diferentes experimentadores. Normalmente se lleva a cabo a través de estudios colaborativos y se evalúa estadísticamente con un análisis de varianza para un diseño con varios factores de clasificación.

### 13.3 Monografía de Ibuprofeno:

Contiene no menos de 97.0 % y no más de 103.0 % de  $C_{13}H_{18}O_2$ , calculado en la base anhidra.

#### 1. EMPAQUE Y ALMACENAMIENTO:

Preservar en recipientes herméticos.

#### 2. DESCRIPCIÓN:

Polvo cristalino blanco o blanquecino, con olor característico suave.

#### 3. SOLUBILIDAD:

Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en alcohol, en metanol, en acetona, y en cloroformo; levemente soluble en acetato de etilo.

#### 4. IDENTIFICACIÓN:

A) IR (Absorción infrarroja) <197 M>: No secar las muestras.

B) UV (Absorción ultravioleta) <197 U>:

Solución: 1 en 4000.

Medio: Hidróxido de sodio 0.1 N. Las absortividades respectivas a 264 nm y 273 %, calculadas en la base anhidra, no difiere por más de 3.0 %.

C) El cromatograma de la *Preparación de Ensayo* obtenido como se indica en el Ensayo muestra un pico mayor para ibuprofeno, cuyo tiempo de retención, relativo al del estándar interno, corresponde al mostrado en el cromatograma de la *Preparación Estándar* obtenido como se indica en el Ensayo.

5. AGUA:

Método I <921>: no más de 1.0 %.

6. RESÍDUO DE IGNICIÓN <281>:

No más de 0.5 %.

7. METALES PESADOS:

Método II <231>: 0.002 %.

8. PUREZA CROMATOGRÁFICA:

*Fase Móvil:* preparar una mezcla filtrada adecuada de agua, previamente ajustada con ácido fosfórico a un pH de 2.5 y acetonitrilo (1340:680). Hacer los ajustes necesarios (ver Adecuación del Sistema bajo Cromatografía <621>).

*Preparación de Prueba:* preparar una solución de ibuprofeno en acetonitrilo que contenga aproximadamente 5 mg por mL.

*Solución de Resolución:* preparar una solución en acetonitrilo que contenga en cada mL aproximadamente 5 mg de ibuprofeno y 5 mg de valerofenona.

*Sistema Cromatográfico* (ver Cromatografía <621>): el cromatógrafo líquido es equipado con un detector de 214 nm y una columna de 4 mm x 15 cm que contiene 5 µm de empaque L1 y se mantiene a  $30 \pm 0.2^\circ$ . El flujo es aproximadamente 2 mL por minuto. Correr en el cromatógrafo una serie de inyecciones de 5 µL de la *Preparación de Prueba* para acondicionar la columna. Correr en el cromatógrafo la *Solución de Resolución*, y registrar los picos respuesta como de indica en el Procedimiento: los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0.8 para valerofenona y 1.0 para ibuprofeno, y la resolución, R, entre el pico de valerofenona y el pico de ibuprofeno no es menor de 2.0.

*Procedimiento:* [Nota: Utilizar áreas de los picos donde se indica los picos respuesta.] Inyectar aproximadamente 5 µL de la *Preparación de Prueba* en el cromatógrafo, registrar el cromatograma, y medir los picos respuesta. Calcular el porcentaje de cada impureza tomada por la fórmula:  $100 r_i / r_t$ , en donde  $r_i$  es la respuesta de un pico individual, aparte del pico del solvente y del pico principal de ibuprofeno, y  $r_t$  es la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico del solvente: se encuentra no más de 0.3 % de cualquier impureza individual, y la suma de todas las impurezas individuales encontradas no excede 1.0 %.



## 9. IMPUREZAS VOLÁTILES ORGÁNICAS:

Método V <647>: Cumple.

Solvente: Dimetilsulfóxido.

## 10. ENSAYO:

*Fase Móvil:* disolver 4.0 g de ácido cloroacético en 400 mL de agua, y ajustar con hidróxido de amonio a un pH de 3.0. Agregar 600 mL de acetonitrilo, filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver Adecuación del Sistema bajo Cromatografía <621>).

*Solución Estándar Interna:* preparar una solución de valerofenona en fase móvil que tenga una concentración de aproximadamente 0.35 mg por mL.

*Preparación de Ensayo:* transferir aproximadamente 1200 mg de ibuprofeno, exactamente pesados, a un recipiente, agregar 100.0 mL de *Solución Estándar Interna*, y mezclar.

*Sistema Cromatográfico* (ver Cromatografía <621>): el cromatógrafo líquido es equipado con un detector de 254 nm y una columna de 4.6 mm x 25 cm que contiene empaque L1. El flujo es aproximadamente 2 mL por minuto. Correr en el cromatógrafo la *Preparación Estándar*, y registrar los picos respuesta como se indica en el Procedimiento: la resolución, R, entre los picos del analito y el estándar interno no es menor de 2.5, y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es mayor de 2.0 %.

*Procedimiento:* separadamente inyectar volúmenes iguales (aproximadamente 5  $\mu\text{L}$ ) de la *Preparación Estándar* y la *Preparación de Ensayo* en el cromatógrafo, registrar los cromatogramas, y medir las respuestas para los picos mayores. Los tiempos de retención relativos son aproximadamente 1.4 para el estándar interno y 1.0 para ibuprofeno. Calcular la cantidad, en mg, de  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$  en la porción de ibuprofeno tomada por la fórmula:  $100 C (R_u/R_s)$ , en donde C es la concentración, en mg por mL, de Ibuprofeno USP ER en la preparación estándar, y  $R_u$  y  $R_s$  son las proporciones de los picos respuesta obtenidos de la *Preparación de Ensayo* y la *Preparación Estándar*, respectivamente.

*Referencia:* USP XXIII Página: 785.

### 13.4 Especificaciones de Análisis de una Suspensión de

#### Ibuprofeno:

1. DESCRIPCIÓN: suspensión homogénea, libre de grumos.
2. COLOR: depende del fabricante.
3. OLOR: depende del fabricante.
4. SABOR: depende del fabricante.
5. pH: 5.5 – 6.0
6. VISCOSIDAD:  
Copa Ford #6. 25°C: 15 – 25 seg.
7. VALORACIÓN:  
Ibuprofeno: 0.9 – 1.1 mg/mL
8. FECHA DE EXPIRACIÓN: depende del fabricante.
9. REGISTRO SANITARIO: depende del fabricante.

Software Version: 4.0&lt;1C29&gt;

Date: 8/23/99 09:45 AM

Sample Name : Suspensión de ibuprofeno

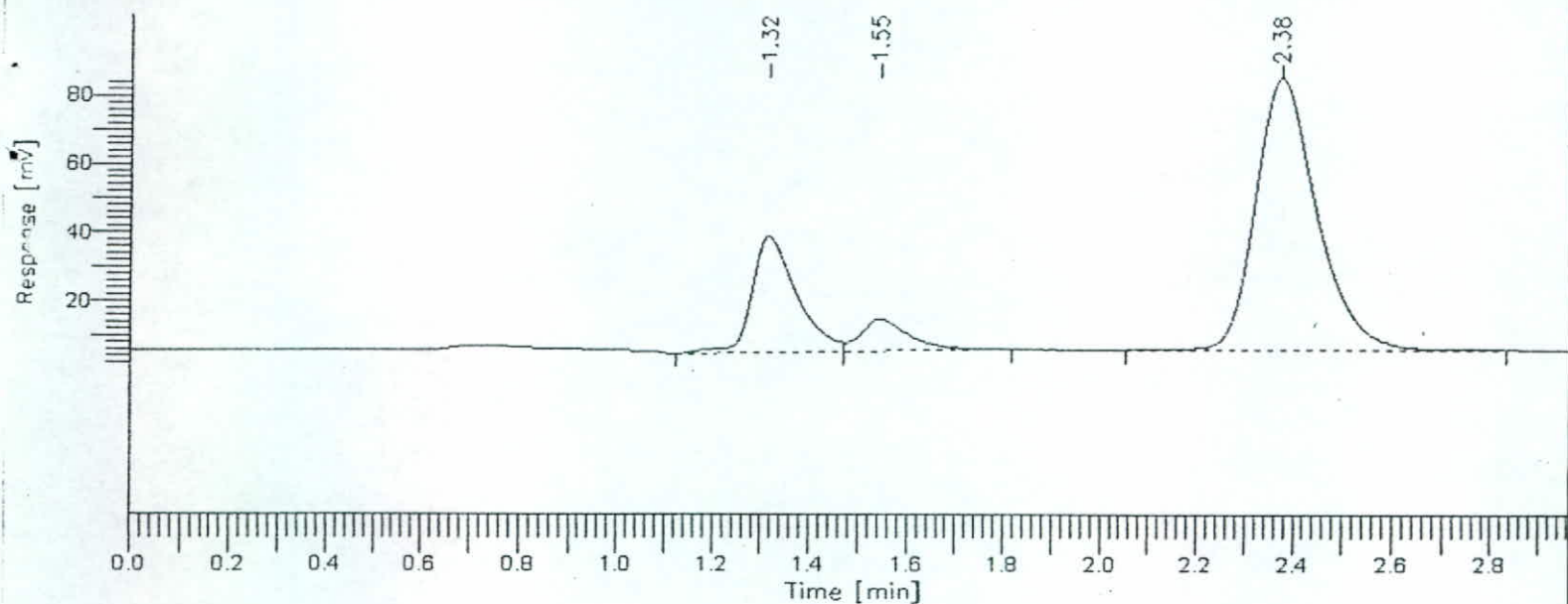
Data File : C:\TC4\DATA\AMPI007W.RAW Date: 8/23/99 09:41 AM

Sequence File: C:\TC4\DATA\AMPI.SEQ Cycle: 1 Channel : A

Instrument : LC250B - 0:A Rack/Vial: -14592/0 Operator: RAL

Sample Amount : 1.0000

Dilution Factor : 1.00



## IBUPROFENO SUSPENSION. VALIDACION

Peak #	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]	Norm. Area [%]	Area BL	Area/Height [s]
1	1.320	217574.80	34228.92	22.44	0.00	BV	6.36
2	1.547	62778.40	9210.78	6.47	0.00	VB	6.82
3	2.376	689276.40	79451.25	71.09	0.00	BB	8.68
		969629.60	122890.95	100.00	0.00		

## Missing Component Report

Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found



Software Version: 4.0&lt;1C29&gt;

Date: 8/23/99 09:48 AM

Sample Name : Suspensión de ibuprofeno

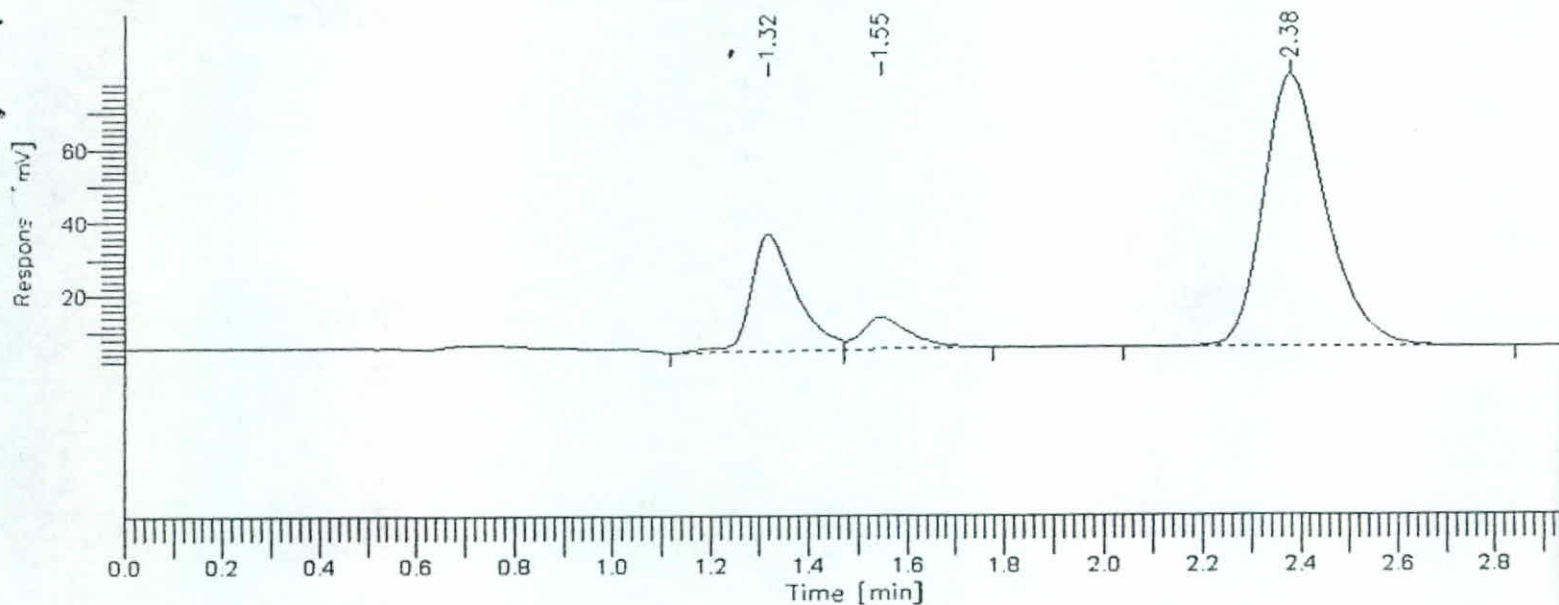
Data File : C:\TC4\DATA\AMPI007X.RAW Date: 8/23/99 09:45 AM

Sequence File: C:\TC4\DATA\AMPI.SEQ Cycle: 1 Channel : A

Instrument : LC250B\_0:A Rack/Vial: -14592/0 Operator: RAL

Sample Amount : 1.0000

Dilution Factor : 1.00



## IBUPROFENO SUSPENSION. VALIDACION

Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]	Norm. Area [%]	Area BL	Area/Height [s]
1	204012.25	32052.55	22.42	0.00	BV	6.36
2	57694.15	8589.79	6.34	0.00	VB	6.72
3	640415.20	74197.06	71.24	0.00	BB	8.74
			910121.60	114839.40	100.00	0.00

## Missing Component Report

Component	Expected Retention (Calibration File)
-----------	---------------------------------------

All components were found

Software Version: 4.0&lt;1C29&gt;

Date: 8/23/99 10:24 AM

Sample Name : **Estándar de ibuprofeno**

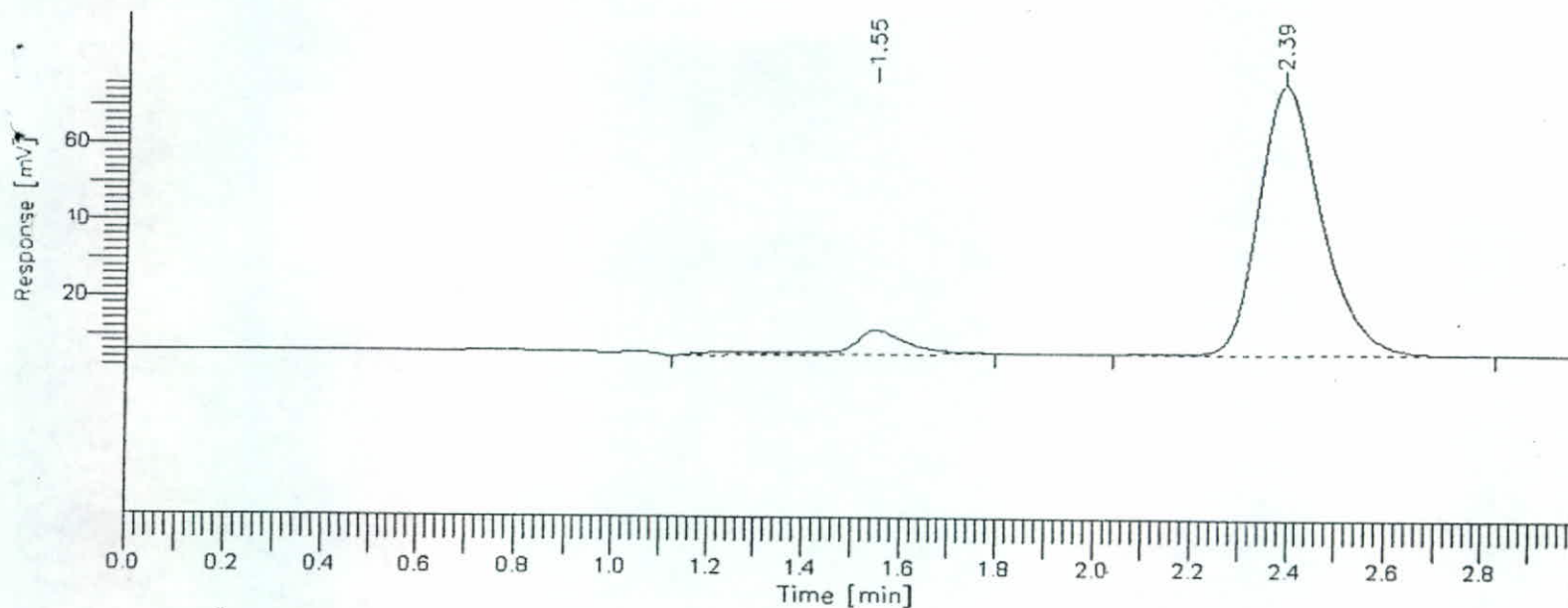
Data File : C:\TC4\DATA\AMPI008H.RAW Date: 8/23/99 10:21 AM

Sequence File: C:\TC4\DATA\AMPI.SEQ Cycle: 1 Channel : A

Instrument : LC250B - 0:A Rack/Vial: -14592/0 Operator: RAL

Sample Amount : 1.0000

Dilution Factor : 1.00



## IBUPROFENO SUSPENSION. VALIDACION

Peak #	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]	Norm. Area [%]	Area BL	Area/Height [s]
1	1.551	57977.40	6305.56	8.35	0.00	BB	9.19
2	2.394	636691.20	71256.31	91.65	0.00	BB	8.94
		694668.60	77561.86	100.00	0.00		

## Missing Component Report

Component

Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version: 4.0&lt;1C29&gt;

Date: 8/7/99 12:52 PM

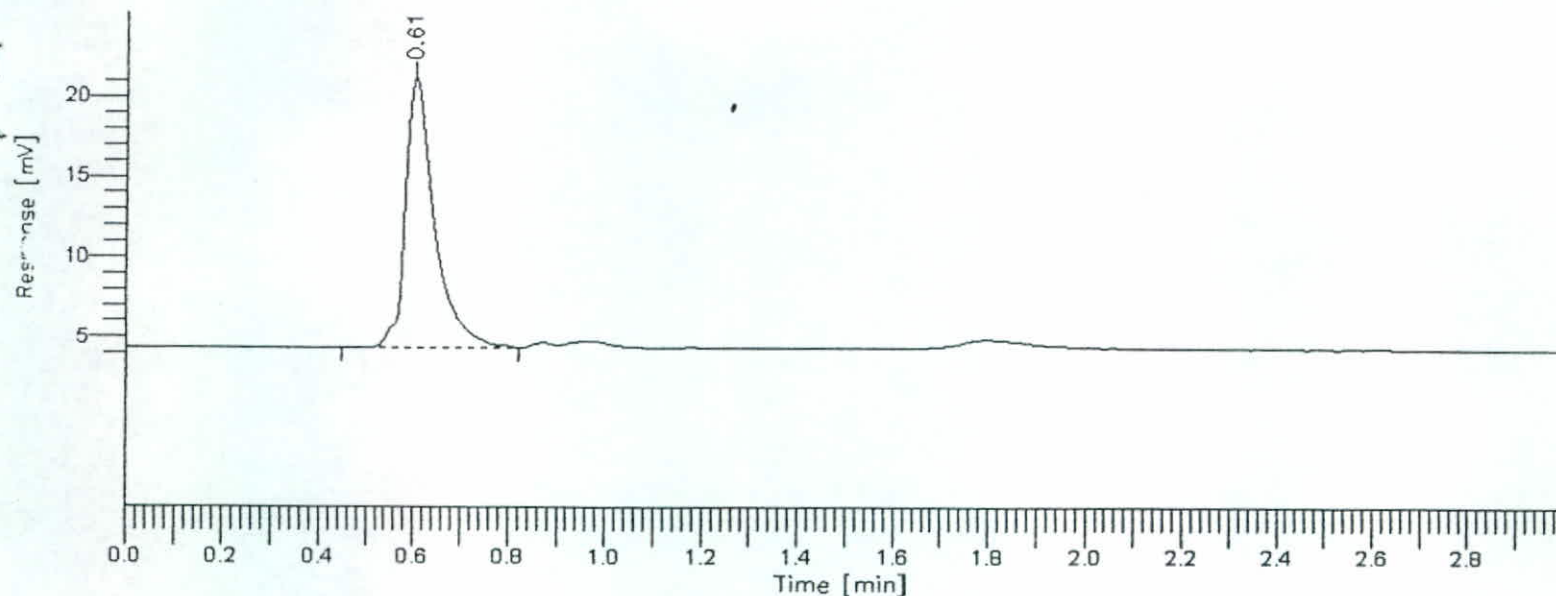
Sample Name : **Placebo**

Data File : C:\TC4\DATA\AMPI003M.RAW Date: 8/7/99 12:49 PM

Sequence File: C:\TC4\DATA\AMPI.SEQ Cycle: 1 Channel : A

Instrument : LC250B\_0:A Rack/Vial: -14592/0 Operator: RAL

Sample Amount : 1.0000 Dilution Factor : 1.00



## IBUPROFENO SUSPENSION (VALIDACION)

Peak #	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]	Norm. Area [%]	Area BL	Area/Height [s]
1	0.608	71383.20	17002.54	100.00	0.00	BB	4.20
		71383.20	17002.54	100.00	0.00		

## Missing Component Report

Component	Expected Retention (Calibration File)
All components were found	



Software Version: 4.0&lt;1C29&gt;

Date: 8/7/99 12:01 PM

Sample Name : Acetaminofén

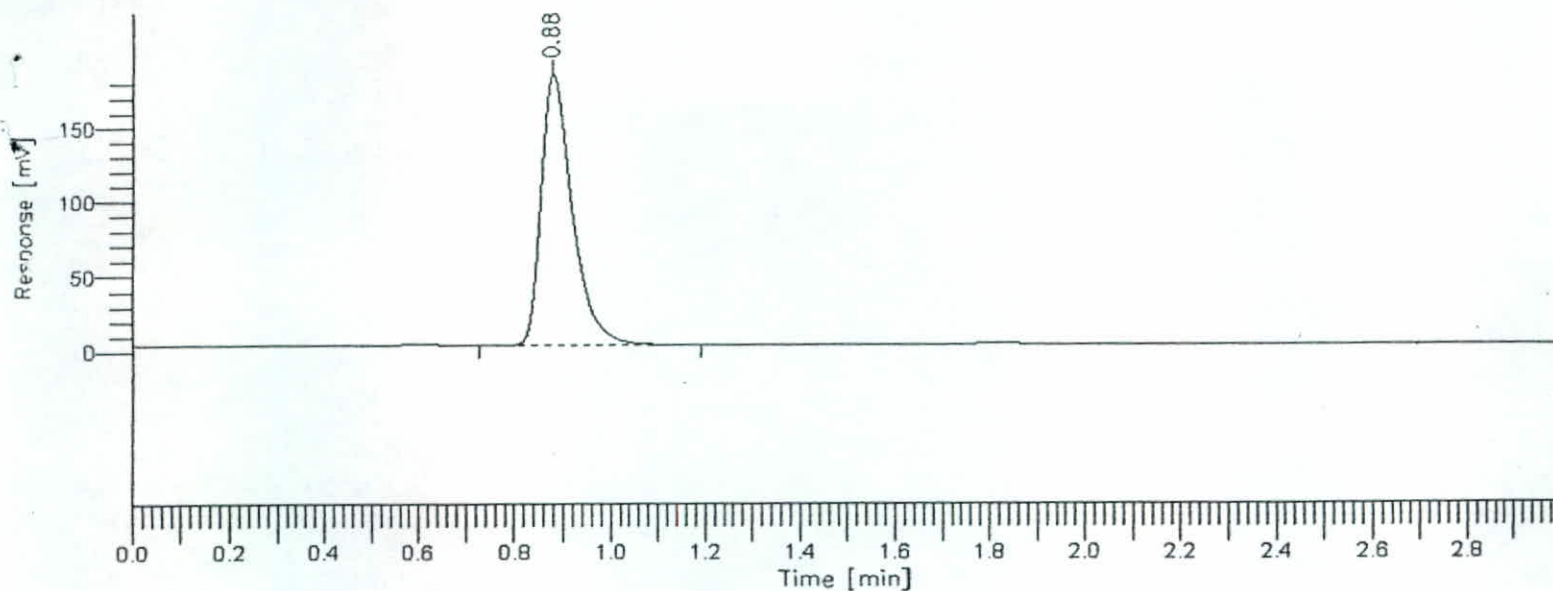
Data File : C:\TC4\DATA\AMPI002Y.RAW Date: 8/7/99 11:58 AM

Sequence File: C:\TC4\DATA\AMPI.SEQ Cycle: 1 Channel : A

Instrument : LC250B - 0:A Rack/Vial: -14337/255 Operator: RAL

Sample Amount : 1.0000

Dilution Factor : 1.00



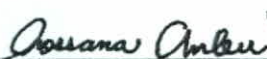
## IBUPROFENO SUSPENSION (VALIDACION)

Peak #	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]	Norm. Area [%]	Area BL	Area/Height [s]
1	0.882	806862.20	182620.29	100.00	0.00	BB	4.42
		806862.20	182620.29	100.00	0.00		

## Missing Component Report

Component Expected Retention (Calibration File)

-----  
All components were found



---

Br. Rossana Anleu Lainfiesta

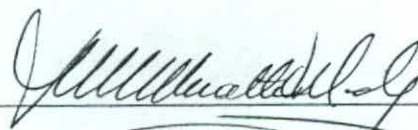
Autora



---

Lic. Elfego Rolando López

Asesor



---

Licda. Lucrecia Peralta de Madriz

Directora



---

Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

Decana