

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

**Ampliación de la Verificación del Método Analítico de Cuantificación de
Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y
Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS,
según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32)**

Informe de Tesis

Presentado por:

Dora María Navas Jáuregui

Para optar el título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Agosto de 2009



INFORME DE TESIS



JUNTA DIRECTIVA

Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lilian Raquel Irving Antillón	Vocal I
Licda. Liliana Magalí Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. María Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V



DEDICATORIA

- *A Dios*, por ser mi guía y luz en el camino que he recorrido, porque me ha abierto puertas, me ha dado amor, sabiduría y fortaleza para seguir adelante y siempre esta a mi lado levantándose y diciéndome: Yo estoy contigo donde quiera que tu vayas, Yo soy tu Dios que te esfuerzo!
- *A mis padres*, José Vicente Navas Villatoro y Dora Estela Jáuregui Jiménez de Navas, por su apoyo en todo momento, por el esfuerzo maravilloso que hicieron para que yo pudiera alcanzar este sueño, dándome ánimo en los momentos más difíciles de mi vida, y en especial por darme su amor incondicional.
- *A mis hermanos*, Vicente, Carlos, Juan Rafael, Elizabeth y Diana por darme su apoyo, especialmente a Juan Manuel quien ha estado conmigo en todo momento y gracias por el ejemplo de vida que siempre me has dado y por tu apoyo incondicional.
- *A mi novio y mejor amigo*, César Massella Solares, por brindarme un amor maravilloso y desinteresado, por apoyarme en todo momento, dándome consejos e ideas para superarme y progresar en mi vida tanto profesional como personal.
- *A mis abuelitos*, Manuel Jáuregui y Estela Jiménez de Jáuregui por sus sabios consejos y el ejemplo que siempre me han brindado.
- *A mis tíos*, Elsa Jáuregui y Raúl Jáuregui, por su ayuda, consejos y apoyo en todo momento.
- *A mis primos y sobrinos*, con amor fraternal.
- *A mis amigos*, por los lazos de amistad que siempre nos han unido y que el tiempo no ha podido romper.



INFORME DE TESIS



AGRADECIMIENTOS

- A Dios por darme este triunfo, y alcanzar gracias a Él uno de mis sueños.
- A mis padres *José Vicente Navas Villatoro* y *Dora Estela Jáuregui Jiménez de Navas*, por haberme facilitado la oportunidad de estudiar, motivarme con amor y comprensión en todos los momentos de mi formación como ser humano y como profesional y por haber depositado su confianza indiscutible e incondicional en mi.
- A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por abrir sus puertas para mi formación y a través de *La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia* convertirme en profesional.
- Al Laboratorio Nacional de Salud, por la oportunidad que me dieron de realizar este trabajo de investigación.
- Al área de Físicoquímico de Medicamentos, por darme lo necesario para realizar esta investigación, por la experiencia y los conocimientos adquiridos, y a todo el personal del área por su ayuda, apoyo y amistad.
- A la Licda. Millie Cruz, por sus consejos y su ayuda para la realización de este trabajo.
- A la Licda. Aylin Santizo, por su dedicación y orientación para el desarrollo de esta investigación.
- A la Licda. Julia Amparo García, por su apoyo, su dedicación, consejos y amistad.
- A la Licda. Doris Solís de Díaz, por su valiosa colaboración en la elaboración de la parte experimental del estudio, por sus consejos y su amistad.
- A la Licda. Sandra Ordoñez, gracias por el apoyo y colaboración en la realización de este trabajo y su amistad.



ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1 Acetaminofén	4
3.1.1 Mecanismo de Acción	4
3.1.2 Farmacocinética	4
3.1.3 Indicaciones	4
3.1.4 Efectos Adversos	5
3.1.5 Dosis	5
3.2 Metodología Analítica	6
3.3 Estandarización de Métodos	7
3.4 Características de Desempeño Analítico	9
3.4.1 Exactitud	9
3.4.2 Precisión	10
3.4.3 Linealidad o Intervalo	12
3.4.4 Aptitud del Sistema	14
4. JUSTIFICACIÓN	17
5. OBJETIVOS	18
4.1 Objetivo General	18
4.2 Objetivos Específicos	18
6. HIPÓTESIS	19



7. MATERIALES Y MÉTODOS	20
7.1 Universo y Muestra	20
7.2 Medios	20
7.3 Procedimiento de Análisis	23
7.3.1 Valoración de Principio Activo en Solución Oral de Acetaminofén	23
7.3.2 Valoración de Principio Activo en Tabletas Masticables de Acetaminofén	30
8. RESULTADOS	32
8.1 Resultados de la Verificación del Método Analítico de Cuantificación De Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Liquida de Alta Presión	32
8.2 Resultados de la Verificación del Método Analítico de Disolución De Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS	44
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
10. CONCLUSIONES	51
11. RECOMENDACIONES	52
12. REFERENCIAS	53
13. ANEXOS	56



1. RESUMEN

En el presente estudio se realizó la *Verificación del Método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32)*, evaluándose las características de desempeño del mismo, incluyendo la Linealidad del Sistema, Linealidad y Exactitud del método, Precisión del Sistema y Precisión del Método (Repetibilidad y Precisión Intermedia).

Este estudio fue realizado en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud en el Área de Físicoquímico de Medicamentos.

Para el análisis de resultados se utilizaron distintos parámetros estadísticos como la desviación estándar, coeficiente de variación, promedios y porcentajes los cuales son evaluados, a través de los Test t de student, Análisis de varianza y análisis de regresión, para determinar que los valores experimentales tengan significación estadística.

Los resultados obtenidos en la verificación del método son satisfactorios, indican que el método se desempeña de manera efectiva y reproducible, cumple con los requerimientos y criterios establecidos en la monografía descrita en la USP 32, por lo que es seguro y confiable para instituirlo como un método de análisis estandarizado para su utilización en el Laboratorio Nacional de Salud, siempre y cuando se trabaje bajo las condiciones especificadas en el estudio.



2. INTRODUCCIÓN

En el Área de Físicoquímico de Medicamentos del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) se realizan los análisis de valoración de principio activo que contienen las muestras recibidas, según lo declarado por la boleta cuali-cuantitativa presentada en el expediente de Solicitud de Registro Sanitario de Referencia. Con estos datos, se determina, conforme a normas y reglamentos que aseguran la calidad, eficacia e inocuidad de los medicamentos, si estos productos pueden ser utilizados por la población. Esta Área brinda soporte analítico a los programas de Registro Sanitario de Referencia, Contrato Abierto, Muestreo de Establecimientos Farmacéuticos, Particulares y Medicamentos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA).

Por esta razón, el Laboratorio Nacional de Salud recibe una gran cantidad y variedad de muestras, y se deben utilizar metodologías que sean confiables, seguras y estandarizadas que permitan generar resultados verídicos para asegurar la calidad y competitividad Nacional e Internacional de los servicios prestados y al mismo tiempo brindar un mejor servicio a la comunidad. Para ello, se pretende realizar la *“Ampliación de la Verificación del Método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32)”* con el objetivo de asegurar que los resultados obtenidos en estos ensayos cumplen con las características necesarias para su utilización, así como también acreditar estas pruebas para futuros análisis de Acetaminofén en Solución Oral y Tabletas Masticables.

Las características del desempeño del método que se verificaron son: Linealidad del Sistema, Linealidad y Exactitud del método, Precisión del Sistema y Precisión del Método (Repetibilidad y Precisión Intermedia); utilizando metodología estadística adecuada y con base en los criterios de aceptación que se especifican en el estudio.



3. ANTECEDENTES

La información disponible en cuanto a la verificación de métodos analíticos, pueden citarse los siguientes trabajos:

Estudios Realizados

- En el año 2006 se realizó en el Laboratorio Nacional de Salud en el Área de Fisicoquímico de Medicamentos la verificación del Método Analítico de Cuantificación y Disolución de Acetaminofén Tabletas por Cromatografía Líquida de Alta Presión y por Espectrofotometría UV/VIS respectivamente, concluyendo que el método para la cuantificación y disolución de acetaminofén tabletas cumple con los requerimientos y criterios establecidos en la monografía descrita en la USP 29; por lo que los resultados obtenidos son seguros y confiables.

También se realizó una revisión bibliográfica en tesis llevadas a cabo tanto en la Universidad de San Carlos de Guatemala como en la Universidad del Valle de Guatemala, y se encontró tesis relacionadas con Guías sobre validación de metodologías analíticas y validación de metodologías analíticas para diversos principios activos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, pero ninguna es específica para la verificación del Método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS.

En cuanto al principio activo (Acetaminofén) se citan los siguientes estudios:

- En el año 2003 José García en su tesis ad gradum titulada: Evaluación de la Calidad Fisicoquímica de los Jarabes de Acetaminofén manufacturados por Laboratorios Nacionales.
- En el año 1992 Ana Sapón en su tesis ad gradum titulada: Estudio de Estabilidad acelerada en 4 formulaciones de Elixir de Acetaminofén.



3.1 ACETAMINOFÉN

El Acetaminofén es uno de los medicamentos más importantes que se usan en el tratamiento del dolor leve a moderado cuando no se requiere un efecto antiinflamatorio.

3.1.1 MECANISMO DE ACCIÓN

El Acetaminofén inhibe la síntesis de prostaglandina en el Sistema Nervioso Central (SNC). Esto explica sus propiedades antipiréticas y analgésicas. Tiene menos efecto sobre la ciclooxigenasa en los tejidos periféricos, lo que da cuenta de su actividad antiinflamatoria débil. El acetaminofén no afecta la función plaquetaria ni aumenta el tiempo de coagulación de la sangre, y además carece de muchos de los efectos adversos de la aspirina (10).

3.1.2 FARMACOCINÉTICA

El acetaminofén se absorbe con rapidez por el conducto gastrointestinal. Experimenta un metabolismo de primer paso importante en las células luminales del intestino y los hepatocitos. Las concentraciones máximas en el plasma comúnmente se alcanzan a los 30 a 60 min. El acetaminofén se une ligeramente a las proteínas plasmáticas y se metaboliza a través de las enzimas microsomales hepáticas para convertirse en sulfato de acetaminofén y glucurónido, que son farmacológicamente inactivos. Menos de 5% del medicamento se excreta sin cambios. La vida media del acetaminofén es de 2 a 3 horas y se afecta poco por la insuficiencia renal (12).

3.1.3 INDICACIONES

Aunque es equivalente con el AAS (Ácido Acetil Salicílico) como analgésico y antipirético efectivo, el acetaminofén difiere en que carece de



actividad antiinflamatoria. No altera las concentraciones de ácido úrico y carece de actividad antiagregante plaquetaria. El medicamento es de utilidad en el tratamiento del dolor leve a moderado, como en la cefalea, mialgias, dolor posparto y otras circunstancias en las que el AAS es un analgésico eficaz. El acetaminofén solo es un tratamiento inadecuado para enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide. Para la analgesia leve, el acetaminofén es el medicamento preferido en pacientes alérgicos a la penicilina o en casos de poca tolerancia a los salicilatos. Este fármaco es preferible al AAS en pacientes con hemofilia, historia de úlcera péptica o en aquellos en quienes el broncoespasmo se precipita por el uso de AAS. A diferencia de éste, el acetaminofén no antagoniza los efectos de los fármacos uricosúricos; se puede usar junto con el probenecid en el tratamiento de la gota. Se prefiere el AAS en los niños con infecciones virales (12).

3.1.4 EFECTOS ADVERSOS

El acetaminofén está casi libre de efectos adversos importantes a las dosis terapéuticas normales. Las erupciones cutáneas y las reacciones alérgicas menores son poco frecuentes. Puede ocasionar trastornos menores de la cuenta de leucocitos, pero en general éstos son transitorios. La necrosis tubular renal y el coma hipoglucémico son complicaciones raras del tratamiento prolongado con grandes dosis (6,13).

3.1.5 DOSIS

El dolor agudo y la fiebre se pueden tratar eficazmente con dosis de 325 a 500 mg cuatro veces al día y proporcionalmente menores en niños. Las concentraciones en estado estable se alcanzan de forma cotidiana (6,12).



3.2 METODOLOGÍA ANALÍTICA

La Metodología a utilizar es la que se encuentra descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32), en donde se indica que para la Verificación del Método analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral se utiliza un Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución con detector ultravioleta visible a una longitud de onda de 243 nm, utilizando como Fase móvil una mezcla desgasificada adecuada de agua y metanol (3:1).

Para la verificación del método analítico de la Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables se utiliza el Disolutor como aparato No. 2 (paletas) en un medio de solución amortiguadora de fosfato pH 5.8, 900 mL, a 75 rpm, en 45 minutos; y la lectura se hace en un Espectrofotómetro UV/VIS, a una longitud de onda de 243 nm (8).

3.3 ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS

Para el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, la estandarización es un requisito establecido por entidades regulatorias y por comisiones de Farmacopeas para el registro de nuevos medicamentos y para el análisis de medicamentos (7, 5, 17, 18).

Para la evaluación de un medicamento es necesaria la utilización de un método analítico que permita cuantificar el producto mayoritario como ingrediente activo de una formulación. Para asegurar la confiabilidad, los métodos analíticos se someten a un proceso de estandarización, el cual comprueba si el método es lo suficientemente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones prefijadas (6).



La estandarización de los métodos es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencia objetiva, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Es una verificación documentada que proporciona un alto grado de confianza de que el sistema integral o proceso funciona de la manera prevista en el ambiente de operación normal o producirá en forma consistente un resultado que cumpla con sus especificaciones predefinidas (17, 18).

Es el proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

Las características de desempeño analítico habituales que deben ser evaluadas en la estandarización de métodos son los siguientes:

- ✚ Exactitud
- ✚ Precisión
- ✚ Especificidad
- ✚ Límite de Detección
- ✚ Límite de Cuantificación
- ✚ Linealidad
- ✚ Intervalo o Rango (7)

Los procedimientos para la determinación de productos farmacéuticos varían en gran manera, por lo que diferentes métodos de prueba requieren diferentes esquemas de estandarización, los cuales se pueden agrupar en cuatro categorías:

- ✚ Categoría I: Métodos analíticos para la cuantificación de los componentes principales de fármacos a granel o ingredientes activos (incluyendo conservantes) en productos farmacéuticos terminados.



INFORME DE TESIS



- ✚ Categoría II: Métodos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos métodos incluyen análisis cuantitativos y pruebas de límite.
- ✚ Categoría III: Métodos analíticos para la determinación de las características de desempeño (por ejemplo, disolución, liberación del fármaco).
- ✚ Categoría IV: Pruebas de identificación (7).

Para cada categoría de análisis se requiere diferente información analítica y los datos que se requieren para cada una de las categorías de análisis se indican en la siguiente tabla (7, 18):

Tabla No. 1. Datos requeridos para la estandarización de un método analítico.

Característica	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Cuantitativo	Prueba de límite		
Exactitud	+	+	*	*	-
Precisión					
Repetibilidad	+	+	-	+	-
Precisión intermedia	+	+	-	+	-
Especificidad	*	+	+	*	*
Límite de detección	-	-	+	*	-
Límite de cuantificación	-	+	-	*	-
Linealidad	+	+	-	*	-
Rango	+	+	*	*	-

* Puede requerirse según la naturaleza de la prueba.

Fuente (21)



En base a esta clasificación, el tipo de estandarización a realizarse en el presente trabajo se incluye en la categoría I, que requiere el análisis de los siguientes parámetros (6):

- ✚ Exactitud
- ✚ Precisión: Repetibilidad y Precisión intermedia.
- ✚ Linealidad del Sistema
- ✚ Intervalo o Rango

La documentación de los estudios de estandarización constituye un requisito básico para determinar si un método es adecuado para sus aplicaciones previstas (7).

3.4 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO

3.4.1 EXACTITUD

Definición: La exactitud de un método analítico es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese método (valor experimental), y el valor verdadero. La exactitud de un método analítico debe establecerse en todo su intervalo (7, 19).

Determinación: En la valoración de un fármaco, la exactitud puede ser determinada mediante la aplicación del método analítico con respecto a un analito de pureza conocida (por ejemplo, un Estándar de Referencia) o por comparación de los resultados del método con los resultados de un segundo método bien caracterizado cuya exactitud se haya comprobado o definido (7).

La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza (7).



Los documentos ICH (International Conference Harmonization) recomiendan que la exactitud sea evaluada utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración) (7).

Cuando no es posible contar con un placebo, se determina por duplicado el contenido promedio del analito en la muestra con el método a evaluar; una vez conocido el contenido promedio se procede a enriquecer las muestras con estándar para preparar las soluciones, en este caso se mantiene constante la cantidad de muestra tomada y se agregan cantidades variables del estándar.

También se puede trabajar utilizando un mínimo de tres concentraciones de soluciones estándar que cubran el rango de trabajo y se evalúa el porcentaje de recuperación obtenido utilizando el método a evaluar (2).

Se preparan muestras a tres niveles de concentración diferentes, preparando las muestras independientes por triplicado a cada nivel de concentración. Para llevar a cabo el cálculo del porcentaje de recuperación, se requiere contar con los datos de la cantidad de principio activo agregado a cada muestra (2).

3.4.2 **PRECISIÓN:**

Definición: La precisión de un método analítico expresa la cercanía de coincidencia entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos cuando se aplica el método repetidamente a una muestra homogénea. Puede considerarse a 3 niveles: Reproducibilidad, Repetibilidad y precisión intermedia (2).

La precisión de un método analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o repetibilidad del método analítico en condiciones normales de operación.



3.4.2.1 REPRODUCIBILIDAD

Expresa la precisión de los resultados de ensayos realizados sobre la misma muestra homogénea, pero ejecutados bajo diferentes condiciones, analistas, laboratorios, reactivos, días, proveedores, equipo, etc., como por ejemplo en un estudio en colaboración (8, 20).

Se expresa con los mismos parámetros matemáticos que la repetibilidad. El coeficiente de variación en el estudio de la reproducibilidad debe ser igual o mayor que el obtenido en el estudio de repetibilidad para la misma cantidad o concentración debido a la mayor fuente de error que existe en la reproducibilidad. Esta se realiza como resultado de estudios interlaboratorios diseñados para estandarizar la metodología (9).

En el presente estudio no se evaluará la reproducibilidad.

3.4.2.2 PRECISIÓN INTERMEDIA

La precisión intermedia expresa la variación obtenida dentro de un laboratorio, por ejemplo en diferentes días, con diferentes analistas o con equipo diferente de una muestra homogénea dentro del mismo laboratorio (8, 9).

3.4.2.3 REPETIBILIDAD

Precisión obtenida en la utilización de un procedimiento analítico en un laboratorio bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo (8, 9).

Este parámetro permite evaluar la incertidumbre en la estimación de la media, es decir, el error aleatorio que se corresponde con la dispersión de los datos alrededor de la media.



En la mayoría de los casos, la repetibilidad es el criterio de mayor interés en los procedimientos analíticos (8).

Determinación: La precisión de un método analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea que permita calcular estadísticamente estimaciones válidas de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Los análisis en este contexto son análisis independientes de muestras que se han llevado a cabo mediante el procedimiento analítico completo, desde la preparación de la muestra hasta el resultado final de las pruebas (8).

Los documentos ICH recomiendan que se evalúe la repetibilidad utilizando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el procedimiento (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración), o un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de prueba (8).

3.4.3 LINEALIDAD O INTERVALO:

Definición de Linealidad: La linealidad de un método analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado (7).

Definición de Intervalo: El intervalo de un método analítico es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior de analito (incluyendo esos niveles) en la cual se puede determinar al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método según se describe por escrito. El intervalo se expresa normalmente en las mismas unidades que los resultados de la prueba (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) obtenidos mediante el método analítico (7).



INFORME DE TESIS



Determinación de Linealidad e Intervalo La linealidad debe establecerse en el intervalo completo del procedimiento analítico. Debería establecerse inicialmente mediante examen visual de un gráfico de señales como función de concentración de analito del contenido. Sí parece existir una relación lineal, los resultados de la prueba deberían establecerse mediante métodos estadísticos adecuados (por ejemplo, mediante el cálculo de una línea de regresión por el método de los cuadrados mínimos). En algunos casos, para obtener la linealidad entre la respuesta de un analito y su concentración, puede que haya que someter los datos de la prueba a una transformación matemática.

Los datos obtenidos a partir de la línea de regresión pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad.

Se deberán presentar: el coeficiente de correlación (r), la intersección con el eje de ordenadas (b), la pendiente de la línea de regresión (m) y la suma de los cuadrados residuales (Σr^2) (7).

El intervalo del método se evalúa verificando que el método analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo, al igual que dentro del intervalo (7).

La ICH recomienda que, para establecer la linealidad se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones. También recomienda que se consideren los intervalos especificados mínimos que se indican a continuación (7):

Valoración de un Fármaco (o producto terminado): De 80% a 120% de la concentración de prueba.

El intervalo de determinación puede variar, pero debe incluir los porcentajes mencionados anteriormente. Por ejemplo, 50% a 150% de la concentración de prueba.



La evaluación de la linealidad y el cálculo del rango de aplicación son de utilidad para establecer una estrategia de calibración, es decir, para determinar:

- ❖ Con qué frecuencia se necesita preparar una nueva curva de calibración durante la aplicación rutinaria del método analítico.
- ❖ Cuántos niveles de calibración se requiere.
- ❖ El número de repeticiones necesarias en cada nivel de concentración.

Al efectuar un número grande de determinaciones a lo largo del rango de aplicación se consigue una medida de la precisión a estas diferentes concentraciones, así como también información adicional acerca de la linealidad de la curva.

3.4.4 APTITUD DEL SISTEMA:

Si las mediciones son susceptibles a variaciones en condiciones analíticas, éstas deben controlarse adecuadamente o incluirse en el método una declaración preventiva. Una consecuencia de la evaluación de la tolerancia del método sería el establecimiento de una serie de parámetros de aptitud del sistema que garantizan que se mantenga la funcionalidad del método analítico siempre que se utilice (7).

El laboratorio debe estandarizar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el uso previsto. La estandarización debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dado. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos,

el procedimiento utilizado para la estandarización y una declaración acerca de si el método es apto para el uso previsto (16).



INFORME DE TESIS



Las técnicas usadas para la determinación del desempeño de un método deberían ser una, o una combinación, de las siguientes:

- ❖ La calibración utilizando patrones de referencia o materiales de referencia;
- ❖ La comparación con resultados obtenidos por otros métodos;
- ❖ Las comparaciones interlaboratorios;
- ❖ La evaluación sistemática de los factores que influyen en el resultado;
- ❖ La evaluación de la incertidumbre de los resultados basada en el conocimiento científico de los principios teóricos del método y en la experiencia práctica (16).

Cuando se introduzca algún cambio en los métodos no normalizados estandarizados, la influencia de tales cambios debería ser documentada y, cuando sea apropiado, se debe realizar una nueva estandarización (17).

El rango y la exactitud de los valores que se pueden obtener empleando métodos estandarizados (por ejemplo, la incertidumbre de los resultados, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto a ensayar) tal como fueron determinados para el uso previsto, deben ser pertinentes a las necesidades de los clientes (17).

La estandarización incluye la especificación de los requisitos, la determinación de las características (los parámetros de desempeño) de los métodos y una verificación de que los requisitos pueden ser cumplidos al utilizar el método (17).

A medida que se desarrolla el método, se deberían realizar revisiones periódicas para verificar que las necesidades del cliente siguen siendo cumplidas. Cualquier cambio en los requisitos que requiera modificaciones en el plan de desarrollo debería ser aprobado y autorizado (16).



INFORME DE TESIS



Algunas de las ventajas de un estudio de estandarización son las siguientes:

- ❖ Tiene menor costo prevenir que corregir.
- ❖ Se cumplen con los requerimientos legales, ISO 17025
- ❖ Evaluación y optimización de las características de desempeño del método y del sistema.
- ❖ Obtención de datos que sirvan como base para la comparación a largo plazo de la calidad analítica de los resultados
- ❖ Identificación de la experiencia y necesidades de capacitación del personal.
- ❖ Identificación de reactivos químicos e instrumentos requeridos.
- ❖ Eficiente operación del método cuando es adoptado.
- ❖ Evita perjudicar el prestigio, imagen y pérdida de credibilidad del laboratorio por una mala aplicación del método.
- ❖ Diseño de una estrategia de control de calidad.



4. JUSTIFICACIÓN

Para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos, es necesario verificar los procedimientos de análisis, ya que de ellos depende la aprobación o rechazo de un producto. Especialmente en el caso del Laboratorio Nacional de Salud que recibe las muestras de medicamentos para su comercialización en el país y de los resultados que se obtienen en estos análisis depende la autorización del Registro Sanitario respectivo.

Debido a esto, el Laboratorio Nacional de Salud debe contar con métodos de análisis que sean confiables ya que es un laboratorio que se encuentra acreditado bajo las normas COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”.

Por lo que se pretende demostrar que el método de análisis de cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y la Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS se desempeña de manera efectiva y reproducible cumpliendo con los requerimientos y criterios establecidos en la monografía descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32).

Este estudio también se realizará con el objetivo de acreditar estas pruebas para posteriores análisis de Acetaminofén Solución oral y Acetaminofén Tabletas Masticables que ingresen al Laboratorio Nacional de Salud.



5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Demostrar que el método analítico de cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y la Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, se desempeña de manera efectiva y reproducible cumpliendo con los requerimientos y criterios de aceptación establecidos en la monografía descrita en la USP 32.

5.2 Objetivos Específicos

- ❖ Determinar la Exactitud, Precisión, y Linealidad del método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32).
- ❖ Determinar si los resultados obtenidos por este método son confiables para su utilización en el Laboratorio Nacional de Salud.
- ❖ Acreditar estas pruebas para posteriores análisis de Acetaminofén Solución oral y Acetaminofén Tabletas Masticables que ingresen al Laboratorio Nacional de Salud.
- ❖ Determinar la variación de la respuesta del método dentro del mismo laboratorio, utilizando 2 diferentes: días, analistas y equipos durante el ensayo.



6. HIPÓTESIS

El método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32), brinda resultados confiables para su uso en el análisis de Muestras de medicamentos que contienen este principio activo.



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO Y MUESTRA

- ❖ Muestras de Acetaminofén Solución oral y Tabletas masticables.

- ❖ 1 marca de Acetaminofén solución oral y tabletas masticables del mismo lote respectivamente, tomada al azar; utilizando la cantidad especificada en la metodología de análisis según la USP 32.

7.2 MEDIOS

7.2.1 RECURSOS HUMANOS

- ✚ Autora: Dora Navas.
- ✚ Asesora: Licda. Julia García Bolaños
- ✚ Coasesora: Licda. Millie Cruz.
- ✚ Revisora: Licda. Aylin Santizo.
- ✚ Personal profesional y técnico del Laboratorio Nacional de Salud.

7.2.2 RECURSOS MATERIALES

7.2.2.1 **Materiales y Equipo**

- ✚ Balanza Analítica Mettler
- ✚ Baño de ultrasonido
- ✚ Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25
- ✚ Aparato de Disolución Hanson Research SR8PLUS con Aparato 2 (Paletas).
- ✚ Cromatógrafo Líquido de Alta Presión con detector UV/VIS Merk Hitachi Lachrom y Agilent 1200 Series.
- ✚ Potenciómetro Beckman



INFORME DE TESIS



- ✚ Columna de 3.9 mm x 30 cm rellena con material L1 (C18 octadecilsilano) o equivalente.
- ✚ Computadora
- ✚ Balones aforados de 25mL, 50mL, 100mL, 200mL, 250mL.
- ✚ Pipetas volumétricas de 1mL, 2mL, 3mL, 4mL, 5mL, 6mL, 20mL, y 25mL.
- ✚ Espátulas
- ✚ Mortero con pistilo
- ✚ Magnetos
- ✚ Probetas de 50mL, 100mL, 1000mL.
- ✚ Beakers de 25mL, 100mL, 250mL y 2500mL.
- ✚ Erlenmeyer con tapón esmerilado de 25 mL.
- ✚ Micropipetas.
- ✚ Jeringas de 25mL.
- ✚ Equipo para filtración de solvente
- ✚ Papel Filtro Whatman No. 2 o 5
- ✚ Filtros con tamaño de poro de 0.5 micrómetros o menor.

Limpieza de Cristalería: debe garantizarse una limpieza extrema de la cristalería a usar. Lavar con jabón y enjuagar al menos 10 veces con agua del grifo y una vez con agua destilada (8).

7.2.2.2 Reactivos

- ✚ Estándar de Acetaminofén USP
- ✚ Agua desmineralizada purificada para uso HPLC
- ✚ Metanol grado HPLC
- ✚ Fosfato Monobásico de Potasio pH 5,8
- ✚ NaOH 0,2M



7.2.2.2.1 Preparación de Reactivos

- **Fosfato de Potasio, Monobásico, 0,2 M:** Pesar aproximadamente 47,635 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) y disolver en 1750 mL de agua desmineralizada medida con probeta.
- **NaOH 0,2M:** Pesa aproximadamente 1,6 g de hidróxido de sodio (NaOH) y disolver en 200 mL de agua desmineralizada.

- **Medio de Disolución: Solución Amortiguadora de Fosfato pH 5.8:** Trasvasar a un recipiente apropiado de 7000 mL, 1750 mL de Fosfato monobásico de potasio 0,2 M y 250 mL de agua desmineralizada medidos con probeta.

Medir 126 mL de NaOH 0,2M con probetas de 100 y 50 mL, agregarlos a una probeta de 1000 mL y llevar a volumen con agua desmineralizada. Agregar esta solución al recipiente que contienen los 2000 mL agregados anteriormente. Luego añadir 3000 mL de agua desmineralizada medida con probeta en el mismo recipiente, teniendo por el momento 6000 mL de solución.

A estos 6000 mL medir pH. Ajustar a 5.8 con Acido Fosfórico o Hidróxido de Sodio. Luego completar el volumen a 7000 mL con agua desmineralizada utilizando probeta.



7.3 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

7.3.1 VALORACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO EN SOLUCIÓN ORAL DE ACETAMINOFÉN (7)

Fase Móvil: Preparar una mezcla desgasificada adecuada de agua y metanol (3:1). Hacer ajustes si fuera necesario.

Preparación del estándar: Disolver una cantidad pesada con exactitud de estándar de Acetaminofén USP en Fase móvil para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 0.01 mg/mL.

Preparación de Valoración: Transferir a un matraz volumétrico de 250 mL un volumen de Solución Oral medido con exactitud, que equivalga aproximadamente a 500 mg de acetaminofén, diluir a volumen con Fase Móvil y mezclar. Transferir 5,0 mL de esta solución a un segundo matraz volumétrico de 250 mL, diluir a volumen con Fase Móvil y mezclar. Transferir 25,0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con Fase Móvil y mezclar. Pasar una porción de esta solución a través de un filtro con un tamaño de poro de 0.5 μ m o menor y descartar los primeros 10 mL del filtrado. Usar el filtrado transparente como *Preparación de valoración*.

Sistema Cromatográfico: Equipar un cromatógrafo de líquidos con un detector a 243 nm y una columna de 3,9 mm x 30 cm rellena con material L1. La velocidad de flujo es de aproximadamente 1,5 mL por minuto. Inyectar en el cromatógrafo la *Preparación estándar* y registrar el cromatograma según se indica en el procedimiento: la eficiencia de la columna no es menor de 1000 platos teóricos; el factor de asimetría no es mayor de 2; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es más de 2.0%.



Procedimiento: Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 microlitros) de la Preparación estándar y de la Preparación de valoración, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes a los picos principales. Calcular la cantidad, en mg, de Acetaminofén en cada mL de Solución oral tomada, por la fórmula: $50\,000 (C/V) (r_u/r_s)$, en donde C es la concentración, en mg por mL, de Estándar de Acetaminofén USP en la Preparación estándar; V es el volumen, en mL, de Solución Oral tomada; y r_u y r_s son las respuestas correspondientes a los picos de Acetaminofén obtenidas a partir de la Preparación de valoración y de la Preparación estándar, respectivamente.

Criterios de Aceptación: La Solución Oral de Acetaminofén contiene no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad de Acetaminofén declarada en la etiqueta (7).

7.3.1.1 ADECUACIÓN DEL SISTEMA

Primero se realiza la adecuación del sistema (system suitability), que está diseñado para determinar la efectividad de la operación del sistema analítico y del equipo con el método, antes de ser utilizado. Para esto se debe dejar estabilizando el equipo con todas las funciones y parámetros indicados del método, luego que ya se tiene una línea base bien estable, se procede con las inyecciones del estándar de referencia del método. Se realizará inyectando 6 veces repetidas el estándar al 100% de la concentración de trabajo.

Criterio de Aceptación:

El Coeficiente de Variación tiene que ser menor o igual a 3%.



7.3.1.2 PARÁMETROS A EVALUAR EN LA CUANTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

- ✚ Linealidad
- ✚ Exactitud
- ✚ Precisión

NOTA: Inyectar un blanco (diluyente) antes de evaluar cada parámetro.

7.3.1.2.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se determinará construyendo una curva de calibración (concentración vs. área) con un rango de concentración de 50% - 150%, utilizando 5 niveles de concentración: 50%, 75%, 100%, 125% y 150%; con diluciones preparadas a partir de solución madre por duplicado (7).

Procedimiento: Pesar por duplicado una cantidad entre 11.25- 13.75 mg de estándar de Acetaminofén USP (equivalente a 0.01 mg/mL aproximadamente), transferir estas pesadas a un balón aforado de 100.0 mL, agregar aproximadamente unos 50 mL de fase móvil y colocar en ultrasonido durante unos 2 minutos, esperar a que el balón llegue a temperatura ambiente luego aforar con el mismo solvente, tapar y agitar. Estas serán consideradas soluciones madres A y B. De cada solución madre tome las alícuotas correspondientes para preparar una gama de 5 soluciones. Mida alícuotas de los siguientes valores: 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 y 6.0 mL y colóquelas en sus respectivos balones aforados de 50 mL y llevar a volumen con fase móvil.

Determinar el área de las 10 soluciones, previa adecuación del sistema, inyectando las muestras correspondientes a cada concentración. Realizar la gráfica colocando el promedio de cada concentración de las soluciones sobre el eje horizontal (x) y las respuestas del instrumento en el eje vertical (y) y encontrar la ecuación $y = mx + b$ (21).



INFORME DE TESIS



Criterios de Aceptación:

- ✚ r mayor o igual a 0.999
- ✚ r^2 mayor o igual a 0.998
- ✚ $b \leq 0.03$

Donde:

r = Coeficiente de correlación (Es la raíz cuadrada del coeficiente de determinación). Es una medida del grado de asociación entre las mediciones y la concentración del analito.

r^2 = Coeficiente de determinación (mide la exactitud con la que se ajusta la curva de regresión a los valores experimentales de y).

b = Intercepto de la línea.

m = Pendiente de la recta (21).

7.3.1.2.2 EXACTITUD Y LINEALIDAD DEL MÉTODO

La exactitud será evaluada utilizando nueve determinaciones, sobre tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración) con concentraciones de 100%, 125% y 150% de la concentración normal de trabajo del método.

Procedimiento: Medir una cantidad de muestra que equivalga aproximadamente a 500 mg de acetaminofén (esta será la concentración de trabajo al 100%) y transferir a 9 balones volumétricos de 250 mL. Enriquecer 3 de estos balones con una cantidad exacta cercana a 25 mg de estándar de Acetaminofén USP para obtener la concentración al 125%. Enriquecer otros 3 balones con una cantidad exacta cercana a 50 mg de estándar de acetaminofén USP para obtener la concentración al 150%.



INFORME DE TESIS



Una vez enriquecidas todas las muestras, diluir a volumen con Fase Móvil los 9 balones y mezclar. Transferir 5.0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 250 mL, diluir a volumen con Fase móvil y mezclar. Transferir 25,0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con Fase móvil y mezclar. Pasar una porción de esta solución a través de un filtro con un tamaño de poro de 0.5 micrómetros o menor y descartar los primeros 10 mL del filtrado. Usar el filtrado para determinar el área de las 9 soluciones, previa adecuación del sistema.

El orden de las inyecciones es el siguiente: estándar al 100% (es el estándar que se utilizó en la adecuación del sistema), muestra al 100%, 125% y 150%; estándar al 100%, muestra al 100%, 125% y 150%; estándar al 100%, muestra al 100%, 125% y 150% de manera que se lean las 9 muestras preparadas (7, 8).

Calcular el % de Recuperación con la fórmula:

$$\% \text{ Rec.} = [\text{concentración determinada}/\text{concentración pesada}] * 100\%$$

Donde:

+ **Concentración determinada = concentración (mg/mL) determinada de la muestra a partir de la siguiente ecuación:**

$$\text{Concentración de la muestra} = \text{área de la muestra} * \text{RF}$$

$$\text{Si RF} = (\text{mg de St.} * \text{factor de dilución} * \text{pureza del St})/\text{área del St.}$$

RF = factor de respuesta

St = estándar

Y

+ **Concentración teórica = mg tomados de la muestra * factor de dilución**



Promediar el porcentaje de recuperación de las nueve determinaciones y calcular el Coeficiente de Variación. Realizar una gráfica colocando el promedio de las concentraciones pesadas sobre el eje horizontal (x) y el promedio de las concentraciones determinadas en el eje vertical (y). Encontrar la ecuación $y = mx + b$

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

- ✚ Productos terminados: Valoración 98% - 102% de recuperación
- ✚ C.V. $\leq 2.0\%$
- ✚ $b \leq 0.03$
- ✚ $m \geq 0.95$

7.3.1.2.3 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Se calcula con los resultados de la adecuación del sistema, preparando una solución con estándar de acetaminofén al 100% de la concentración de trabajo, e inyectándola 6 veces, previa verificación de línea base estable.

Evaluar los resultados según la desviación estándar y el coeficiente de variación obtenidos (8).

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

C.V. $\leq 3.0\%$

7.3.1.2.4 PRECISIÓN DEL MÉTODO

La precisión de un método analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea que permita calcular estadísticamente estimaciones válidas de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Se



INFORME DE TESIS



debe evaluar con los resultados de repetibilidad y precisión intermedia obtenidos.

✚ **REPETIBILIDAD:** Se determinará realizando un mínimo de 6 replicados al 100% de la concentración de trabajo por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo, el mismo día.

Calcular preparando 6 muestras del mismo lote según procedimiento. El orden de las inyecciones es el siguiente: estándar (es el estándar que se utilizó en la adecuación del sistema), muestra 1, estándar, muestra 2, estándar, muestra 3, estándar, muestra 4, estándar, muestra 6, estándar, muestra 6. Adecuar el sistema antes de la evaluación.

Evaluar los resultados según la desviación estándar y el coeficiente de variación obtenidos.

✚ **PRECISIÓN INTERMEDIA:** Se determinará realizando un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de trabajo; utilizando 2 diferentes: días, analistas y equipos.







CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

$$C.V. \leq 2.0\%$$



7.3.2 VALORACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO EN TABLETAS MASTICABLES DE ACETAMINOFÉN

Disolución:

-  **Aparato:** Aparato 2 (paletas) USP 31
-  **Medio:** solución amortiguadora de fosfato de pH 5,8
-  **Volumen:** 900 mL
-  **Temperatura:** 37 °C ± 0.5 °C
-  **Velocidad:** 75 rpm
-  **Tiempo:** 45 minutos

Procedimiento: Determinar la cantidad disuelta de acetaminofen empleando la absorción UV a la longitud de onda de máxima absorbancia, aproximadamente a 243 nm, en porciones filtradas de la solución en análisis, si fuera necesario diluidas adecuadamente con el *Medio de Disolución*, en comparación con una Solución estándar con una concentración conocida de Estándar de Acetaminofén USP en el mismo *Medio*.

Tolerancias: No menos de 75% (*Q*) de la cantidad declarada en la etiqueta se disuelve en 45 minutos (7,8).

7.3.2.1 PARÁMETROS A EVALUAR EN LA DISOLUCIÓN

En la prueba de disolución se debe evaluar la precisión del sistema y del método.

7.3.2.1.1 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Se debe calcular leyendo la solución estándar 5 veces en el espectrofotómetro UV/VIS a utilizar, según el método de análisis.



7.3.2.1.2 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Se debe calcular con los datos obtenidos en la repetibilidad y en la precisión intermedia.

✚ **REPETIBILIDAD:** Se determina realizando la disolución de 6 tabletas masticables de acetaminofén como lo indica el método. Tomar alícuotas de cada vaso de disolución, diluirlas a una concentración aproximada a la preparación de la solución estándar y hacer 6 lecturas de cada una.

✚ **PRECISIÓN INTERMEDIA:** Se establece realizando la disolución de 6 tabletas por análisis; utilizando 2 diferentes: días, analistas y equipos.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

$CV \leq 3,0\%$ para métodos empleados en disolución (7,8).



8. RESULTADOS

8.1 RESULTADOS DE LA VERIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO DE CUANTIFICACIÓN DE ACETAMINOFÉN SOLUCIÓN ORAL POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN

8.1.1 ADECUACIÓN DEL SISTEMA

Pureza Std de Acetaminofén USP Lote No. J2C423
99.6%

Acetaminofén Solución Oral	
Lote No. 80176	Exp: 08/2011
Concentración: 120mg/ 5mL	

Std Acetaminofén USP

$$[\] = 13.4 \text{ mg/100mL} * 4\text{mL/50mL} * 99.6\% = 0.010677 \text{ mg/mL}$$

Tabla No. 1

Criterio de Aceptación: $CV \leq 3.0\%$

Equipo: Cromatógrafo Líquido

de Alta Resolución Merck

Hitachi Lachrom Clásico, No 3.

Fecha: 19/03/2009

Analista 1: Dora Navas

ADECUACIÓN DEL SISTEMA	
	AREAS DE STD.
ST.1	215358
ST 2	215323
ST 3	215193
ST 4	215302
ST 5	216014
ST 6	215808
Promedio	215499.6667
Desv. Std.	329.8500669
CV	0.153062913

8.1.2 LINEALIDAD

Se trabajó con 2 soluciones madre:

A	B
13.4 mg/100 mL	13.4 mg/100 mL

De cada solución madre se tomaron alícuotas de 2, 3, 4, 5 y 6mL diluidos en 50mL correspondientes a 50%, 75%, 100%, 125% y 150% de concentración.



INFORME DE TESIS



Tabla No. 2

Se obtuvieron los siguientes resultados:

					X	Y
	[] A mg/mL	Área A	[] B mg/mL	Área B	Promedio []	Promedio Área
50%	0.00533856	104226	0.00533856	102456	0.00533856	103341.0
75%	0.00800784	159177	0.00800784	155201	0.00800784	157189.0
100%	0.01067712	217091	0.01067712	212316	0.01067712	214703.5
125%	0.0133464	276000	0.0133464	266586	0.0133464	271293.0
150%	0.01601568	327210	0.01601568	324983	0.01601568	326096.5

Área A	Área B	Promedio Área (A y B)	DESV. STD.	CV	
104226	102456	103341	1251.579003	1.21111563	
159177	155201	157189	2811.456562	1.788583528	
217091	212316	214704	3376.43488	1.572603558	
276000	266586	271293	6656.703238	2.45369517	
327210	324983	326097	1574.726802	0.482902086	
				1.501779994	PROMEDIO CV

[] = Concentración
Std = Estándar

CV = Coeficiente de variación
Desv. Std = Desviación estándar

Se promediaron los resultados de las áreas de las soluciones A y B para Verificar que el Coeficiente de Variación (CV) fuera $\leq 2\%$.

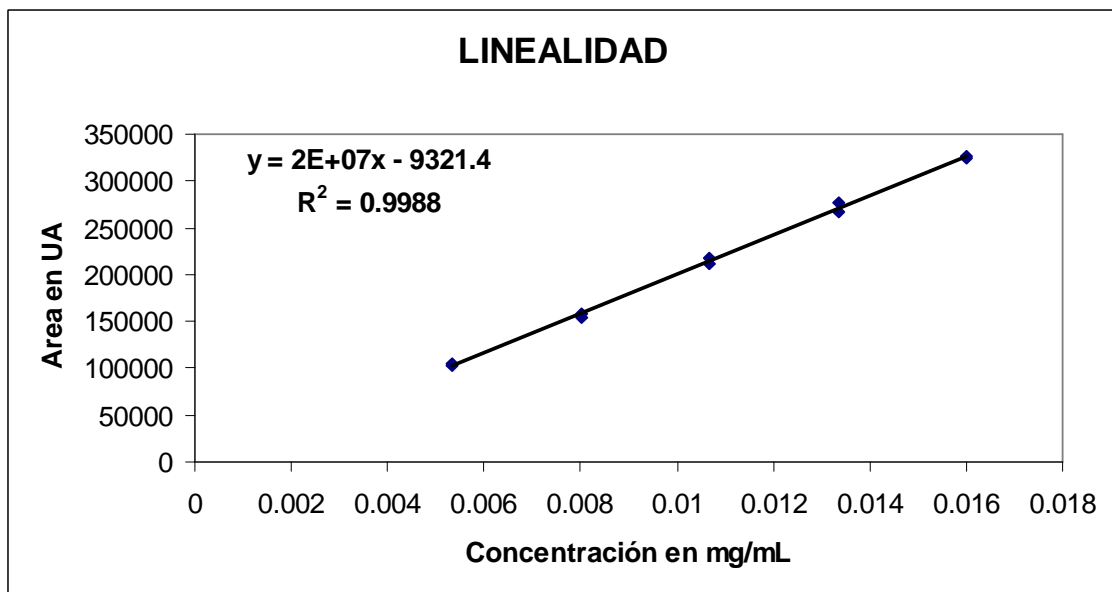
Linealidad (con todos los valores experimentales): con estos valores se realiza la curva de calibración (concentración vrs. Área) con el rango de concentración de 50% - 150% con diluciones preparadas a partir de la solución madre del estándar por duplicado.

Tabla No. 3

	Concentración	Área
50%	0.00533856	104226
75%	0.00800784	159177
100%	0.01067712	217091
125%	0.0133464	276000
150%	0.01601568	327210
50%	0.00533856	102456
75%	0.00800784	155201
100%	0.01067712	212316
125%	0.0133464	266586
150%	0.01601568	324983



Gráfica No. 1



Criterios de Aceptación:

- r mayor o igual a 0.999
- r^2 mayor o igual a 0.998
- $b \leq 0.03$

Donde:

- r = Coeficiente de correlación
- r^2 = Coeficiente de determinación
- b = intercepto de la línea (21)

RESULTADOS:

- ✚ $r = 0.99939982$
- ✚ $r^2 = 0.9988$
- ✚ $b = (9321.40/326096.5) = 0.028585$

Analista 1 : Dora Navas

Tanto el coeficiente de determinación (r^2), como el Análisis de varianza, indican que la regresión (Linealidad) es significativa ($p < 0.00001$). (Ver Anexo No. 4 Evaluación Estadística de la recta obtenida para la Linealidad; Tabla No. 26).



8.1.3 EXACTITUD

Std Acetaminofén USP

$$[] = 13.4 \text{ mg/100mL} * 4\text{mL/50mL} * 99.6\% = 0.010677 \text{ mg/mL}$$

La exactitud se evaluó utilizando nueve determinaciones de la muestra, sobre tres niveles de concentración, enriqueciendo con estándar de Acetaminofén USP las concentraciones de 125% y 150%.

Tabla No. 4

Muestras	AREAS DE MUESTRAS		
	A	B	C
100%	197171	196907	191968
125%	203803	206894	206892
150%	212413	217003	220481

$$\% \text{ Recuperación} = [\text{concentración determinada} / \text{concentración teórica}] * 100\%$$

Donde:

Concentración determinada = concentración (mg/mL) determinada de la muestra a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de la muestra} = \text{área de la muestra} * \text{RF}$$

$$\text{RF} = (\text{mg de St.} * \text{factor de dilución} * \text{pureza del St}) / \text{área del St.}$$

RF = factor de respuesta

St = estándar

Y

Concentración teórica = mg tomados de la muestra * factor de dilución (8)



INFORME DE TESIS



$$RF = (13.4\text{mg}/100\text{mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\%)/ \text{area del Std}$$

Tabla No. 5

Std Exactitud	Area Std
Std A	221408
Std B	220037
Std C	223652

Tabla No. 6

[] Determinada

	RF	100%	125%	150%	
A	4.8224E-08	0.009508304	0.009828123	0.010243328	A
B	4.8524E-08	0.009554737	0.010039348	0.010529878	B
C	4.7740E-08	0.009164512	0.009876981	0.010525717	C
	promedio	0.009409184	0.009914817	0.010432974	
	desv. Std	0.000213160	0.000110579	0.000164252	
	CV	2.265449386	1.115287658	1.574349757	1.651695600
					PROMEDIO CV

desv. St = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

[] = Concentración

Nota: el contenido de acetaminofén en la solución oral se cálculo con los datos de la repetibilidad que es de 98.34% equivalente a 118 mg/5 mL.

Tabla No. 7

	VOLUMEN DE MUESTRA EN mL			EQUIVALENTE DE ACETAMINOFEN EN mg		
	A	B	C	A	B	C
100%	20	20	20	472	472	472
125%	20	20	20	472	472	472
150%	20	20	20	472	472	472

Tabla No. 8

	ESTANDAR ADICIONADO EN mg		
	A	B	C
100%	0	0	0
125%	24.8	24.7	26.2
150%	50.3	49.3	49.7

Factor de dilución: mg muestra/250mL*5mL/250mL* 25/100mL

Nota: Para las muestras de 125% y 150%, se suman los mg de acetaminofén tomados de la muestra mas el estándar que se adiciono, luego se multiplica por el factor de dilución.



INFORME DE TESIS



Tabla No. 9

[] teórica	100%	125%	150%		
A	0.00944	0.009936	0.010446		
B	0.00944	0.009934	0.010426		
C	0.00944	0.009964	0.010434		
promedio	0.00944	0.009944667	0.01043533		
desv. Std	0.000000000	0.000016773	0.000010066		
C.V.	0.000000000	0.168663211	0.096465015	0.088376076	PROMEDIO CV

% DE RECUPERACIÓN = [] determinada/ [] teórica X 100

Tabla No. 10

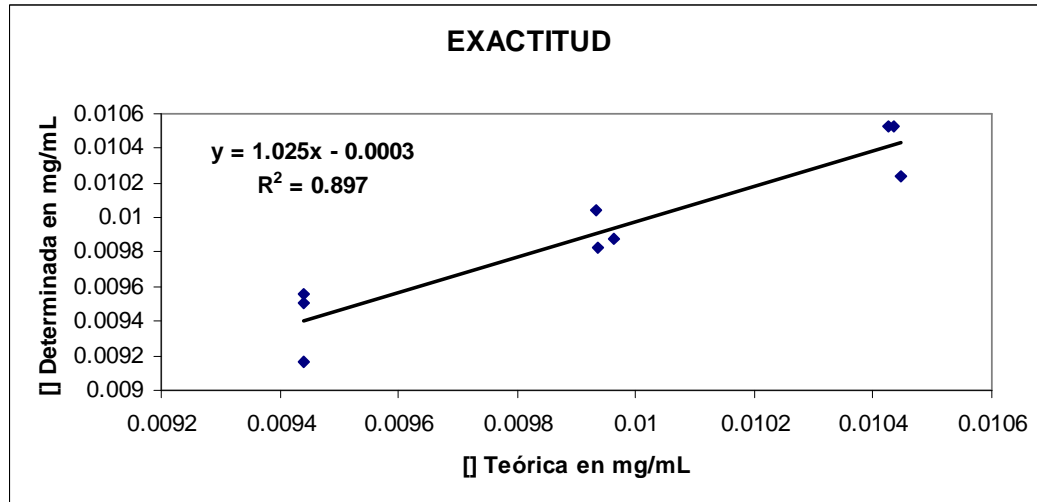
% DE RECUPERACIÓN		
100%	100.72355511	A
	101.2154374	B
	97.08169941	C
125%	98.91427932	A
	101.0604751	B
	99.12666683	C
150%	98.05981567	A
	100.99633459	B
	100.8790217	C
PROMEDIO	99.78414279	
Desv. Std.	1.528632315	
CV	1.531939116	

Tabla No. 11

Concentración Tomada (teórica)	Concentración Determinada
0.00944	0.0095083
0.00944	0.00955474
0.00944	0.00916451
0.009936	0.00982812
0.009934	0.01003935
0.009964	0.00987698
0.010446	0.01024333
0.010426	0.01052988
0.010434	0.01052572



Gráfica No. 2



Criterios de Aceptación:

- Productos terminados: Valoración 98% - 102% de recuperación
- $CV \leq 2\%$
- $b \leq 0.03$
- $m \geq 0.95$ (7, 8)

RESULTADOS

- ± % Recuperación = 99.78%
- ± CV = 1.53%
- ± b = 0.0003
- ± m = 1.0285

Analista 1 : Dora Navas

Se obtuvo un Intervalo de Confianza del 95% para el promedio del porcentaje de recuperación con la distribución t de Student = 98.609 – 100.959%. (Ver Anexo No. 4 Prueba de t de Student para evaluar la Exactitud; Tabla No. 27, Grafica No. 19).

La prueba indica que no existe diferencia significativa entre el promedio del % de recuperación obtenido y el 100% esperado ($p=0.630$). (Ver Anexo No. 4 Prueba de t de Student para evaluar la Exactitud).



8.1.4 PRECISIÓN

8.1.4.1 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Std. Acetaminofén USP

$$[\] = 13.4 \text{ mg/100mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\% = 0.010677 \text{ mg/mL}$$

Criterio de Aceptación: $CV \leq 3.0\%$

Tabla No. 12

PRECISIÓN DEL SISTEMA	
	ÁREAS DE STD.
ST.1	215358
ST 2	215323
ST 3	215193
ST 4	215302
ST 5	216014
ST 6	215808
Promedio	215499.6667
Desv. St	329.8500669
CV	0.153062913

8.1.4.2 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Se realizó utilizando la fórmula: $50\ 000 (C/V) (r_u / r_s)$,

Donde:

- C = la concentración, en mg por mL, de Estándar de Acetaminofén USP en la Preparación estándar;
- V = el volumen, en mL, de Solución oral tomada;
- r_u y r_s = las respuestas correspondiente a los picos de Acetaminofén obtenidas a partir de la preparación de la valoración y de la preparación estándar, respectivamente. (7)

$$C = 13.4 \text{ mg/100mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\% = 0.010677 \text{ mg/mL}$$

$$V = 20 \text{ mL}$$

Tabla No. 13

Volumen de muestra en mL		Equivalente a mg de Acetaminofén
MX 1	20	472
MX 2	20	472
MX 3	20	472
MX 4	20	472
MX 5	20	472
MX 6	20	472



INFORME DE TESIS



Tabla No. 14

Std Acetaminofén	ÁREAS	MUESTRAS [] 100%	ÁREAS
Std 1	217002	MX 1	189837
Std 2	221516	MX 2	196858
Std 3	222217	MX 3	197524
Std 4	222662	MX 4	195715
Std 5	220248	MX 5	196898
Std 6	224850	MX 6	197843

Tabla No. 15

Criterio de Aceptación
CV ≤ 2%

MUESTRAS	% ACETAMINOFÉN
MX 1	97.29694469
MX 2	98.83938744
MX 3	98.86092481
MX 4	97.75975032
MX 5	99.42861928
MX 6	97.86105067
PROMEDIO	98.34111287
DESV	0.819741609
CV	0.833569587

REPETIBILIDAD

Analista 1: Dora Navas



8.1.5 PRECISIÓN INTERMEDIA (Se varió equipo, día y analista).

8.1.5.1 PRECISIÓN INTERMEDIA DEL SISTEMA

Tabla No. 16

Pureza Std USP de Acetaminofén
99.6%

Std Acetaminofén USP

$$[] = 13.3 \text{ mg}/100\text{mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\% = 0.01059744 \text{ mg}/\text{mL}$$

Criterio de Aceptación: $CV \leq 3.0\%$

Equipo: Cromatógrafo Líquido

de Alta Resolución Merck

Hitachi Lachrom Clásico, No 2.

Fecha: 25/03/2009

Analista 2: Doris Solís.

ADECUACIÓN DEL SISTEMA	
ÁREAS DE STD.	
ST.1	240746
ST 2	240886
ST 3	242477
ST 4	243656
ST 5	243291
ST 6	242732
Promedio	242298
Desv. St	1220.906057
CV	0.503886147

8.1.5.2 PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO

$$C = 13.3 \text{ mg}/100\text{mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\% = 0.01059744 \text{ mg}/\text{mL}$$

$$V = 20 \text{ mL}$$

Tabla No. 17

Volumen de muestra en mL		Equivalente a mg de Acetaminofén
MX 1	20	472
MX 2	20	472
MX 3	20	472
MX 4	20	472
MX 5	20	472
MX 6	20	472



INFORME DE TESIS



Tabla No. 18

St Acetaminofén	ÁREAS	MUESTRAS [] 100%	ÁREAS
St 1	236603	MX 1	211860
St 2	243839	MX 2	216650
St 3	243619	MX 3	211487
St 4	241297	MX 4	213992
St 5	237746	MX 5	210932
St 6	238565	MX 6	210935

Tabla No. 19

Criterio de Aceptación
 $CV \leq 2\%$

MUESTRAS	% ACETAMINOFÉN
MX 1	98.84585318
MX 2	98.08108424
MX 3	95.83016895
MX 4	97.89834470
MX 5	97.93974864
MX 6	97.60490705
PROMEDIO	97.70001779
DESV	1.006015462
CV	1.029698341

**PRECISIÓN
INTERMEDIA**

Analista 2: Doris Solís.



8.1.6 COMPARACIÓN ENTRE ANALISTAS

Tabla No. 20

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
MX 1	97.29694469	98.84585318
MX 2	98.83938744	98.08108424
MX 3	98.86092481	95.83016895
MX 4	97.75975032	97.8983447
MX 5	99.42861928	97.93974864
MX 6	97.86105067	97.60490705
PROMEDIO	98.34111287	97.70001779
DESV	0.819741609	1.006015462
CV	0.833569587	1.029698341

Se realizó un análisis de **t de Student entre analistas (prueba pareada)** y se encontró que no existe diferencia significativa entre los analistas ($p=0.3572$) lo que indica que probablemente hay buena precisión entre analistas. (Ver Anexo No. 4 t de Student entre analistas (prueba pareada); Tabla No. 28).



8.2 RESULTADOS DE LA VERIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO DE DISOLUCIÓN DE ACETAMINOFÉN TABLETAS MASTICABLES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS

8.2.1 PRECISIÓN

8.2.1.1 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Acetaminofén Tabletas Masticables		
Lote No.	8CFT33	Exp: 05/2011
Concentración: 80mg/tab		

Pureza Std USP de Acetaminofén
99.6%

Std Acetaminofén USP

[] = $13.1 \text{ mg}/100\text{mL} * 4\text{mL}/50\text{mL} * 99.6\% = 0.01043808\text{mg}/\text{mL}$

Criterio de Aceptación: $CV \leq 3.0\%$

Equipo: Espectrofotómetro UV/VIS

Perkin Elmer Lambda 25 No. 5 y

Disolutor Hanson Research No. 1

Fecha: 27/03/2009

Analista 1 : Dora Navas

Tabla No. 21

STD. ACETAMINOFÉN USP	
lectura 1	0.66920
lectura 2	0.66916
lectura 3	0.66893
lectura 4	0.67119
lectura 5	0.67178
PROMEDIO	0.67005
Desv. Std	0.001328672
CV	0.198293904

8.2.1.2 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Tabla No. 22

	VASO1	VASO2	VASO3	VASO4	VASO5	VASO6
lectura 1	0.75173	0.74662	0.74854	0.71105	0.75009	0.73332
lectura 2	0.75116	0.7462	0.75168	0.70506	0.74606	0.73278
lectura 3	0.75398	0.74604	0.75061	0.70743	0.74822	0.7311
lectura 4	0.75242	0.74597	0.74989	0.70733	0.74878	0.73251
lectura 5	0.75251	0.74589	0.74961	0.70718	0.74819	0.7334
lectura 6	0.75229	0.74523	0.74954	0.70657	0.74629	0.73102
PROMEDIO	0.752348333	0.74599167	0.74997833	0.70743667	0.747938333	0.732355
DESVST	0.000947785	0.0004542	0.00106762	0.00197652	0.001531397	0.001056896
CV	0.125976904	0.06088525	0.14235371	0.27939163	0.204749095	0.144314765

desv. Std = Desviación estándar
CV = Coeficiente de Variación

desv. Std.	0.001172403
CV Promedio	0.159611893



8.2.2 PRECISIÓN INTERMEDIA

8.2.2.1 PRECISIÓN INTERMEDIA DEL SISTEMA

Pureza Std USP de Acetaminofén
99.6%

Std Acetaminofén USP

$$[] = 13.2 \text{ mg/100mL} * 4\text{mL/50mL} * 99.6\% = 0.01051776 \text{ mg/mL}$$

Criterio de Aceptación: $CV \leq 3.0\%$

Tabla No. 23

STD. ACETAMINOFÉN USP	
lectura 1	0.67805
lectura 2	0.67813
lectura 3	0.67800
lectura 4	0.67793
lectura 5	0.67818
PROMEDIO	0.67806
DESVST	9.98499E-05
CV	0.014725862

Equipo: Espectrofotómetro UV/VIS

Perkin Elmer Lambda 25 No. 3 y

Disolutor Pharma Alliance Group No. 5

Fecha: 1/04/2009

Analista 2: Doris Solís.

8.2.2.2 PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO

Tabla No. 24

	VASO1	VASO2	VASO3	VASO4	VASO5	VASO 6
lectura 1	0.71701	0.72354	0.73129	0.72506	0.74302	0.71624
lectura 2	0.71675	0.72375	0.73077	0.72516	0.74261	0.71619
lectura 3	0.71709	0.72337	0.73061	0.72515	0.74273	0.71628
lectura 4	0.71709	0.72357	0.73043	0.72539	0.74235	0.71641
lectura 5	0.71720	0.72357	0.73023	0.72515	0.74275	0.71679
lectura 6	0.71709	0.72253	0.73027	0.72531	0.74293	0.71653
PROMEDIO	0.717038333	0.72338833	0.7306	0.72520333	0.742731667	0.716406667
DESVST	0.000153677	0.00043747	0.00039492	0.00012193	0.000238027	0.000224915
CV	0.021432209	0.0604746	0.05405389	0.01681307	0.032047457	0.03139485

desv. Std. = 0.000261822
CV Promedio= 0.036036012



8.2.3 COMPARACIÓN ENTRE ANALISTAS

Factor de dilución [] muestra
80 mg/tab

$Q = (\text{Promedio Lect. Vaso} / \text{Promedio Lect. Estándar}) * ([] \text{ estándar}) * (900 * 25/3) / 80 * 100 = \%Q$
(7,8)

Tabla No. 25

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
tab.1	109.87588	104.2725664
tab.2	108.94752	105.1959909
tab.3	109.52975	106.2447201
tab.4	103.31680	105.4599304
tab.5	109.23182	108.0089214
tab.6	106.95597	104.1807087
deESV. Std	2.501727787	1.426078742
PROMEDIO Q	107.97629	105.56047
CV	2.316923229	1.35095903

Tolerancias: No menos de 75% (Q) de la cantidad declarada en la etiqueta se disuelve en 45 minutos (7).



9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Previo a realizar la verificación del método, se evaluó la columna a utilizar, determinando la cantidad de platos teóricos de la misma; el resultado fue satisfactorio, ya que se obtuvo más de 1000 platos teóricos (Ver Anexo No. 3), lo que indica que la columna utilizada tiene las condiciones óptimas para su uso, el factor de simetría fue menor de 2.0 (Ver anexo No. 3) encontrándose dentro del rango aceptado. Por otra parte, el equipo utilizado en el estudio tuvo una calibración y verificación constante por parte de personal calificado, lo cual asegura que los equipos estaban funcionando de manera adecuada (Ver anexo No. 1).

En la evaluación de cada uno de los parámetros se utilizó Estándar de Acetaminofén USP vigente con una pureza de 99.6%; y muestras de Acetaminofén Solución Oral y Tabletas Masticables de 120 mg/5mL y 80 mg/tab del mismo lote respectivamente.

En la Verificación del Método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Presión, se realizó una adecuación del sistema, utilizando para ello 6 lecturas de un estándar de Acetaminofén USP al 100% de la concentración de trabajo (0.01 mg/mL) (Ver Tabla No. 1). La adecuación fue satisfactoria, ya que el coeficiente de variación (CV) se encontró en 0.153% por debajo del máximo permitido (3%).

Para el Parámetro de Linealidad, se utilizaron 2 soluciones madre de estándares, las cuales fueron preparadas a concentraciones del 50%, 75%, 100%, 125% y 150% de trabajo (Ver Tabla No. 2); y con las mismas se realizó una curva de calibración (Ver Tabla No. 3), la cual dio un coeficiente de correlación (r) de 0.99994, lo que indica que hay fuerte relación entre las mediciones y las concentraciones del analito. El coeficiente de determinación (r^2) obtenido (0.99990) demuestra que la curva de regresión se ajusta a los valores experimentales de las mediciones obtenidas. El intercepto de la línea (b) cumplió con el criterio de aceptación, ya que el resultado fue de 0.0285, y el esperado debía ser ≤ 0.03 (Ver Gráfica No. 1).



INFORME DE TESIS



Tanto el coeficiente de determinación (r^2), como el Análisis de varianza, indican que la regresión (linealidad) es significativa ($p < 0.00001$), (Ver Anexo No. 4 y Tabla No. 26).

El parámetro de Exactitud se evaluó utilizando nueve determinaciones, sobre tres niveles de concentración (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración) con concentraciones de 100%, 125% y 150% de la concentración normal de trabajo del método (Ver Tabla No. 4, 6, 9). El método demuestra ser exacto ya que al analizar soluciones de muestra a las cuales se les agregó una cantidad conocida de Estándar de Acetaminofén USP (Ver Tabla No. 8); se obtuvo un porcentaje de recuperación del principio activo 99.78%, con una desviación estándar de 1.53% por lo que hay concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero (Ver Tabla No. 10 y Grafica No. 2).

Se obtuvo un Intervalo de Confianza del 95% para el promedio del porcentaje de recuperación con la distribución t de Student = 98.61 – 100.95% (Ver Anexo No. 4 Prueba de t de Student para evaluar la Exactitud y Tabla No. 27).

La prueba indica que no existe diferencia significativa entre el promedio del % de recuperación obtenido y el 100% esperado ($p = 0.630$), (Ver Anexo No. 4 Prueba de t de Student para evaluar la Exactitud).

En el análisis de la pendiente y del intercepto se puede ver que la pendiente (m) no difiere significativamente de 1.00 ($p = 0.8544$) lo que indica que el método es exacto y tiene buena sensibilidad (detecta lo que se agregó, en la misma cantidad y proporción). El intercepto (b) no difiere significativamente de 0.00 ($p = 0.4212$) lo que indica que no hay un fondo o interferencia por lo tanto es específico (Ver Anexo No. 4 y Tabla No. 28).

Además, se puede establecer la precisión del método, por medio del intervalo de confianza (del 95%), que se indica en la tabla (Ver anexo 4, Tabla No. 28 y Grafica No. 19), dicho intervalo corresponde a dos ecuaciones (una inferior y otra superior), dentro de las cuales se pueden predecir los valores que da el método cuando se conoce la concentración del estándar. Mientras más estrecho sea el Intervalo de Confianza mejor precisión.



INFORME DE TESIS



En la evaluación de la precisión del Sistema una misma solución estándar preparada según el método fue inyectada 6 veces. Se registraron las áreas y se calculó el coeficiente de variación (CV) que fue de 0.153% cumpliendo con el criterio de aceptación $\leq 3.0\%$ (Ver Tabla No. 12).

En la evaluación de la precisión del método 6 muestras al 100 % de la concentración de trabajo de un mismo lote fueron preparadas para la cuantificación del principio activo, analizadas por un mismo analista, el mismo día, obteniéndose un coeficiente de variación de 0.833% cumpliendo con el criterio de aceptación ($\leq 2.0\%$) (Ver Tabla No. 14 y 15).

También se evaluó la Precisión Intermedia, preparando 6 muestras al 100% de la concentración de trabajo de un mismo lote analizadas por un analista distinto, diferente día y equipo. Se obtuvo un coeficiente de variación de 1.03% cumpliendo con el criterio de aceptación ($\leq 2.0\%$), (Ver Tabla No. 18 y 19).

Se realizó un análisis de t de Student entre analistas (prueba pareada) y se encontró que no existe diferencia significativa entre los analistas ($p=0.3572$) lo que indica que hay precisión entre analistas (Ver Anexo No. 4 y 29).

Por lo que se puede indicar que el método de análisis para la cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Presión tiene una precisión intermedia adecuada al trabajar en 2 diferentes días, analistas y equipo (Ver Tabla No. 20).

En la Verificación del Método Analítico de Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, se evaluó la Precisión del Sistema con una misma solución estándar preparada según el método (al 100%) la cual fue leída 5 veces. Donde se obtuvo un coeficiente de variación de 0.1983% cumpliendo con el criterio de aceptación ($\leq 3.0\%$), (Ver Tabla No. 21).

En la evaluación de la Precisión del Método 6 muestras al 100 % de la concentración de trabajo de un mismo lote fueron preparadas para la disolución del principio activo, analizadas por un mismo analista, el mismo día, obteniéndose un



INFORME DE TESIS



coeficiente de variación de 2.32% cumpliendo con el criterio de aceptación ($\leq 3.0\%$) (Ver Tabla No. 25).

También se evaluó la Precisión Intermedia del Sistema con una misma solución estándar preparada según el método (al 100%) la cual fue leída 5 veces, esto realizado por otro analista, en otro equipo en diferente día. Donde se obtuvo un coeficiente de variación de 0.015% cumpliendo con el criterio de aceptación ($\leq 3.0\%$) (Ver Tabla No. 23).

En la evaluación de la Precisión Intermedia del Método, se prepararon 6 muestras al 100% de la concentración de trabajo de un mismo lote analizadas por un analista distinto, diferente día y equipo. Se obtuvo un coeficiente de variación de 1.35% cumpliendo también con el criterio de aceptación ($\leq 3.0\%$), (Ver Tabla No. 25). El método demuestra una precisión intermedia satisfactoria ya que los dos analistas presentan un Coeficiente de variación satisfactorio y el promedio de la Q en las disoluciones tiene una buena precisión para realizar la Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS al trabajar en 2 diferentes días, analistas y equipos.

Con los resultados anteriormente presentados se prueba que el método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32), ha sido verificado y cumple con los parámetros de Linealidad, Exactitud, Precisión del Sistema, Precisión del Método y Precisión Intermedia, realizado bajo las condiciones específicas. Brindando resultados confiables para su uso en el análisis de Muestras de medicamentos que contienen este principio activo.



10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método para la cuantificación de Acetaminofén Solución Oral y la Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables cumple con los requerimientos y criterios establecidos en la monografía descrita en la USP 32; por lo que los resultados obtenidos son seguros y confiables para instituirlo como un método de análisis estandarizado para su utilización en el Laboratorio Nacional de Salud, realizado bajo las condiciones establecidas en el presente estudio.
- 10.2 El método es lineal. El área en unidades de absorbancia, obtenida en cada nivel de concentración es proporcional a dicha concentración, y tanto el coeficiente de determinación (r^2), como el Análisis de varianza, indican que la regresión (linealidad) es significativa ($p < 0.00001$).
- 10.3 El método es exacto. Los resultados que se obtienen con el mismo concuerdan con el valor real. La prueba indica que no existe diferencia significativa entre el promedio del % de recuperación obtenido y el 100% esperado ($p = 0.630$).
- 10.4 El método utilizado cuenta con una precisión del sistema aceptable, ya que los resultados no varían de una manera significativa cuando se evalúan repetidas veces muestras homogéneas y se encontró que no existe diferencia significativa entre los analistas ($p = 0.3572$) lo que indica que hay precisión entre ellos.
- 10.5 El método puede ser reproducido por 2 diferentes analistas con la seguridad que los resultados que se obtengan serán confiables, siempre y cuando se trabaje bajo las condiciones especificadas.



11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Se podría trabajar la precisión intermedia con un número mayor de analistas, para poder comparar los resultados cuando se varían más días y equipos diferentes.
- 11.2 Se recomienda que se sigan acreditando más metodologías de análisis de otros principios activos que ingresen en el Laboratorio Nacional de Salud.



12. REFERENCIAS

- 12.1 Alvarado, Zoila., et al. Propuesta de un Reglamento para los Estudios de Validación de Métodos Analíticos Requeridos para el Registro Sanitario de Medicamentos ante el Ministerio de Salud de la República de Costa Rica. Comisión Nacional de Calidad de Medicamentos. Subcomisión de Validación y Acreditación de Métodos Analíticos. Costa Rica, 2000.
- 12.2 Baudritt, Olga., et. al. Guía de Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos Ligeramente Modificados o Mejor Definidos. 2005. Costa Rica.
- 12.3 Bloom, Joseph Dr. Aspectos Generales e Importancia de la Validación de Metodología Analítica en la Práctica Farmacéutica. Universidad de Puerto Rico. Guatemala. 2005.
- 12.4 Calpena AC, Escribano E, Fernández C. Validación de métodos analíticos. México. 1990.
- 12.5 Castillo Aguilar, Beatriz. González Hernández, Rolando. Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la Cuantificación de Fármacos. Revista Cubana Farmacia 1997. Cuba.
- 12.6 Drug Information for the Health Care Professional USP DI. Volume 1. 26th Edition. Editorial Thomson Micromedex. 2006. Estados Unidos de América.
- 12.7 Farmacopea de los Estados Unidos. El Formulario Nacional. Edición XXXI. Versión en Español. 2008. Estados Unidos.
- 12.8 FQMC033 “Protocolo y Resultados de Verificación del Método Analítico de Acetaminofén Tabletas”.



INFORME DE TESIS



- 12.9 Franco Flores, Anabelly Carolina. 2002. Guía para Validación de Métodos Analíticos Nuevos o Modificados para productos Farmacéuticos. Guatemala; 45 p. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.
- 12.10 Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10ª Edición. Vol I. McGraw-Hill. 2003. México.
- 12.11 Harris, Daniel C. Análisis Químico Cuantitativo. 3ª Edición. Grupo Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V. 1992. México.
- 12.12 Harvey, Richard. FARMACOLOGIA. 2da Edición. Mc Graw.Hill. 2000.
- 12.13 Katzung, Bertram G. Farmacología Básica y Clínica. 8ª Edición. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 2002. México, D.F.
- 12.14 Martindale. The Complete Drug Reference. 34th Edition. Pharmaceutical Press. 2005. United States of America.
- 12.15 Millar, James N, Millar, Jane C. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ta edición (1ª edición en Español). Prentice Hall. 2002. España.
- 12.16 Nave Herrera, Oscar Federico. Herramientas de Estadística y Computación Aplicadas al Control de Calidad en los Análisis. Modulo 5. Diplomado de Sistemas de Gestión de la Calidad para Laboratorio con base en las Normas COGUANOR ISO 17025:2005 e ISO 15189:2003. 2006. Guatemala.
- 12.17 NORMA GUATEMALTECA RECOMENDADA COGUANOR NGR/ ISO/IEC 17 025 1ª. Revisión Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración. 2001. Guatemala



INFORME DE TESIS



- 12.18 Pappa, H. N. 2005. Buenas Prácticas de Control de Calidad. Costa Rica.
- 12.19 Procedimiento para la validación de métodos analíticos por HPLC. Manual de procedimiento para la Validación de métodos analíticos por HPLC. Laboratorio Nacional de Salud. Área de Contaminantes de Ambiente y Salud. 2005. Guatemala.
- 12.20 OGA-GEC-016 Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo.
- 12.21 Procedimiento de Validación de Métodos de Analíticos no Normalizados. Laboratorio Nacional de Salud. Área de Físicoquímico de Medicamentos. Revisión No. 1. Año 2006. Guatemala.
- 12.22 Pujol M, Sans JM, Vicente L. Validación de métodos analíticos. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. España 1989.
- 12.23 Salguero, Rómulo E. Estadística y Estadística Comparativa. 2006. Guatemala.
- 12.24 S. Gascon, et.al. “Validación de Métodos Analíticos” Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. España 1991.
- 12.25 UGCP041 “Procedimiento de Validación de Métodos Analíticos”. Laboratorio Nacional de Salud. Revisión No. 1, Año 2006.



13. ANEXOS

**ANEXO NO. 1
CERTIFICADOS DE CALIBRACION DE LOS
EQUIPOS UTILIZADOS**

CALIBRACION DE LA BALANZA ANALITICA



Ingeniería de Servicios Analíticos S.A.
 5 calle 20-15 z. 11 Mirador 01011
 Tel 2269-0169 Fax 2440-1701
 email: ids@inetgua.com

Certificado de Calibración No 8002:268

Identificación del instrumento
 Balanza analítica/AS214 Serie: **8026351076** Fabricante: **Ohaus**

Estándar Utilizado
 Masa: NIST Ref: 822/268214-03 Serie: 04-J87629 Vencimiento: 02/27/09

Información de la certificación
 Como se encontró: En uso Fecha de calibración: 02/10/2008
 Como se dejó: En tolerancia Fecha de vencimiento: 02/10/2009
 Procedimiento: To111 Técnico: 03

Condiciones ambientales promedio: Temperatura: 22.0 %HR: 73
Características del instrumento: Lugar: Cuarto de balanzas de metrología
 Campo de medición: 0-100
 División mínima de escala: 0.1

Método de calibración: El instrumento fue calibrado por comparación directa contra patrones con registro de trazabilidad a patrones del NIST.

Matriz de resultados:

Masa

Masa 100g		
ensayo	lectura	error
1	100.0017	0.0017
2	100.0018	0.0018
3	100.0018	0.0018
4	100.0017	0.0017
5	100.0019	0.0019
Incertidumbre:	0.00004	

Masa 50g		
ensayo	lectura	error
1	50.0008	0.0008
2	50.0008	0.0008
3	50.0008	0.0008
4	50.0009	0.0009
5	50.0009	0.0009
Incertidumbre:	0.00002	

Masa 20g		
ensayo	lectura	error
1	20.0004	0.0004
2	20.0005	0.0005
3	20.0004	0.0004
4	20.0004	0.0004
5	20.0007	0.0007
Incertidumbre:	0.00006	

VERIFICACION DEL APARATO DE DISOLUCIÓN NO. 1



FQMFB02
Rev. 1
Pág. 1 de 1

LABORATORIO NACIONAL DE SALUD
UNIDAD DE MEDICAMENTOS
AREA DE FISICOQUÍMICO DE MEDICAMENTOS

LNS

VERIFICACIÓN APARATO DE DISOLUCIÓN

Código: AD-01-FQM.
 Marca: Hanson Research
 Modelo: 73-100-110
 Serie: 0301-0492
 Fecha de la Verificación: 25 de marzo de 2019
 Analista que Realiza la Verificación: AS

NIVEL: Cumple

ROTACIÓN DE EJES:

Eje	Rotación 50 rpm	Rotación 75 rpm	Rotación 100 rpm
1	51	74	99
2	50	74	100
3	50	75	99
4	50	75	99
5	49	75	99
6	51	74	99
Promedio			

NÚMERO DE SERIE Y SIMETRÍA

Vaso (No. Serie)	Paleta (No. Serie) / Simetría	Canasta (No. Serie)	Varilla (No. Serie) / Simetría
1 00839	13012 cumple	18407	30039 cumple
2 70944	13074 cumple	32059	29989 cumple
3 70941	13064 cumple	32091	30042 cumple
4 70949	13015 cumple	32047	18661 cumple
5 33930	14418 cumple	18415	18664 cumple
6 70985	31389 cumple	18421	18664 cumple

TEMPERATURA:

	Temperatura Inicial	Temperatura Final
Vaso 1	36.8	37.1
Vaso 2	36.9	37.0
Vaso 3	36.8	37.0
Vaso 4	36.8	36.9
Vaso 5	36.7	36.9
Vaso 6	36.7	36.9
Baño de disolución	37.3	37.2

Observaciones: _____

VERIFICACION DEL APARATO DE DISOLUCIÓN NO. 5

FQMIF002
Rev. 0

LABORATORIO NACIONAL DE SALUD
UNIDAD DE MEDICAMENTOS
AREA DE FISICOQUÍMICO DE MEDICAMENTOS

VERIFICACIÓN APARATO DE DISOLUCIÓN

Aparato de Disolución:

Marca: Hanson Research

Código: AD-03-FO-M

Serie: 0199-047

Modelo: 73-100-100

Fecha de la Verificación: 10/02/2009

Analista que Realiza la Verificación: RD

No. DE SERIE:

No.	Vaso	Paleta <input type="checkbox"/>	Canasta <input type="checkbox"/>	Varilla
1	76994	31380		
2	76982	13049		
3	74433	31950		
4	74405	31379		
5	74445	13021		
6	60868	11919		

REGISTRO DE VIBRACIÓN:

Mesa de trabajo	Base de los vasos	Vasos
<u>Hanson de 0.1</u>	<u>Hanson 0.1</u>	<u>Hanson de 0.1</u>

ROTACIÓN DE EJES:

Eje	Rotación rpm Máximo	Rotación rpm Promedio
1	<u>102</u>	<u>100.4</u>
2	<u>100</u>	<u>99.8</u>
3	<u>101</u>	<u>100</u>
4	<u>102</u>	<u>100.4</u>
5	<u>101</u>	<u>100.4</u>
6	<u>101</u>	<u>100</u>

Tº MEDIO DE DISOLUCIÓN:

Vaso	Temperatura
1	<u>36.5</u>
2	<u>36.4</u>
3	<u>36.5</u>
4	<u>36.4</u>
5	<u>36.3</u>
6	<u>36.5</u>

Tº BAÑO DE DISOLUCIÓN: 37.2

VERIFICACION DEL ESPECTROFOTOMETRO UV/VIS

Analítica Química



Certificado de Servicio Espectrofotometro UV/VIS

Cliente: LNS FX MEDICAMENTOS Fecha de servicio: 26 OCT - 2009
 Marca: Perkin Elmer
 Modelo: Lambda 25 ESP-CA-FUN
 Numero de Serie: 10LN3042103
 Frecuencia recomendada de servicio: Cada 6 meses

PRUEBAS DE ELECTRONICAS

Revisión de:	DVM	¿Se revisó?	Mediciones	Rango
Voltaje de lampara de luz visible		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	10.4 voltios DC	10.2 a 10.8
Voltaje de lampara de luz ultravioleta		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	72.1 voltios DC	65.0 a 75.0
Voltaje de la fuente de alimentación		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	120.0 voltios AC	110 a 125
Power supply		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	12.1 voltios DC	11.5 a 12.5
Tarjeta microprocesadora		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	5.0 voltios DC	4.9 a 5.1
Tarjeta controladora de servomotores		<input checked="" type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no	29.1 voltios DC	23.5 a 24.5


REVISION DEL SISTEMA OPTICO

Revisión de lentes ¿Se revisó? Estado de la Optica
 si no

Revisión del greating si no En excelente condición

VERIFICACION DEL HPLC NO. 2

Página 1 de 7	Departamento de Servicio Técnico	Sistema HPLC Merck Hitachi LaChrom - OQ	
---------------	----------------------------------	---	---

 VWR International,	Documento:	STM/LC/OQ1Ae
	Título:	Procedimiento Estandar de Operación
	Subtítulo:	Calificación Operacional LaChrom

Sistema No.: CL-02-FQM	Modelo: LaChrom	Fecha: 10 de octubre de 2008
Equipo: HPLC	Marca: Merck Hitachi	Responsable: Jorge Colaj

Datos del Cliente

Cliente	Laboratorio Nacional de Salud
Dirección	Km. 22 Carretera al Pacífico
Teléfono	6630-6017
Departamento	Fisicoquímico
Responsable	Dora de Díaz


Lista de Equipos Verificados


Modulo	Modelo	Número de Serie
Bomba	L-7100	1402-075
Automuestreador	L-7200	1493-007
Interfase	D-7000	1636-013
Detector UV	L-7420	1455-019
Horno para columna	L-7300	1388-009

Documentación Entregada

Reporte de Verificación Operacional	STM/LCE/OQ1Ae	✓
Bomba L-7100	STM/L7100/OQ1Ae	
Automuestreador L-7200	STM/L7200/OQ1Ae	
Detector UV L-7420	STM/L7420/OQ1Ae	
Horno para columna L-7300	STM/L7300/OQ1Ae	
Sistema Completo	STM/GLP/OQ1Ae	
Certificado de Verificación Operacional		✓
Bomba L-7100		
Automuestreador L-7200		
Detector UV L-7420		
Horno para columna L-7300		
Observaciones y Conclusiones	STM/OBS/OQ1Ae	
Copia Certificados:		✓
Instrumentos Utilizados:	Cronómetro N/S 61772738	
	Probeta clase A Lote 07.01	
	Termómetro Digital 86988694	
	Termopar 8700	
Personal Calificado:		✓
Curso HPLC IQ,OQ,PQ		

VERIFICACION DEL HPLC NO. 3

Página 1 de 7	Departamento de Servicio Técnico	Sistema HPLC Merck Hitachi LaChrom - OQ	
---------------	----------------------------------	---	---

 VWR International	Documento:	STM/LC/OQ1Ae
	Título:	Procedimiento Estandar de Operación
	Subtítulo:	Calificación Operacional LaChrom

Sistema No.: CL-03-FQM	Modelo: LaChrom	Fecha: 21 de octubre de 2008
Equipo: HPLC	Marca: Merck Hitachi	Responsable: Daniel Pérez

Datos del Cliente

Cliente	Laboratorio Nacional de Salud
Dirección	Km. 22.5 Carretera al Pacifico
Teléfono	6630-5837
Departamento	Fisicoquímico de Medicamentos
Responsable	Ada Cruz

Lista de Equipos Verificados

Modulo	Modelo	Número de Serie
Bomba	L-7100	1385-062
Automuestreador	L-7200	1379-019
Interfase	D-7000	1336-016
Detector UV	L-7420	1347-025
Horno para columna	L-7300	1382-011

Documentación Entregada

Reporte de Verificación Operacional	STM/LCE/OQ1Ae	✓
Bomba L-7100	STM/L7100/OQ1Ae	
Automuestreador L-7200	STM/L7200/OQ1Ae	
Detector UV L-7420	STM/L7400/OQ1Ae	
Horno para columna L-7300	STM/L7300/OQ1Ae	
Sistema Completo	STM/GLP/OQ1Ae	
Certificado de Verificación Operacional		✓
Bomba L-7100		
Automuestreador L-7200		
Detector UV L-7420		
Horno para columna L-7300		
Observaciones y Conclusiones	STM/OBS/OQ1Ae	
Copia Certificados:		✓
Instrumentos Utilizados:	Cronómetro N/S 61772738	
	Probeta clase A Lote 06.04	
	Termómetro Digital 86968694	
	Termopar 8700	
Personal Calificado:		✓
Curso HPLC IQ,OQ,PQ		



INFORME DE TESIS



ANEXO NO. 2
GRÁFICAS DE LOS RESULTADOS DE LA
DISOLUCIÓN DE ACETAMINOFÉN
TABLETAS MASTICABLES POR
ESPECTROFOTOMETRIA UV/VIS

PRECISIÓN DEL METODO (ANALISTA NO. 1)

FICHA TECNICA DE DISOLUCIÓN.

FORMA: _____
Rev. 0
Pag. 1 de 1

No. Expediente: _____ Analista: DN Fecha de Análisis: 29/3/09
Referencia: OSP 31

1. Código del equipo: AD-1-FQM
2. Principio activo: Acetaminofen Concentración: 80 mg
3. Condiciones de Prueba:
a. Aparato: 2 a 95 rpm b. Tipo de medio: buffer fosfato pH 5.8
c. Volumen: 900 ml d. Tiempo de análisis: 45 minutos
e. Análisis por UV : a 243 nm

4. Medio de Disolución:
a. Preparación: 1950 ml de KH₂PO₄ 0.2M + 120 ml NaOH 0.2M y
llevar a volumen de 2 litros con agua, ajustar pH 5.8
b. pH de la solución: 5.8 d. Desaireación: _____

5. Numeración de la posición de los vasos y aparato:
a. Vasos b. Aparato (paletas/canasta):
a. 11 12 13 14 15 16
1. 2. 3. 4. 5. 6.
b. 11 12 13 14 15 16
1. 2. 3. 4. 5. 6.

6. Inspecciones visuales:
a. Vasos: b. Canastillas: _____ c. Vastagos/Paletas:
d. Calibra. de paletas/ canastas: f. Cantidad adec. de agua en el baño:

7. Identificación:
a. Rango de peso: _____ Peso promedio: 0.2593g/tab
b. Peso de la tabletas en gramos:
0.2695 0.2560 0.2613 0.2498 0.2631 0.2551
1. 2. 3. 4. 5. 6.
c. Código de la balanza: B-01-FQM: _____ B-02-FQM: _____ B-03-FQM: _____
B-01-FQC balanza Chaus - microbiología : B-01-06C

8. Temperatura del baño en la prueba:
a. Antes: 37.4 °C b. Durante: 37.4 °C d. Después: 39.3 °C

9. Técnica de Inicio:
a. Tiempo de alternación: _____ minuto (s) b. Simultanea:

10. Temperatura de los vasos:
a. Inicio de prueba b. final de la prueba
a. 36.8 36.8 36.7 36.8 36.6 36.6
1. 2. 3. 4. 5. 6.
b. 36.8 36.8 36.7 36.7 36.6 36.6
1. 2. 3. 4. 5. 6.

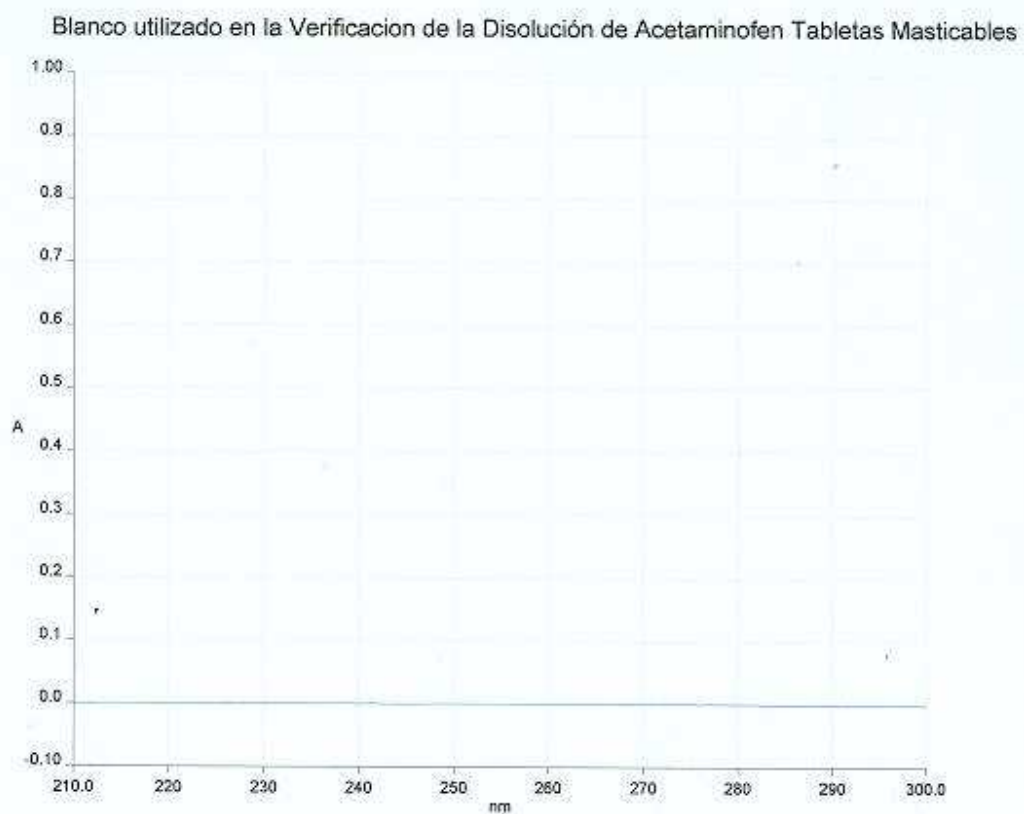
11. Tiempo:
a. La prueba inicia a las: 12:38 y finalizo a las: 1:27.

12. Observaciones:
Hay un poco de burbujas en las paletas ; la tableta se
disolvió a los 25 minutos por completo.

NA: No aplica
NP: No presenta

Gráfica No. 3

Date: 30/03/2009 Time: 09:28:07 a.m



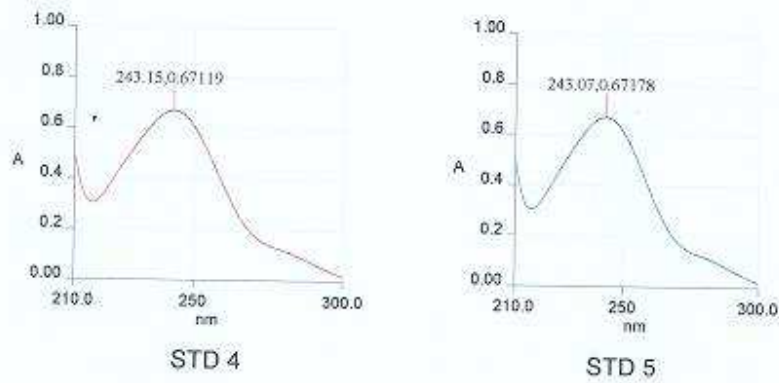
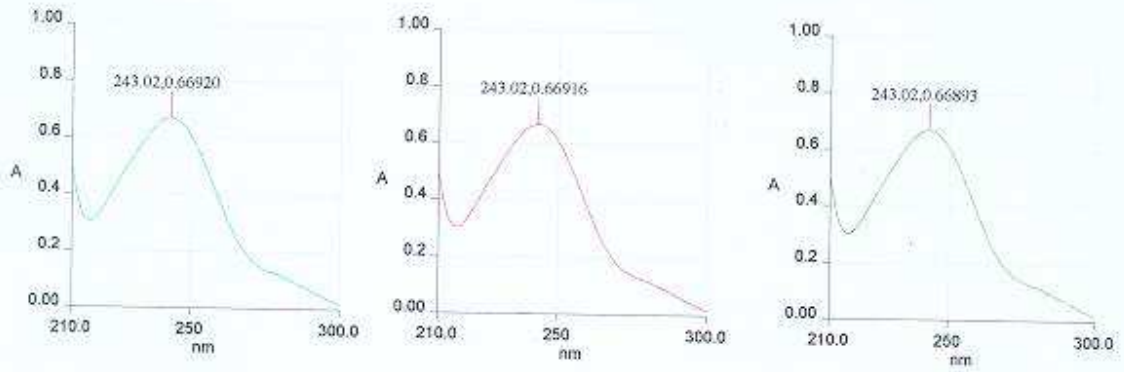
Solución Amortiguadora de Fosfatos de pH 5.8

Analista: Dora Navas

Gráfica No. 4

ESTANDAR USP DE ACETAMINOFEN

Date: 27/03/2009
Time: 03:08:26 p.m



VERIFICACION DE ACETAMINOFEN TABLETAS MASTICABLES

PRECISION

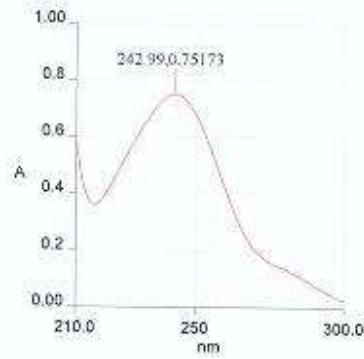
Analista: Dora Navas

Gráfica No. 5

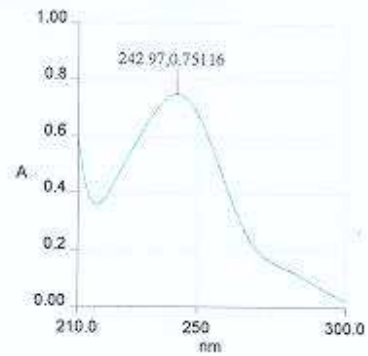
DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

Date: 27/03/2009
Time: 03:08:26 p.m.

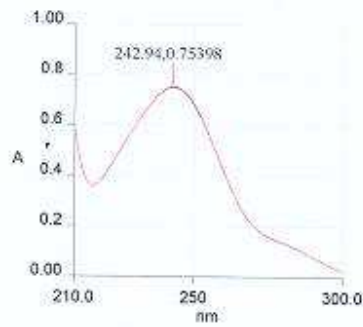
Vaso No. 1



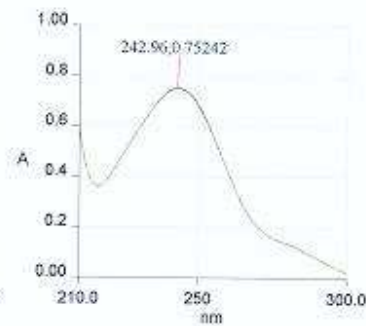
Lectura No. 1



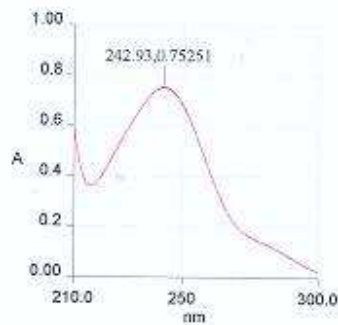
Lectura No. 2



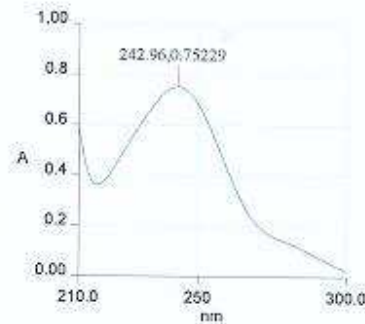
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

Analista: Dora Navas

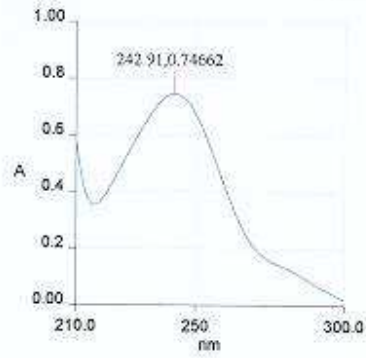
Gráfica No. 6

DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

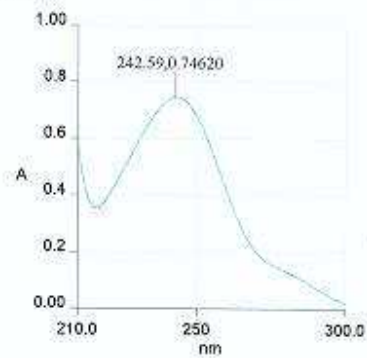
Date: 27/03/2009

Time: 03:08.26 p.m

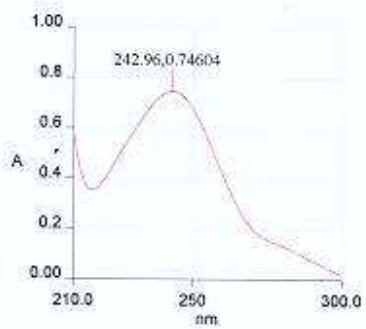
Vaso No. 2



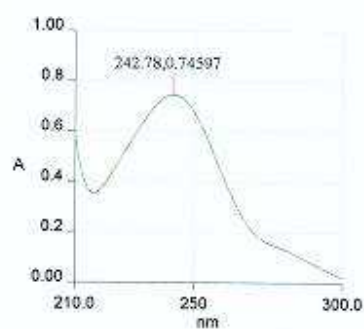
Lectura No. 1



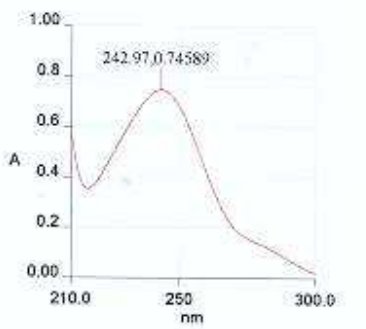
Lectura No. 2



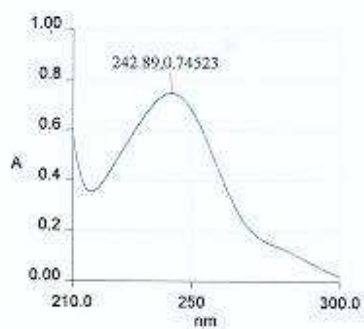
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

Analista: Dora Navas

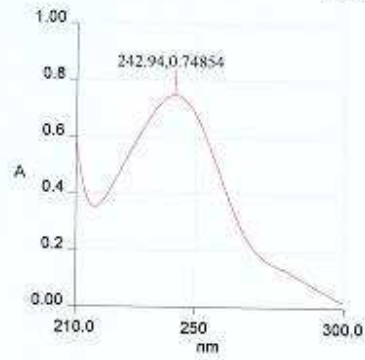
Gráfica No. 7

DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

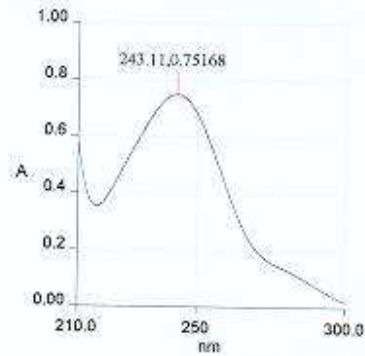
Date: 27/03/2009

Time: 03:08:26 p.m

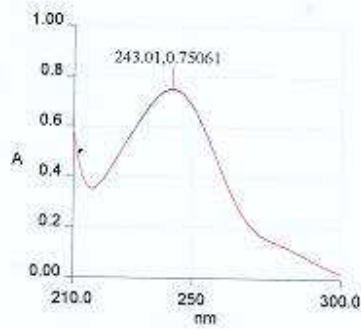
Vaso No. 3



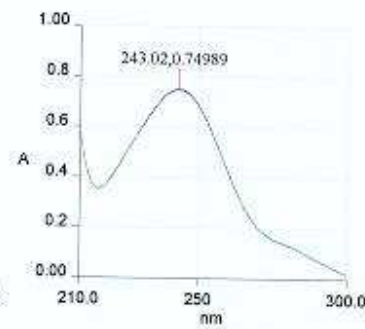
Lectura No. 1



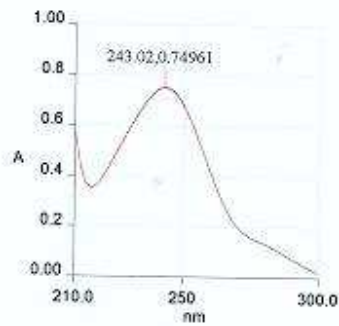
Lectura No. 2



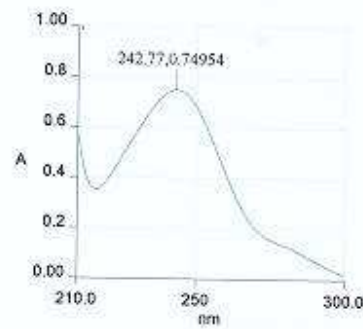
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

Analista: Dora Navas

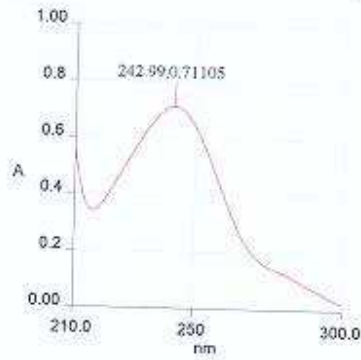
Gráfica No. 8

DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

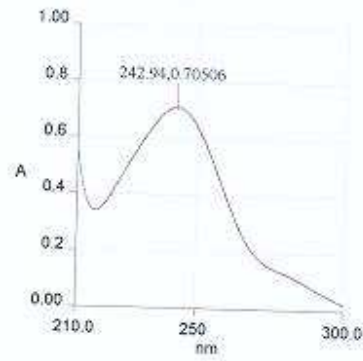
Date: 27/03/2009

Time: 03:08,26 p.m

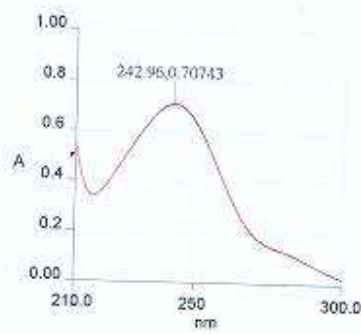
Vaso No. 4



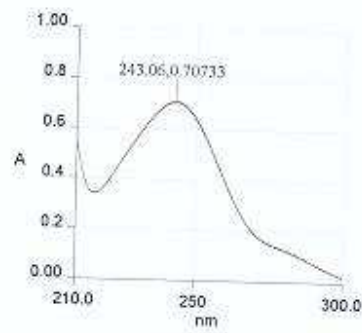
Lectura No. 1



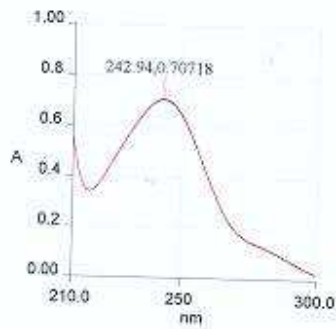
Lectura No. 2



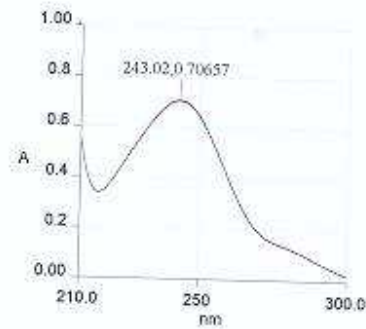
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

Analista: Dora Navas

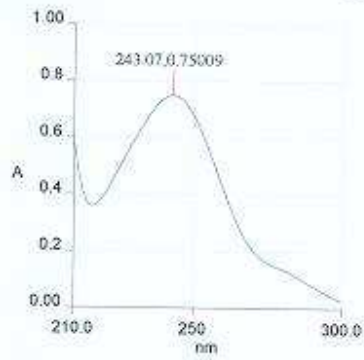
Gráfica No. 9

DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

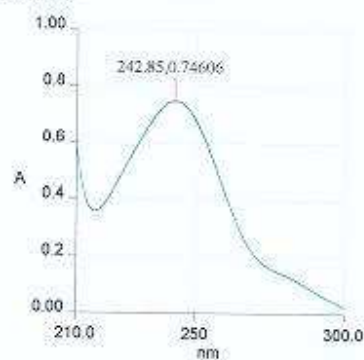
Date: 27/03/2009

Time: 03:08:26 p.m

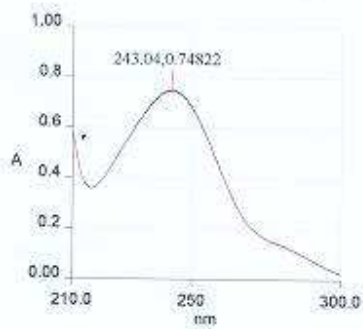
Vaso No. 5



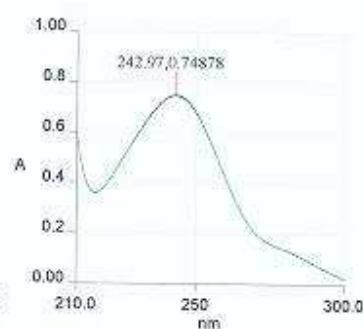
Lectura No. 1



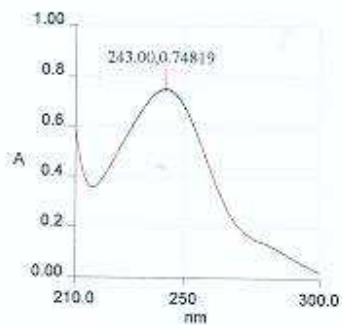
Lectura No. 2



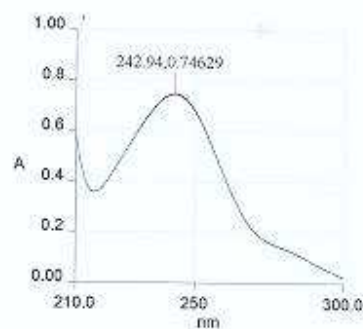
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

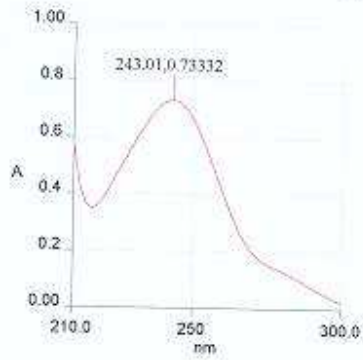
Analista: Dora Navas

Gráfica No. 10

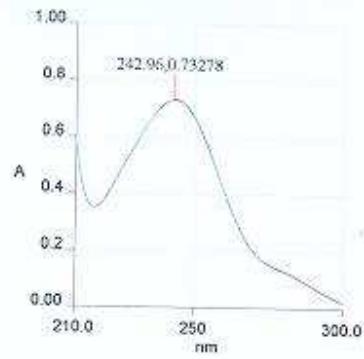
DISOLUCION DE ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

Date: 27/03/2009
Time: 03:08:26 p.m

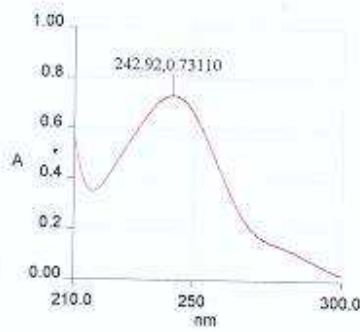
Vaso No. 6



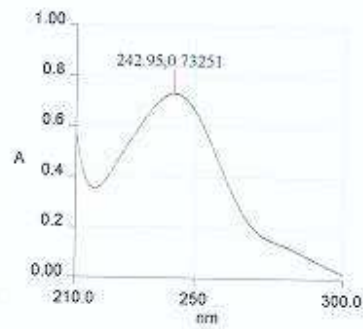
Lectura No. 1



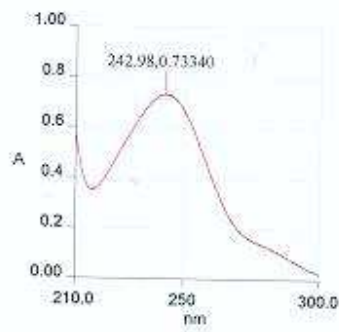
Lectura No. 2



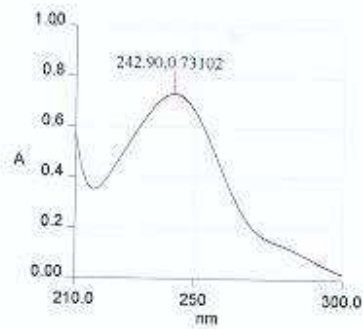
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

PRECISION

Analista: Dora Navas

PRECISIÓN INTERMEDIA DEL METODO (ANALISTA NO. 2)

FICHA TECNICA DE DISOLUCIÓN.

P.A. 001
Eco. 1
Pag. 1 de 1

No. Expediente: _____ Analista: OSO Fecha de Análisis: 1/4/09

Referencia: OSP 31

1. Código del equipo: AD-5-FQM

2. Principio activo: Acetaminofen Concentración: 80 mg

3. Condiciones de Prueba:

a. Aparato: 2 a 95 rpm b. Tipo de medio: buffer fosfato pH 5.8

c. Volumen: 900 ml d. Tiempo de análisis: 45 minutos

e. Análisis por UV : a 243 nm

4. Medio de Disolución:

a. Preparación: 2,750 ml de KH₂PO₄ 0.2 M + 126 ml NaOH 0.2 M y llevar a volumen de 7 litros con agua, ajustar pH 5.8

b. pH de la solución: 5.8 d. Desacreción: _____

5. Numeración de la posición de los vasos y aparato:

a. Vasos b. Aparato (paletas/canasta)

a.	<u>51</u>	<u>52</u>	<u>53</u>	<u>54</u>	<u>55</u>	<u>56</u>
	1	2	3	4	5	6

b.	<u>51</u>	<u>52</u>	<u>53</u>	<u>54</u>	<u>55</u>	<u>56</u>
	1	2	3	4	5	6

6. Inspecciones visuales:

a. Vasos: b. Canastillas: c. Vastagos/Paletas:

d. Calibra. de paletas/canastas: f. Cantidad adec. de agua en el baño:

7. Identificación:

a. Rango de peso: _____ Peso promedio: 0.2540 g/tab.

b. Peso de la tabletas en gramos

<u>0.2547</u>	<u>0.2513</u>	<u>0.2513</u>	<u>0.2529</u>	<u>0.2540</u>	<u>0.2569</u>
1.	2.	3.	4.	5.	6.

c. Código de la balanza: B-01-FQM: _____ B-02-FQM: _____ B-03-FQM: _____
B-01-FQC: _____ balanza Ohaus B-01-08C

8. Temperatura del baño en la prueba:

a. Antes: 39.2°C b. Durante: 39.2°C d. Después: _____°C

9. Técnica de Inicio:

a. Tiempo de alternación: _____ minuto (s) b. Simultanea:

10. Temperatura de los vasos:

a. Inicio de prueba b. final de la prueba

a.	<u>36.9</u>	<u>36.8</u>	<u>36.8</u>	<u>36.8</u>	<u>36.8</u>	<u>36.8</u>
	1	2	3	4	5	6

b.	<u>37.0</u>	<u>36.9</u>	<u>37.0</u>	<u>36.9</u>	<u>36.9</u>	<u>36.9</u>
	1	2	3	4	5	6

11. Tiempo:

a. La prueba inicia a las: 10:20 y finaliza a las 11:05

12. Observaciones:

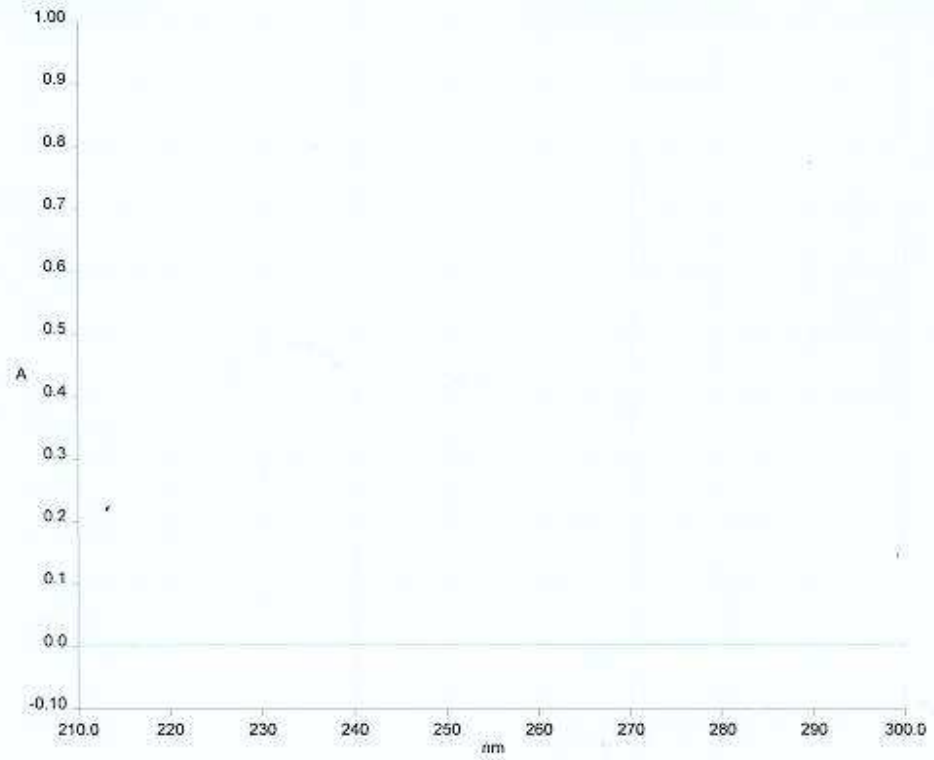
No se formo burbujas, los calderos se resolvieron a los 25 minutos.

NA: No aplica
NP: No presenta

Gráfica No. 11

Date: 01/04/2009
Time: 12:49:29 p.m

Blanco utilizado en la Verificación de la Disolución de Acetaminofen Tabletas Masticables



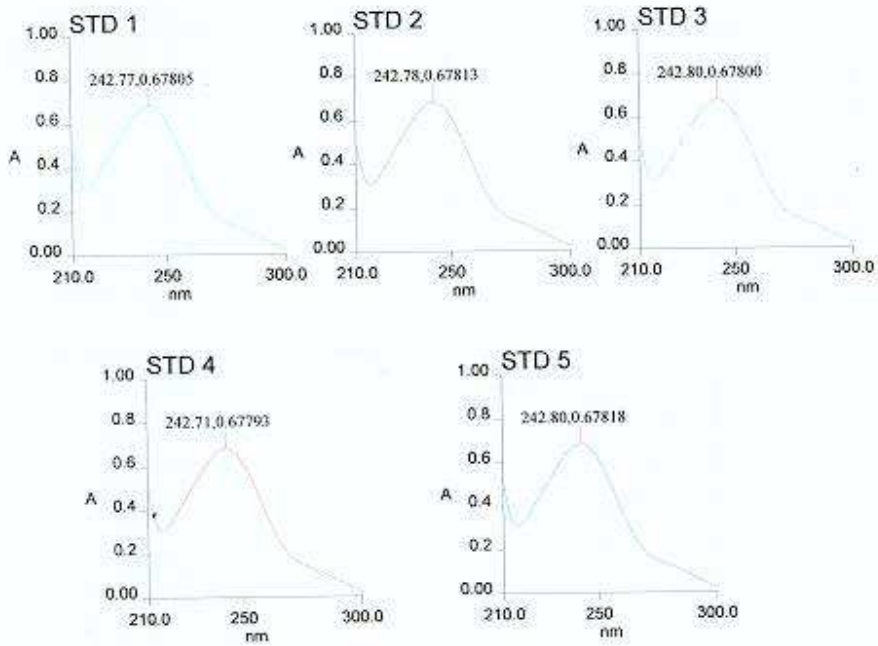
Solucion Amortiguadora de Fosfato pH 5.8

Analista: Doris Solis

Gráfica No. 12

ESTANDAR USP DE ACETAMINOFEN

Date: 01/04/2009
Time: 12:41:26 p.m



VERIFICACION DE ACETAMINOFEN TABLETAS MASTICABLES

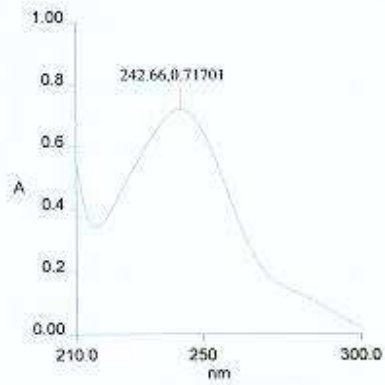
PRECISION

Analista: Doris Solis

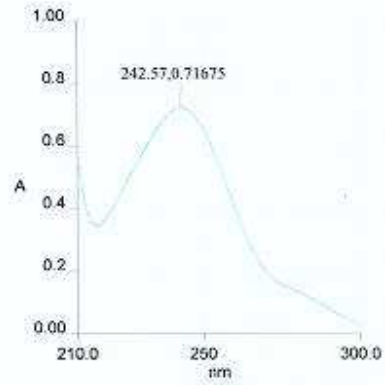
Gráfica No. 13

Time: 12:39:56 p.m
DISOLUCION ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg Date: 01/04/2009

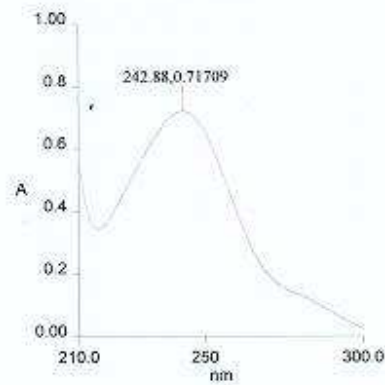
Vaso No. 1



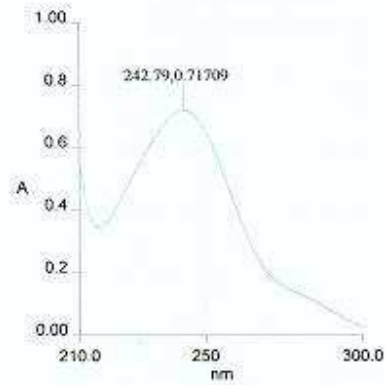
Lectura No. 1



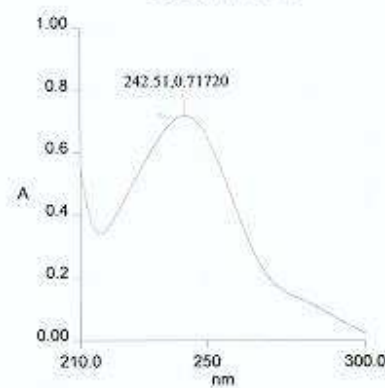
Lectura No. 2



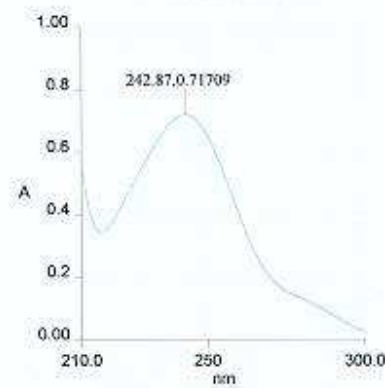
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5

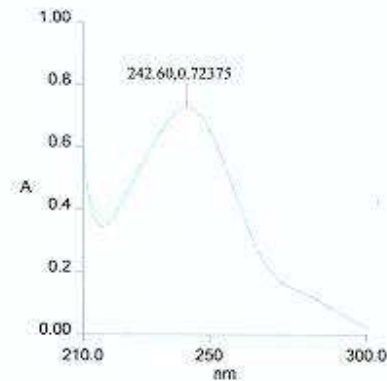
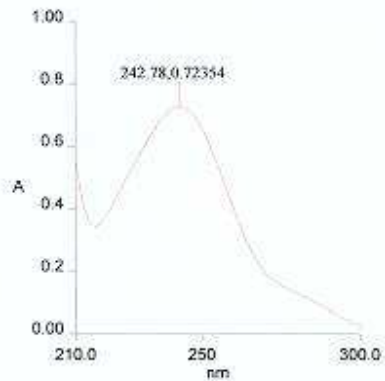


Lectura No.6

Analista: Doris Solis

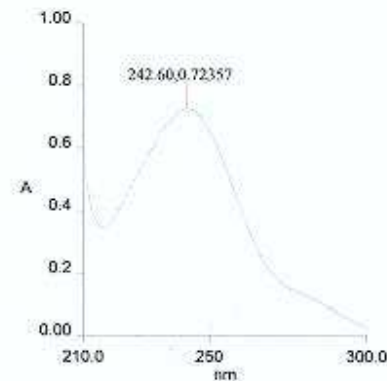
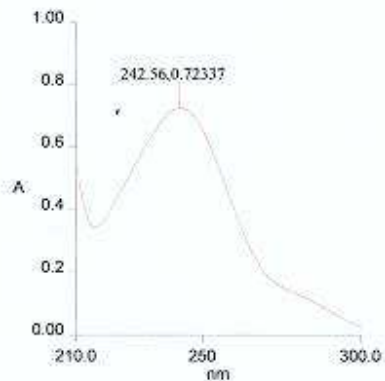
PRECISION

Vaso No. 2



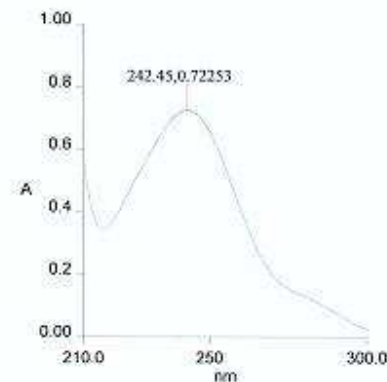
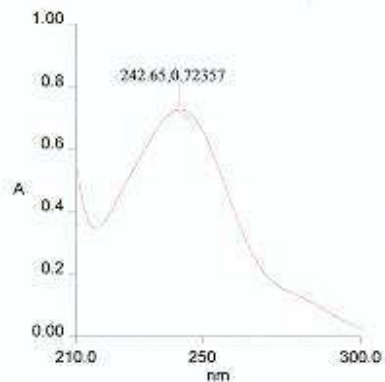
Lectura No. 1

Lectura No. 2



Lectura No. 3

Lectura No. 4



Lectura No. 5

Lectura No.6

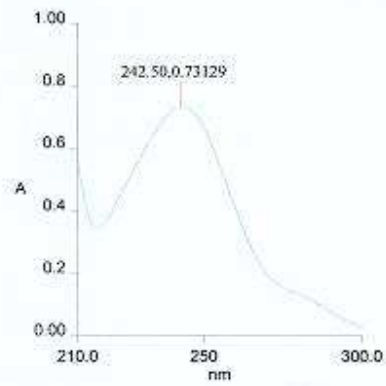
Analista: Doris Solis

PRECISION

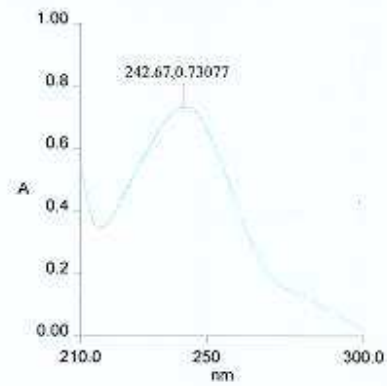
Gráfica No. 15

Time: 12:37:10 p.m
DISOLUCION ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg Date: 01/04/2009

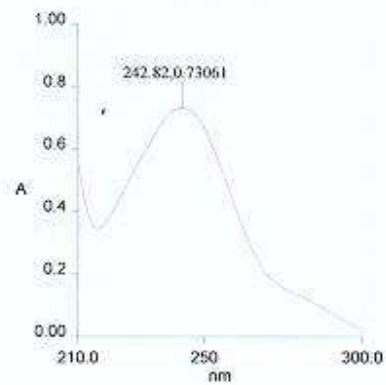
Vaso No. 3



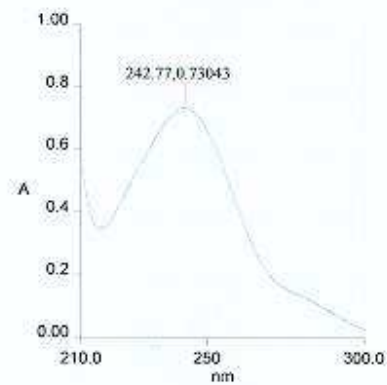
Lectura No. 1



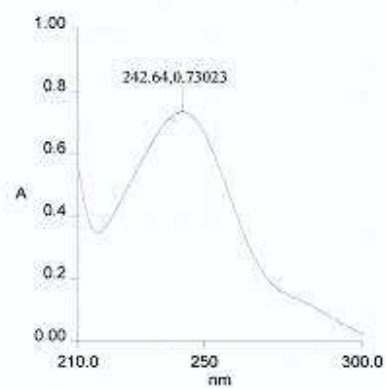
Lectura No. 2



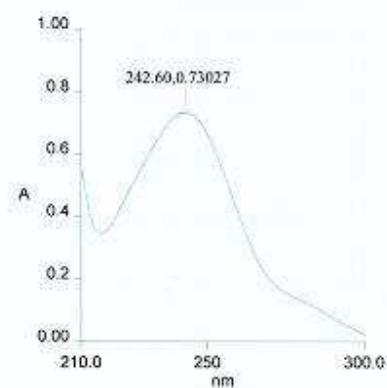
Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5



Lectura No. 6

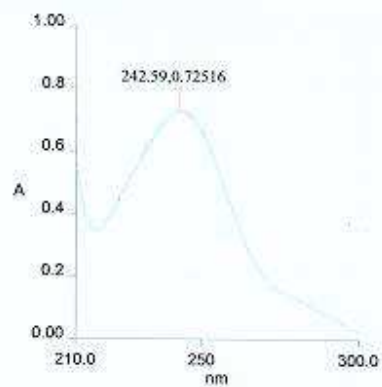
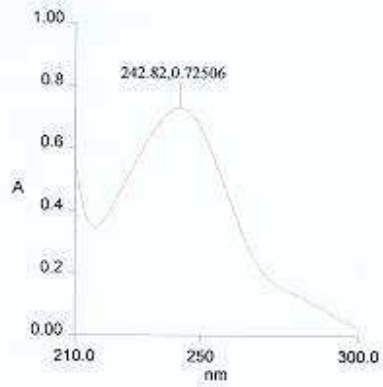
Analista: Doris Solis

PRECISION

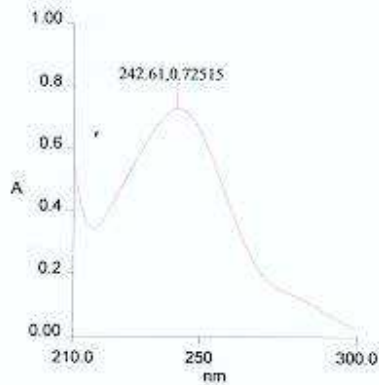
Gráfica No. 16

DISOLUCION ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg Date: 01/04/2009 Time: 12:35:40 p.m

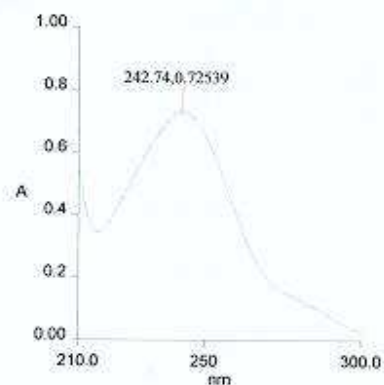
Vaso No. 4



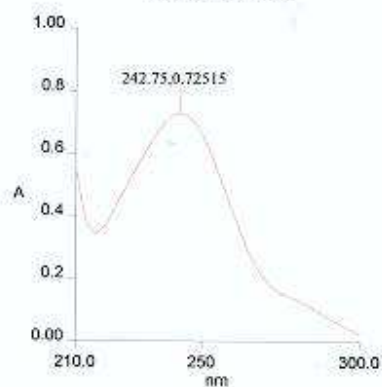
Lectura No. 1



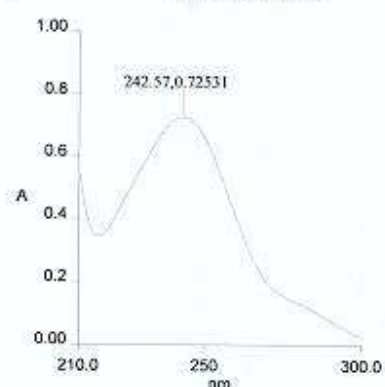
Lectura No. 2



Lectura No. 3



Lectura No. 4



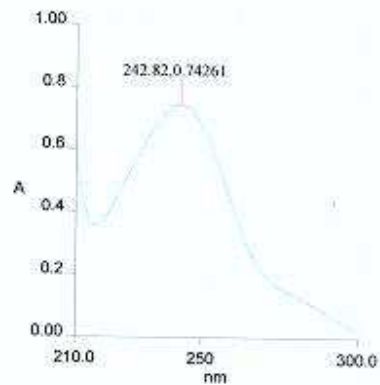
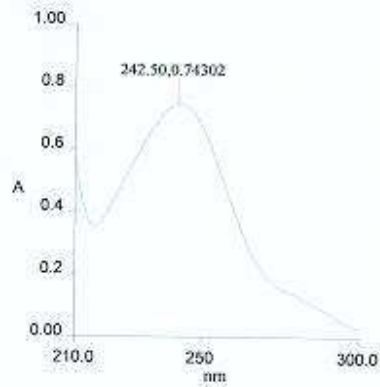
Lectura No. 5

Analista: Doris Solis

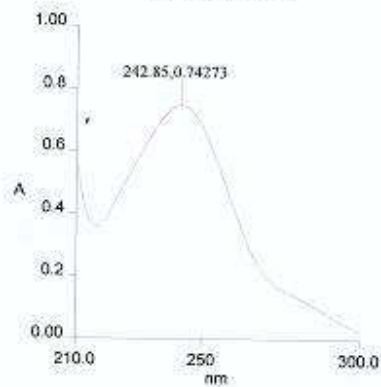
Lectura No.6

PRECISION

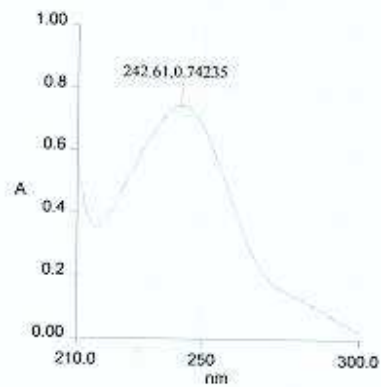
Vaso No. 5



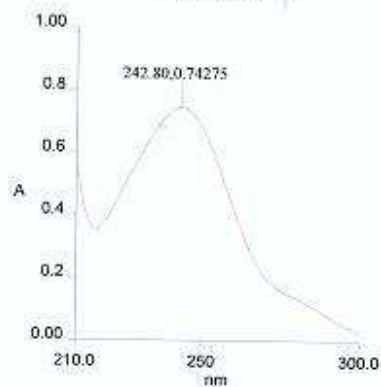
Lectura No. 1



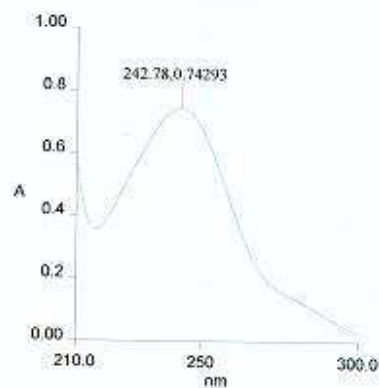
Lectura No. 2



Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5

Lectura No.6

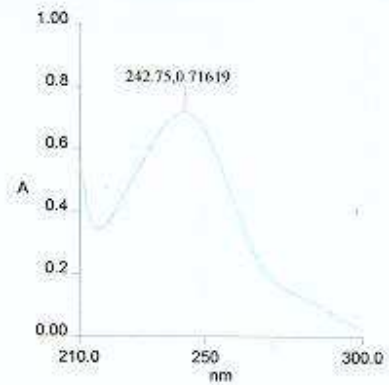
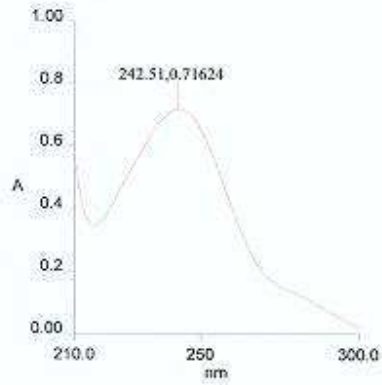
Analista: Doris Solis

PRECISION

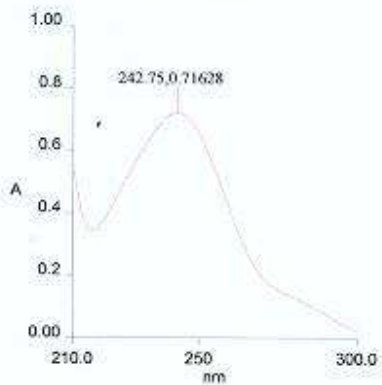
DISOLUCION ACETAMINOFEN TAB. MASTICABLES 80 mg

Time: 12:31:36 p.m
Date: 01/04/2009

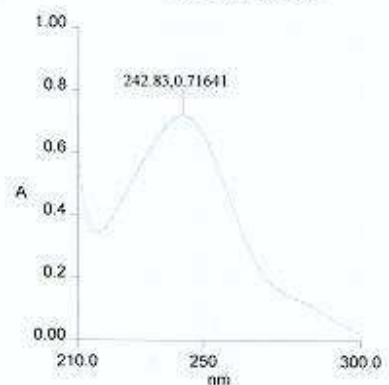
Vaso No. 6



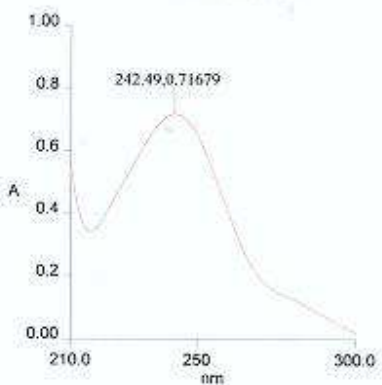
Lectura No. 1



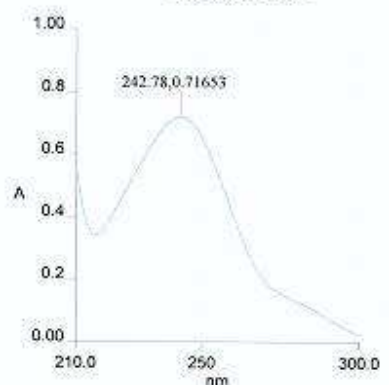
Lectura No. 2



Lectura No. 3



Lectura No. 4



Lectura No. 5

Lectura No.6

Analista: Doris Solis

PRECISION



INFORME DE TESIS



ANEXO NO. 4

ANÁLISIS ESTADÍSTICO



INFORME DE TESIS



LINEALIDAD

Tabla No. 26

Análisis de regresión:								
Resumen								
<i>Estadísticas de la regresión</i>								
Coefficiente de correlación múltiple	0.99940863							
Coefficiente de determinación	0.99881761							
R² ajustado	0.99866982							
Error típico	3044.35887							
Observaciones	10							
ANÁLISIS DE VARIANZA								
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	p			
Regresión	1	6.2634E+10	6.2634E+10	6757.98149	5.3469E-13			
Residuos	8	74144967.4	9268120.92					
Total	9	6.2708E+10						
	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Intercepción	-9321.4	2888.13241	-3.2274836	0.01210257	-15981.4496	-2661.35041	-15981.44959	-2661.350407
Concentración	20965016.8	255027.325	82.2069431	5.3469E-13	20376922.3	21553111.2	20376922.34	21553111.23
ECUACION:		y = 20965016.8x - 9321.4						
Tanto el coeficiente de determinación (r ²), como el Análisis de varianza, indican que la regresión (linealidad) es significativa (p<0.00001)								

EXACTITUD

PRUEBA DE t DE STUDENT PARA EVALUAR LA EXACTITUD

Ho: $\mu = 100\%$

Si el método es exacto, se espera que el promedio de los porcentajes de recuperación no difieran significativamente de 100%

One-sample t test

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]
var1	9	99.78414	.5095443	1.528633	98.60913 100.9592

Degrees of freedom: 8

Ho: mean(var1) = 100



INFORME DE TESIS



Ha: mean < 100 **Ha: mean ≈ 100** Ha: mean > 100
 t = -0.4236 t = -0.4236 t = -0.4236
 P < t = 0.3415 **P > |t| = 0.6830** P > t = 0.6585

La prueba indica que no existe diferencia significativa entre el promedio del % de recuperación obtenido y el 100% esperado (p=0.630)

Tabla No. 27

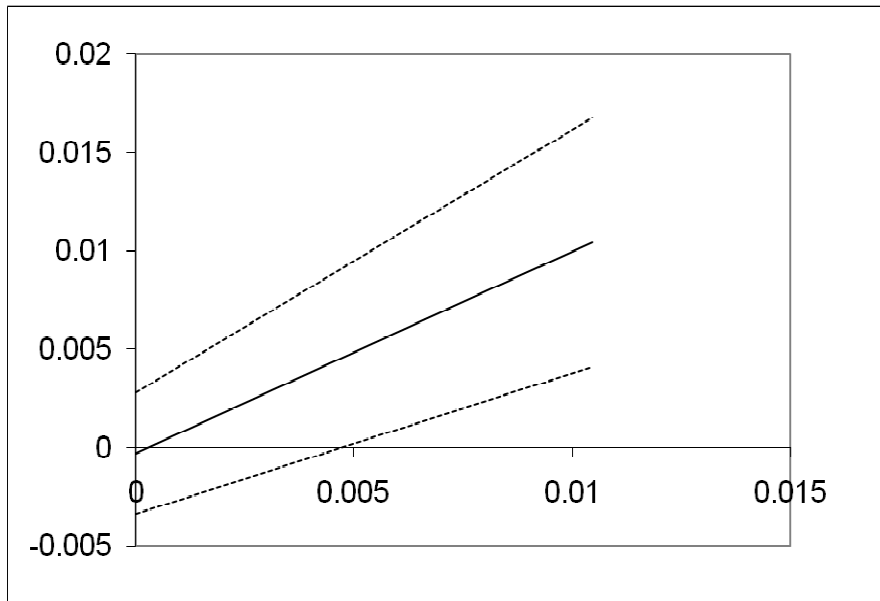
Regresión para determinar exactitud:										
Resumen										
<i>Estadísticas de la regresión</i>										
Coefficiente de correlación múltiple	0.94709323									
Coefficiente de determinación R ²	0.89698559									
R² ajustado	0.88226925									
Error típico	0.00016009									
Observaciones	9									
ANÁLISIS DE VARIANZA										
	<i>Grados de libertad</i>				<i>de cuadrado de los cua</i>		<i>F</i>		<i>p</i>	
Regresión	1	1.5622E-06	1.5622E-06	60.9516588	0.00010648					
Residuos	7	1.7941E-07	2.563E-08							
Total	8	1.7416E-06								
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>		
Intercepción	-0.00026953	0.00130611	-0.20635843	0.842384688	-0.00335799	0.00281894	-0.00335799	0.00281894		
Tomada (teórica)	1.02500198	0.13129009	7.80715433	0.000106481	0.71455047	1.33545348	0.71455047	1.33545348		
Ecuación:	y = 1.02500198x - 0.00026953									

Tabla No. 28

Análisis de pendiente y de intercepto (Prueba de t de Student):			
Pendiente:	Ho: b = 1.00	t	0.190433097
		p	0.854374817
La pendiente no difiere significativamente de 1.00 (p=0.8544)			
Intercepto:	Ho: a = 0.0	t	0.206358428
		p	0.421192344
El intercepto no difiere significativamente de 0.00 (p=0.4212)			
PRECISION			
Ecuación inferior (límite inferior)	y = 0.71455047x - 0.00335799		
Ecuación	y = 1.02500198x - 0.00026953		
Ecuación superior (límite superior)	y = 1.33545348 + 0.00281894		
Tomada (teórica)	L. inferior	Ecuación	L. superior
0	-0.00335799	-0.00026953	0.00281894
0.00944	0.00338736	0.00940649	0.01542562
0.009936	0.00374178	0.00991489	0.016088
0.009934	0.00374035	0.00991284	0.01608533
0.009964	0.00376179	0.00994359	0.0161254
0.010446	0.0041062	0.01043764	0.01676909
0.010426	0.00409191	0.01041714	0.01674238
0.010434	0.00409763	0.01042534	0.01675306



Gráfica No. 19



PRECISIÓN

t de Student entre analistas (prueba pareada)

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

Tabla No. 29

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
Media	98.3411129	97.7000178
Varianza	0.67197631	1.01206711
Observaciones	6	6
Coeficiente de correlación de Pearson	0.43349822	-
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1.01386485	
P(T<=t) una cola	0.17858399	
Valor crítico de t (una cola)	2.01504918	
P(T<=t) dos colas	0.35716797	
Valor crítico de t (dos colas)	2.57057764	

No existe diferencia significativa entre los analistas ($p=0.3572$), lo que indica que hay reproducibilidad (precisión entre analistas).



INFORME DE TESIS



ANEXO NO. 5

FOTOS



INFORME DE TESIS



Foto No. 1



Aquí se pueden observar las muestras utilizadas de Acetaminofén Solución Oral y el Estándar USP de Acetaminofén.

Foto No. 2



Aquí se pueden observar las muestras ya preparadas y diluidas, tanto de la Linealidad, la Exactitud y la Precisión. Colocadas en balones aforados y cristalería clase A (cristalería con certificado de calibración).

Foto No. 3





INFORME DE TESIS

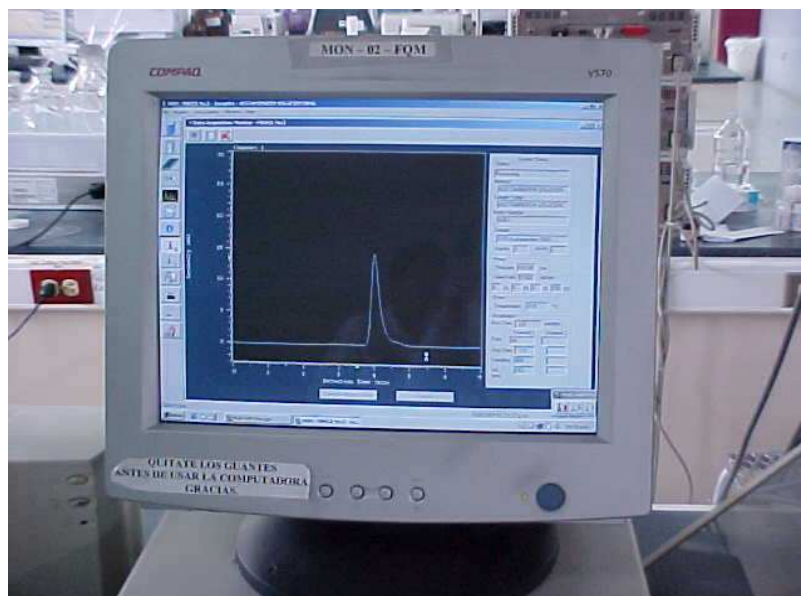


Foto No. 4



Este es un Cromatografo Liquido de Alta Resolución Merck Hitachi Lachrom Clásico utilizado en la Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral. En la foto No. 5 se puede observar el pico de absorbancia del Acetaminofén a una longitud de onda de 243 nm. (Ver graficas en Anexo 3)

Foto No. 5





INFORME DE TESIS



Foto No. 6



Estos son los aparatos de Disolución utilizados para la Disolución de Acetaminofén Tabletas masticables, donde según la metodología de la USP 32 se utilizó como aparato No. 2 (paletas), donde posteriormente las muestras fueron leídas y cuantificadas en un Espectrofotómetro UV/VIS (foto no. 8).

Foto No. 7





INFORME DE TESIS



Foto No. 8



Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer, utilizado para la cuantificación de Acetaminofén Tabletas Masticables. (Ver graficas Anexo 2 - Graficas de la 3- 18)



INFORME DE TESIS



Br. Dora María Navas Jáuregui
Autor

Licda. Julia García Bolaños
Asesor

Licda. Millie Cruz
Coasesor

Licda. Aylin Santizo
Revisor

Lic. Estuardo Serrano
Director de Escuela

Dr. Oscar Cobar
Decano