

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

“Validación del Método analítico de Cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe en el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–”.

Informe de Tesis
Presentado por

Susana Paola Carranza Díaz

Para optar al título de
Química Farmacéutica



Guatemala, Noviembre de 2010

JUNTA DIRECTIVA

| | |
|---|------------|
| Oscar Cóbar Pinto, Ph.D. | Decano |
| Lic. Pablo Oliva Soto, M.A. | Secretario |
| Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A. | Vocal I |
| Licda. Liliana 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 |

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guardarme siempre entre sus brazos y por ser la luz que alumbra mi camino. Gracias Dios mío, porque el día de hoy permites que se cumpla uno de mis anhelados sueños. Por favor, señor Jesús, se tú el guía en éste camino largo que estoy por emprender y no me desampares.

A la gloriosa Universidad de San Carlos de Guatemala, por brindarme la oportunidad de ser parte del grupo de profesionales que honra su nombre.

A mis profesores, por su empeño y dedicación para impartir sus clases y por todos los conocimientos brindados durante el estudio de mi carrera.

A LAPROMED, por abrirme sus puertas para realizar ésta investigación, gracias por la confianza depositada en mí persona.

A mis asesoras, Licda. Claudia Villeda y Licda. Lesbia Arriaza, por su paciencia y apoyo; que Diosito las bendiga y las guarde siempre.

A mi revisor, Lic. Julio Chinchilla, por todos sus consejos y apoyo incondicional para llevar a cabo esta investigación. Le agradezco la confianza y amistad que me ha brindado.

ACTO QUE DEDICO

A mi padre, Martín Carranza Orellana (†), por sembrar en mí el deseo de superación y ser la niña de sus ojos, papá misión cumplida; sé que desde el cielo celebra hoy conmigo éste triunfo. Espero que estés orgulloso de tus hijas que no te olvidamos.

A mi madre, Felisa Susana Díaz Santizo, por llenar mi vida de amor y alegría; soy lo que soy por ti mami, gracias por todos tus esfuerzos y sacrificios, hoy tienes acá tu recompensa. Gracias por creer en mí y ser una constante en mi vida. Eres lo más sagrado que tengo en ésta vida, gracias por guiarme y enseñarme los valores que hacen de mí una mujer de éxito.

A mi hermanita Raisa Valeska, por toda su dulzura y apoyo; éste triunfo que hoy comparto contigo deseo que lo atesores y que lo hagas tuyo. En unos años estaré en el público presenciando tu graduación como hoy estas tú acá conmigo, espero nunca defraudarte y estar contigo siempre que lo necesites, te quiero mucho mi Raisina; esfuércese que queremos una profesional más en nuestra familia.

A mi esposo, Justo David, por todo su amor, apoyo, comprensión, dulzura y por compartir conmigo todo éste proceso; mi cielo lindo gracias por inspirarme y por motivarme a ser una mejor persona todos los días, te amo. Gracias por ser la luz de mi vida y llenarla de alegría. Nos espera una vida junta de muchos triunfos mi mesho, el cielo es el límite.

A mi Mamita Tancho, por llenar mi vida de amor, cariño, ternura y de dulces recuerdos; ojalá mis hijos tengan la dicha de visitarte en Santa Bárbara y que les muestres lo lindo que es la vida contigo.

A mis tías, tíos y primos por compartir éste triunfo conmigo.

A mi tía Gloria, muchas gracias por abrirme siempre las puertas de su casa y recibirme como una hija. No olvido toda la dulzura que me ha brindado desde que tengo memoria, gracias por compartir éste triunfo conmigo, que Diosito la bendiga y la guarde siempre.

A mis primos, José David, Carmelo Juan, Ana Gabriela, Gloria María y David Rolando por estar siempre conmigo en las buenas, en las malas, en mis alegrías y en las tristezas, gracias por su cariño, los quiero mucho.

A mi tío Carlos, por su amor y ternura. Gracias por recibirme siempre con los brazos abiertos cuando he necesitado de usted.

A Fidelina, por su cariño incondicional; nos ha unido siempre un lazo muy fuerte de amistad, muchas gracias por enseñarme lo que significa ser familia; término que va más allá de compartir la misma sangre por nuestras venas. Te quiero mucho y siempre te tengo en mi corazón.

A mis suegros, Don Justo y Doña Mari, por brindarme todo su apoyo y cariño incondicional. Muchas gracias por su dulzura y por considerarme una hija más, espero no defraudarles nunca.

A mis amigas y amigos, en especial a: Marylin, Evelyn, Bárbara, Vicky, Melina, Alex y Marco que nunca me han fallado y que siempre han estado conmigo cuando más los he necesitado, gracias por su apoyo incondicional.

ÍNDICE

| | |
|--------------------------------|--------|
| 1. Resumen | 1 |
| 2. Introducción | 2 |
| 3. Antecedentes | 3-19 |
| 4. Justificación | 20 |
| 5. Objetivos | 21 |
| 6. Hipótesis | 22 |
| 7. Materiales y métodos | 23-36 |
| 8. Resultados | 37-54 |
| 9. Discusión de Resultados | 55-58 |
| 10. Conclusiones | 59 |
| 11. Recomendaciones | 60 |
| 12. Referencias Bibliográficas | 61-63 |
| 13. Anexos | 64-102 |

I. RESUMEN:

Las buenas prácticas de laboratorio requieren que todo método de análisis esté validado para garantizar que los resultados obtenidos que han sido documentados son confiables y seguros.

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo primordial de validar el método analítico de cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe en el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–; a través de la confirmación de los parámetros de desempeño de Linealidad, Precisión, Exactitud y Robustez, garantizando que los resultados obtenidos son confiables y que el método cumple con dichos parámetros siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en ésta investigación.

La hipótesis propuesta para dicho trabajo, establece que la validación del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol cumple con los parámetros anteriormente mencionados. Ésta hipótesis se confirmó a través del análisis de tres lotes de Clorhidrato de ambroxol jarabe, preparando las muestras según la metodología propuesta para cada parámetro de desempeño, obteniendo resultados estadísticos que permitieron afirmar que el método es lineal, preciso, exacto y robusto. El análisis estadístico incluyó cálculos de ecuación de regresión lineal, coeficiente de correlación, coeficiente de determinación, desviación estándar, coeficiente de variación, test de Cochran, test de t de student, análisis de varianzas e intervalos de confianza del 95 %.

Con ésta información se concluye que el método evaluado, es válido y que puede utilizarse como un método analítico en el Laboratorio de Producción de Medicamentos, ya que cumple con las características necesarias para cuantificar el Clorhidrato de ambroxol Jarabe.

II. INTRODUCCIÓN:

La validación como tal, se define como la obtención de pruebas con apego a las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura de que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema produce en realidad el resultado previsto (1).

La validación de un proceso analítico, se define como el procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas, para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Esto implica, la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales (2).

Actualmente, el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–, de la Universidad de San Carlos de Guatemala –USAC–, está implementando la producción de un jarabe a base de Clorhidrato de ambroxol, el cual no cuenta con un método analítico de cuantificación validado. La Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG/ISO IEC17025 (3), indica los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, en donde se señala que el laboratorio debe validar los métodos no normalizados, métodos que desarrolla o diseña, para confirmar que los métodos son aptos para el uso previsto.

Con este proyecto de investigación, se pretende realizar una validación del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe tomando como referencia la USP Mexicana 2004.

III. ANTECEDENTES

A. RESEÑA:

La validación del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe, se implementará en el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED– de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con el propósito de contar con un método analítico de cuantificación validado.

Anteriormente en LAPROMED se han llevado a cabo tesis de validación entre las cuales se encuentran la tesis de Mayra Rabanales sobre la “Validación del proceso de mezclado, llenado y estabilidad de las Sales de Rehidratación Oral con glucosa anhidra granulada en el Laboratorio de Producción de medicamentos –LAPROMED–” en el año 2000; la tesis de Lissy Cruz, sobre “Validación del material de empaque de Sales de Rehidratación Oral, utilizado actualmente por el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.” en el 2001; y por último la tesis de Yadira Navas en el año 2007, sobre “Validación del método de análisis para material de empaque de Sales de Rehidratación Oral, utilizado en la actualidad por el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.

B. VALIDACION: Es el establecimiento de la evidencia documental que un procedimiento analítico conducirá con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos (1).

- 1. Validación de un procedimiento analítico:** Es un procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales (2).

La validación debe ser tan exhaustiva como sea necesario para responder a las necesidades de la aplicación en cuestión. El laboratorio deberá validar:

- a. Métodos no estandarizados.
- b. Métodos diseñados o desarrollados internamente.
- c. Métodos estandarizados usados fuera del alcance propuesto.
- d. Ampliaciones o modificaciones de métodos estandarizados.
- e. Cuando se realizan algunos cambios en los métodos no estandarizados ya validados, se debe documentar la influencia de tales cambios y, si es necesario, se debe efectuar una nueva validación).

La validación incluye:

- a. Especificación de los requisitos.
- b. Determinación de las características de los métodos.
- c. Verificación de que se pueden cumplir los requisitos al usar el método.
- d. Declaración de su validez.

La técnica para determinar el funcionamiento de un método puede ser una de las siguientes o su combinación:

- a. Calibración con el uso de normas o materiales de referencia.
- b. Comparación de resultados obtenidos por otro(s) método(s).
- c. Comparaciones entre laboratorios.
- d. Evaluación sistemática de los factores que influyen en los resultados.
- e. Evaluación de la incertidumbre de los resultados basados en el conocimiento científico de los principios teóricos del método y la experiencia práctica.

El laboratorio deberá registrar:

- a. Los resultados obtenidos.
- b. El procedimiento usado para la validación.
- c. Una declaración acerca de que el método se ajusta al uso propuesto (4).

2. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS QUE SON OBJETO DE VALIDACIÓN:

- a. **Categoría I:** Pruebas cuantitativas del contenido del (los) principio(s) activo(s), constituyen procedimientos químicos ó microbiológicos que miden el (los) analito(s) presente(s) en una muestra determinada.
- b. **Categoría II:** Pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas. Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado. Cualquiera de los dos pretende reflejar las características de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba de cumplimiento de límite.
- c. **Categoría III:** Pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo la prueba de disolución. Las características de la validación son diferentes a las de las otras pruebas, aunque las pueden incluir.
- d. **Categoría IV:** Pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de referencia, por ejemplo espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas.
- e. **Pruebas microbiológicas:** Aquellas que se realizan para asegurar la calidad microbiana del medicamento (2).

3. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO:

Los valores que se pueden obtener de los métodos validados, son:

- a. Linealidad y rango.
- b. Precisión (Límite de repetibilidad y reproducibilidad).
- c. Robustez contra influencias externas.
- d. Exactitud y sesgo (4).

4. DOCUMENTACIÓN QUE DEBE PRESENTARSE PARA LA REVISIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS VALIDADOS:

Para la revisión por parte de la Autoridad Reguladora de los métodos validados, el informe del estudio de validación debe contener la siguiente documentación:

- a. Descripción detallada del procedimiento analítico.
- b. Descripción de los parámetros de desempeño evaluados.
- c. Evaluación y cálculos estadísticos para la verificación de los parámetros de desempeño.
- d. Datos instrumentales necesarios para la justificación de los resultados (Gráficos).
- e. Resumen de los resultados de la validación obligatoriamente en idioma español/castellano.
- f. Conclusiones deben ser obligatoriamente entregadas en idioma español/castellano.
- g. Certificados de calibración o calificación de los equipos.
- h. Certificado(s) de análisis del (los) estándar(es), patrón(es) o material de referencia (2).

5. PARÁMETROS A EVALUAR EN UNA VALIDACIÓN ANALÍTICA PARA UN MÉTODO DE ANÁLISIS:

- a. **LINEALIDAD Y RANGO:** La linealidad es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito de la muestra dentro de un rango establecido.

Siempre que sea posible se buscará una respuesta de tipo lineal que facilite su trazado, interpolación e interpretación.

El rango se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior del analito para el cual se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito.

- i. **Ámbito de aplicación:** Según la guía ICH Q2A se recomienda estudiar la linealidad en todos los métodos de tipo cuantitativo:
 - Valoración del contenido del principio activo.
 - Uniformidad de contenido.
 - Velocidad de disolución.
 - Cuantificación de impurezas.

- ii. **Valoración del contenido de principio activo:** En producto terminado, se suele evaluar la linealidad de los métodos en un rango amplio, las ICH recomiendan del 80.0 – 120.0 % de la concentración de las muestras.

- iii. **Procedimientos de determinación de linealidad:** Para evaluar la linealidad existen unos criterios mínimos aplicables a cualquier procedimiento:
 - Dentro del rango establecido se recomiendan estudiar al menos 5 niveles de concentración y analizarlas por triplicado ($K = 5$, n° de réplicas = 3) con un total de 15 determinaciones ($n = 15$). Por ejemplo 80, 90, 100, 110 y 120 % del contenido teórico.
 - Para realizar los análisis se recomienda hacer pesadas independientes (por ejemplo 15 pesadas), ya que así se elimina es posible error sistemático que se podría arrastrar partiendo de una sola pesada y realizando diluciones.

- Las muestras a analizar pueden prepararse a partir de estándares de analito de concentración conocida, o bien a partir de n lotes de concentración conocida de la especialidad terminada. De esta última forma el estudio de linealidad puede servir también para evaluar la recuperación y con ella la exactitud del método.

Con los resultados del estudio de linealidad se prepara una tabla relacionando las concentraciones x (Variable independiente o predictiva) y la respuesta y (Variable dependiente, por ejemplo áreas, alturas, absorbancias, etc.). La relación entre ambas variables se expresa matemáticamente como una recta de regresión del tipo $y = bx + a$, obtenida por un método de ajuste (por lo general el de mínimos cuadrados).

La representación gráfica de la recta de regresión en un sistema de coordenadas junto con los valores experimentales, permite visualizar la bondad del ajuste. Si la recta no pasa cerca del origen de coordenadas significa que el método a evaluar está afectado por un error sistemático por defecto o por exceso en el intervalo estudiado. Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta significan que la linealidad no es buena o bien que el error experimental es importante y los intervalos de confianza serán amplios (5).

iv. Evaluación estadística de la linealidad:

- Preparar en forma independiente soluciones del estándar al menos a 5 niveles de concentración, las cuales deben encontrarse dentro de los intervalos establecidos para cada tipo de análisis.

- Este procedimiento debe repetirse en forma independiente por lo menos 3 veces (3 lotes diferentes de la misma muestra), para evaluar estadísticamente la regresión lineal del sistema.
 - Con estos datos se grafica la respuesta de la medición, contra la concentración del analito. Se verifican datos con comportamiento atípico mediante mediciones adicionales.
 - Realizar un análisis de varianza de la regresión lineal.
 - Calcular el coeficiente de regresión (calcular por lo menos tres curvas independientes).
 - Calcular y graficar los residuos (valor real de la concentración – el cálculo por la ecuación de regresión para cada valor de X).
- v. Criterios de aceptación:** Se confirma linealidad si se cumplen los siguientes criterios:
- Homocedasticidad (la varianza es constante para todas las concentraciones).
 - El Análisis de varianza de la regresión lineal debe demostrar:
 - Paso del intercepto por cero, mediante un test de t o mediante el intervalo de confianza con un α de 0.05.
 - Desviación no significativa con respecto a la regresión.
 - Distribución aleatoria de los residuos (Tendencias sistemáticas son indicativas de no linealidad).
 - El coeficiente de correlación de la regresión lineal debe encontrarse entre 0.98 y 1.00, el coeficiente de correlación al cuadrado debe ser mayor de 0.995 (6).

Generalmente no es necesario efectuar todos los tests estadísticos relacionados con la linealidad. Los de carácter obligatorio son:

- Ecuación de la recta de regresión.
- Representación gráfica de la recta de regresión y de los resultados experimentales.
- Coeficiente de correlación r y de determinación de r^2 .
- Características de la varianza residual.
- Análisis de varianza (significación de la pendiente y linealidad) comprobando que se cumplen los supuestos de homogeneidad de varianzas (5).

b. PRECISIÓN: La precisión expresa el grado de concordancia entre una serie de medidas de toma múltiples a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. La procedencia de las muestras destinadas al estudio de precisión pueden ser muestras reales o preparadas en el laboratorio.

El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad o el más-menos del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos. Los factores susceptibles de influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc.) de aquí la importancia de la precisión.

La precisión engloba diferentes tipos de estudios:

Repetibilidad: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (por un mismo analista, con los mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un período de tiempo corto.

Precisión intermedia: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) en un mismo laboratorio.

Reproducibilidad: Estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

i. **Ámbito de aplicación:** Según la guía ICH Q2B el estudio de la precisión se debe realizar únicamente para la determinación cuantitativa de principios activos y cuantificación de impurezas. Por lo tanto, la evaluación de la precisión no es necesaria ni en el ensayo de identificación ni en el test límite de purezas.

ii. **Procedimientos de determinación de la Precisión:**

- **Repetibilidad del método:** El ensayo de repetibilidad se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio (preparación de la muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo analista.

Se proponen dos alternativas para realizar este estudio:

- Un mínimo de 6 muestras a la concentración nominal.
- Un mínimo de 3 muestras a tres niveles de concentración cubriendo el intervalo especificado (un total de 9 muestras).

La estimación de la repetibilidad del método se realiza con el cálculo del coeficiente de variación de las respuestas obtenidas y

con los intervalos de confianza a cada nivel de concentración estudiado.

El coeficiente de variación permite deducir el número de replicados que se debe realizar en el método de ensayo para un determinado intervalo de aceptación.

- **Reproducibilidad:** Estudia la variabilidad de los resultados inter-laboratorios. El objetivo de este estudio es verificar que el método de análisis proporciona los mismos resultados en diferentes laboratorios. La reproducibilidad de dicho método de análisis se determina analizando una serie de alícuotas procedentes de lotes homogéneos en diferentes laboratorios, diferentes analistas y utilizando condiciones operativas y ambientales distintas pero siguiendo el procedimiento descrito en el método.

Estas condiciones operativas y ambientales diferentes pueden ser:

- Humedad y Temperatura diferente.
- Analistas con diferentes experiencias.
- Instrumentos de características diferentes.
- Variaciones de condiciones instrumentales (pH).
- Variaciones de detalles experimentales no especificadas en el método.

Este estudio es necesario si se pretende realizar el método en diferentes laboratorios o si se requiere estandarizar un procedimiento analítico, por ejemplo para incluirlo en farmacopeas (5).

iii. **Evaluación estadística de la Precisión y Criterios de aceptación:**

Las dos medidas más comunes de la precisión, que generalmente se define en términos de la desviación estándar o el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) son la repetibilidad y la reproducibilidad. La repetibilidad, que es la precisión más pequeña esperada, da una idea de la variabilidad que se espera cuando un método es aplicado por un solo analista en un equipo durante un periodo corto (análisis por duplicado). En el otro extremo, la reproducibilidad, que representa la variabilidad que se obtiene cuando una muestra es analizada por varios laboratorios tiene un valor más amplio. La precisión intermedia es más útil en casos específicos; se obtiene cuando se evalúa la reproducibilidad entre analistas en un mismo laboratorio.

La repetibilidad y la reproducibilidad generalmente dependen de la concentración del analito y por lo tanto se deben determinar para diferentes concentraciones, estableciendo, cuando sea relevante, la relación entre la concentración y el coeficiente de variación.

A partir de la desviación estándar de repetibilidad, se permite al analista saber si la diferencia entre análisis duplicados es significativa, en las respectivas condiciones (7).

- c. **EXACTITUD:** La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero un valor de referencia y el valor experimental encontrado (5).

La exactitud, que es la cercanía de un resultado al valor verdadero, se evalúa en la validación por comparación con los valores de referencia de un material caracterizado (material de referencia, MR), o con valores tomados

de otro método caracterizado. Los valores de referencia deberían ser trazables a las normas internacionales; los materiales de referencia certificados (MRC) generalmente se aceptan como trazables. Es ideal que el MR sea de matriz natural lo más similar posible a las muestras de interés. En caso contrario los MR pueden ser, preparados por adiciones de MRC puro u otros de pureza y estabildades adecuadas a muestras típicas, ó muestras típicas bien caracterizadas, controladas para verificar su estabilidad y pasadas por un proceso interno de control de calidad.

Usualmente la aplicación de un método involucra un sesgo combinado: el sesgo del método que surge de errores sistemáticos inherentes a él (sin importar el laboratorio que aplica el método), y el sesgo del laboratorio que surge de errores sistemáticos característicos del laboratorio. El sesgo obtenido en una validación debe compararse con el sesgo reportado para el método y el obtenido por varios laboratorios que utilicen el mismo método.

- i. **Ámbito de Aplicación:** Según la guía ICH Q2A, debe ensayarse la exactitud en métodos de análisis para la valoración en materia prima y en producto acabado y en métodos de análisis de cuantificación de impurezas.

Según la USP 24 también debe evaluarse la exactitud en los métodos de análisis de estudios de velocidad de disolución.

- ii. **Procedimientos para determinar la Exactitud:** La exactitud debe demostrarse en todo el rango especificado para el método analítico. Se recomiendan un mínimo de 9 determinaciones sobre 3 niveles de concentración del analito que cubran el rango especificado, por ejemplo 3 determinaciones por 3 niveles de concentración que podrían ser la concentración central y las concentraciones en los extremos del

rango. En función del tipo de método a validar y de caso concreto se deberá tener en cuenta el rango de concentración de trabajo:

- **Riqueza de un principio activo en materia prima ó en producto acabado (80.0 – 120.0 %):** Cuando se trabaja con muestra, se determina por replicado el contenido promedio del analito en la muestra con el método a validar; una vez conocido el contenido promedio se procede a enriquecer las muestras con estándar. Para preparar las soluciones, se mantiene constante la cantidad de muestra tomada y se agregan cantidades variables del estándar, para obtener las diferentes concentraciones.

Se preparan soluciones de muestras enriquecidas a tres niveles de concentración diferentes, valores sugeridos en la literatura son 80.0, 100.0 y 120.0 % de la concentración normal de trabajo del método. Se recomienda preparar 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 contenido del principio activo en la muestra antes de que se adicionara el estándar.

Los porcentajes de recuperación obtenidos, deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método o del sistema.

Al graficar la respuesta del ensayo (cantidad total encontrada), contra la cantidad de analito adicionada, la pendiente debe ser mayor o igual a 0.95.

- **Impurezas:** desde el 50.0 % del nivel de especificación hasta el 120.0 % de dicho nivel (7).
- iii. **Evaluación estadística de la Exactitud:** La exactitud se expresará como porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra o como diferencia entre la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza (5).
- d. **ROBUSTEZ:** La robustez de un método analítico es la medida de su capacidad para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros, proporcionando idea de su fiabilidad o “estabilidad” durante su empleo en rutina. Es por tanto la capacidad que demuestra el procedimiento de análisis para proporcionar resultados válidos en presencia de pequeños cambios respecto de las condiciones descritas en el método, susceptibles de producirse durante su utilización (5).

El ensayo de robustez puede realizarse interlaboratorio para estudiar el comportamiento de un procedimiento analítico cuando se hacen pequeños cambios en las condiciones ambientales y/o de operación. Involucra variaciones deliberadas en el método. También permite identificar aquellas variables que provocarán cambios significativos y que deberían ser controladas más estrictamente. Los ensayos de robustez generalmente se aplican para investigar los efectos sobre la precisión y la exactitud.

La robustez también puede definirse como la determinación de la capacidad del método para no verse afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en las condiciones de trabajo, se logra al considerar aquellas condiciones que, durante el desarrollo del método, se vio pueden afectar los

resultados. El procedimiento es específico para cada caso; por ejemplo, para un método de análisis por cromatografía líquida de alta resolución, se evalúa el efecto de pequeñas variaciones en el tiempo de extracción del analito, durante la preparación de las muestras, y en el pH y la composición de la fase móvil, así como la columna y las condiciones de temperatura y flujo, durante el trabajo cromatográfico; también se evalúa el centrifugar las muestras en vez de filtrarlas, el usar diferentes tipos de filtros y la estabilidad de las soluciones patrón y de muestra.

- i. **Documentación:** Registrar los resultados y cálculos de la media y el parámetro de dispersión escogido (desviación estándar, desviación estándar relativa (coeficiente de variación ó intervalos de confianza) de cada una de las evaluaciones realizadas, al variar condiciones.

El resultado que se informa para cada evaluación de cambio de condiciones es la diferencia de la media obtenida bajo una y otra condición, acompañada de su significancia estadística; lo mismo, para la diferencia en el parámetro de dispersión escogido.

- ii. **Criterio de Aceptación:** Según el tipo de análisis y su propósito específico, se establece un criterio acorde a un valor máximo aceptable para la diferencia entre medias de cada evaluación, a un nivel de probabilidad estadística dado; lo mismo para el parámetro de dispersión escogido (8).

C. **MONOGRAFIA DEL CLORHIDRATO DE AMBROXOL:**

El clorhidrato de ambroxol es un fármaco empleado para el tratamiento de procesos bronquiales, por su capacidad para favorecer la expectoración (9).

1. **Nombres:** Clorhidrato de ambroxol, Clorhidrato de trans-4-(2-amino-3,5-dibromobencilamino) ciclohexanol.
2. **pH:** Se encuentra entre 4.5 – 6.0.
3. **Conservación:** En envases cerrados y protegidos de la luz (10).
4. **Farmacología del Clorhidrato de ambroxol:** El ambroxol, en su forma de clorhidrato, es un fármaco que cae en la categoría de los medicamentos mucolíticos, también conocidos como expectorantes.

El ambroxol es un fármaco útil en procesos bronquiales donde se requiere la expulsión de flemas para evitar el estancamiento del moco espeso en los alveólos pulmonares. Actúa sobre los neumocitos tipo II estimulando la síntesis y la secreción de la sustancia surfactante. Además interviene coadyuvando en la producción y el transporte de la secreción bronquial. Esto permite disminuir la secreción bronquial y favorecer la permeabilidad de la luz alveolar y bronquial.

El clorhidrato de ambroxol tiene conocidas acciones secretolítica, secretora y estimulante del sistema surfactante a nivel bronquial lo que permite disminuir la adhesividad de las secreciones de moco y mejora el transporte de estas secreciones a nivel bronquial.

El clorhidrato de ambroxol, se absorbe completamente después de su administración por vía oral y la concentración máxima en plasma se logra aproximadamente dos y media horas después. El nivel plasmático eficaz (30 ng/mL) se alcanza con seguridad después de tres tomas de 30 mg/día.

El clorhidrato de ambroxol tiene una vida media de 9 a 10 horas; se elimina en un 90.0 % por vía urinaria y biliar por dos metabolitos conjugados con ácido glucurónico y un 10.0 % como fármaco sin modificar. La fluidificación de las secreciones y la

facilitación en su eliminación por el efecto mucocinético incrementa la capacidad de depuración de las secreciones mucopurulentas de las vías aéreas (11).

El ambroxol se metaboliza en el organismo humano formando varios metabolitos que carecen de efecto tóxico y que se eliminan vía renal.

Dado que el ambroxol es una sustancia que irrita la mucosa gástrica, se recomienda no tomarlo si se padece gastritis o úlcera péptica. Las mujeres embarazadas o en período de lactancia deben evitar su consumo.

El ambroxol puede administrarse ya sea en solución, jarabe, gotas pediátricas o tabletas.

El ambroxol puede usarse con antibióticos orales para el tratamiento de infecciones bronquiales. No hay interacciones peligrosas si se administra junto a bronquiolíticos, diuréticos o corticosteroides (10).

IV. JUSTIFICACIÓN:

Debido a las exigencias de garantizar la calidad de los productos farmacéuticos, todos los laboratorios que se dedican a la fabricación, distribución, análisis y venta de los mismos, deben demostrar que sus métodos analíticos proporcionan resultados correctos (2).

Hoy en día, se requieren métodos analíticos fiables para cumplir con las normativas nacionales e internacionales en todas las áreas de análisis. Por lo tanto, todo laboratorio de producción y de análisis, deben tomar las medidas pertinentes para asegurarse de que es capaz de producir, y de que produce efectivamente productos con el nivel necesario de calidad. Dichas medidas, comprenden la utilización de métodos de análisis validados y utilización de procedimientos internos de control de calidad estandarizados que garanticen que lo que se está produciendo, cumple totalmente con todos los parámetros de calidad que le permiten competir en un mercado amplio y desafiante.

Así, la validación de métodos, es un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables.

Actualmente, LAPROMED está implementando la fabricación de un jarabe a base de Clorhidrato de Ambroxol, el cual no cuenta con un Método analítico de Cuantificación validado en el Laboratorio de Control de Calidad para su respectivo análisis.

Es por eso y con el afán de aportar información científica y confiable acerca del uso del Método analítico de Cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe la validación del método cumplirá con los parámetros de linealidad, exactitud, precisión y robustez, haciendo que este tipo de validaciones sean fiables.

V. OBJETIVOS:

A. OBJETIVO GENERAL: Validar el método analítico de cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe, para el Laboratorio de Control de calidad del Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Determinar la linealidad del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe para el Laboratorio de Control de calidad del Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.
2. Establecer la precisión y exactitud del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe para el Laboratorio de Control de calidad del Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.
3. Establecer la robustez del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe para el Laboratorio de Control de calidad del Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.
4. Confirmar por medio del análisis de linealidad, precisión, exactitud y robustez, que el método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe es válido para el Laboratorio de Control de calidad del Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED–.

VI. HIPÓTESIS:

La validación del método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol cumple con los parámetros de linealidad, precisión, exactitud y robustez.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS:

A. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

1. **UNIVERSO:** Para el desarrollo del presente proyecto se define como universo al Clorhidrato de ambroxol jarabe producido en el Área de Líquidos y Semisólidos del Laboratorio de Producción de medicamentos –LAPROMED–.
2. **MUESTRA:** Tres lotes de Clorhidrato de ambroxol jarabe producidos en el Laboratorio de Producción de medicamentos –LAPROMED–.
3. **DISEÑO DE ESTUDIO:** Es un estudio experimental transversal de tendencia el cual consiste en que el investigador desea comprobar los efectos de una intervención específica, de modo que el investigador determina las características principales del diseño antes de obtener un solo dato; reúnen datos en dos o más momentos. Este tipo de estudio investiga un particular fenómeno en curso del tiempo, con base en la toma repetida de diferentes muestras provenientes de la misma población general.
4. **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**
El análisis estadístico de la investigación se realizó para cada parámetro independiente el uno del otro. La exactitud se evaluó a través de los resultados reportados por cada lote, a tres concentraciones de referencia (analizadas por triplicado); obteniéndose así 48 corridas, de las cuales se hizo un análisis estadístico individual y global que incluyó el cálculo de porcentaje de recuperación que se reportó para cada muestra de jarabe y para cada lote, utilizándose medidas de tendencia central, dispersión, análisis de regresión lineal y coeficiente de correlación.

La robustez del método se evaluó a través del análisis de desviación estándar y análisis estadístico factorial fraccional reportado para los tres lotes de jarabe, analizándose un total de 24 de corridas.

La evaluación de la linealidad se realizó por medio del análisis global de varianza de la regresión lineal de 60 corridas reportadas por los tres lotes de jarabe. Se preparó las muestras de jarabe por triplicado a 5 concentraciones de referencia y se realizó el cálculo de los coeficientes de determinación y correlación; además, se evaluó el coeficiente de variación de la respuesta del método, relación lineal y pendiente.

La estimación de la precisión intermedia se realizó a través de los resultados reportados por cada lote, tomando como referencia tres concentraciones de referencia (analizando muestras por triplicado); obteniéndose así 48 corridas, de las cuales se cálculo del Coeficiente de Variación global y se hizo un análisis ANOVA de dos vías, en el cual no se rechazó la H_0^* , determinando que no existe diferencia entre las variables (día, reactivos, equipos, analistas, etc.), que afecten la precisión del método.

Se utilizó como apoyo para el análisis estadístico, el empleo de un software proporcionado por LAPROMED (Software SCJ, de Asesoría y Consultoría SCJ).

B. MATERIALES Y EQUIPO:

1. Equipo de laboratorio:

3 Balanzas analíticas certificadas y calibradas.

Modelo: OHAUS.

Serie: AP2105.

1 Espectrofotómetro UV-Visible certificado y calibrado

Modelo: SPECTRONIC 21 UV.

Serie: 3420057007.

- 1 Celda de cuarzo de 1.00 cm de diámetro.
- 1 Horno THELCO, Modelo 28.
- 1 Bomba de vacío.
- 1 Campana de extracción.
- 1 Cronómetro.

2. Equipo de cristalería:

- 1 Gradilla para ampollas de decantación.
- 2 Pinzas para bureta.
- 2 Soportes Universales.
- 2 Buretas de 10.0 mL Clase "A" con una precisión del 0.02%.
- 60 Balones aforados de 100 mL Clase "A".
- 6 Balones aforados de 25 mL Clase "A".
- 6 Balones aforados de 50 mL Clase "A".
- 6 Balones aforados de 200 mL Clase "A".
- 6 Balones aforados de 250 mL Clase "A".
- 15 Balones aforados de 1000 mL Clase "A".
- 24 Ampollas de decantación de 250 mL.
- 4 Ampollas de decantación de 100 mL Clase "B".
- 2 Erlenmeyers de 500 mL Clase "B".
- 72 Erlenmeyers de 250.0 mL Clase "B".
- 10 Erlenmeyers de 125.0 mL Clase "B".
- 2 Beakers de 1000 mL Clase "B".
- 2 Probetas de 25.0 mL Clase "B".
- 1 Beaker de 500.0 mL Clase "B".
- 2 Beakers de 100.0 mL Clase "B".
- 1 Espátula de Aluminio.
- 1 Caja de mascarillas.
- 1 Caja de guantes de latex.
- 1 rollo de Papel parafilm.

- 1 rollo de Papel aluminio.
- 1 rollo de Papel mayordomo.

3. Equipo de oficina:

- 1 Computadora personal.
- 1 Impresora personal.
- 1 Calculadora científica.
- 1 Marcador permanente de color negro.
- 1 Masking tape de 1 pulgada.

C. REACTIVOS:

Acido Clorhídrico 0.1 N.

Carbonato de sodio anhidro.

Éter dietílico para análisis.

Clorhidrato de Ambroxol (Estándar de referencia).

Sílica gel con indicador de humedad (gel azul) 1 – 3 mm ACS Reag. Ph Eur. (Ver Anexo No. 2 para información de seguridad)

D. METODOLOGÍA: El proyecto de investigación se dividirá en 4 etapas.

Se utilizará como referencia el método de valoración de Clorhidrato de ambroxol de la USP Mexicana 2004, que a continuación se cita:

VALORACIÓN

Preparación de referencia: Preparar una solución de Clorhidrato de ambroxol de pureza conocida, que contenga el equivalente a 90 µg/mL de Clorhidrato de ambroxol, en solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N.

Preparación de la muestra: Pasar una alícuota de la muestra, equivalente a 9 mg de Clorhidrato de ambroxol, a un balón aforado de 100 mL, llevar al aforo con solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N y mezclar.

Procedimiento: Pasar, por separado, a ampollas de decantación de 250 mL, la preparación de referencia y la preparación de la muestra, agitar durante 1 minuto cada embudo con 2 porciones de 20 mL cada una de éter dietílico, pasar las fases ácidas a earlenmeyers de 250 mL, agregar a cada matraz perlas de vidrio y colocarlos en un desecador durante 30 minutos, con aplicación de vacío, para eliminar trazas de éter dietílico residual. Obtener la absorbancia de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 307 nm aproximadamente, utilizar celdas de 1.0 cm y solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N como blanco de ajuste. Calcular la cantidad de Clorhidrato de ambroxol, en el volumen de muestra tomado (9).

1. Etapa No.1: Llevar a cabo las siguientes actividades:

- a. Verificación de equipo, reactivos, cristalería y material de apoyo.
- b. Limpieza de Equipo y Cristalería.
- c. Identificación de Cristalería.
- d. Preparación y estandarización de Ácido Clorhídrico 0.1 N.
 - i. Procedimiento:
 - En un balón aforado de 1000 mL (Clase "A"), colocar 300 mL de agua destilada.
 - Agregar lentamente con una bureta de 10 mL (Clase "A") y con agitación 9 mL de Ácido Clorhídrico concentrado.
 - Dejar enfriar, aforar a 1000 mL y mezclar.

- Rotular el balón de 1000 mL.
 - Por aparte, pesar exactamente 1.5 g de estándar primario de Carbonato de sodio anhidro, que previamente ha sido secado a 270 °C por una hora.
 - Disolver el Carbonato de sodio anhidro en 100 mL de agua destilada y agregar dos gotas de rojo de metilo TS.
 - Titular con la solución de Ácido Clorhídrico preparada, lentamente y con agitación constante, hasta que se vuelva débilmente rosada.
 - Calentar la solución a ebullición, enfriar y continuar la titulación.
 - Calentar nuevamente a ebullición y titular tanto como sea necesario hasta que el color rosado débil no se vea afectado por la continua ebullición y anotar el volumen final utilizado de Ácido clorhídrico.
 - Calcular la normalidad: Cada 5.299 mg de Carbonato de Sodio anhidro es equivalente a 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N.
- e. Activación de Sílica gel con indicador de humedad.
- f. Toma de muestras de Clorhidrato de ambroxol jarabe producido en el Área de Líquidos y Semisólidos de LAPROMED.
- i. **Lote No.1:** Clorhidrato de ambroxol jarabe 15 mg / 5mL.
 - Fecha de producción: 12 de mayo de 2009.
 - Lote LAPROMED: 90517.
 - ii. **Lote No.2:** Clorhidrato de ambroxol jarabe 15 mg / 5mL.
 - Fecha de producción: 19 de mayo de 2009.
 - Lote LAPROMED: 90518.

iii. **Lote No.3:** Clorhidrato de ambroxol jarabe 15 mg / 5 mL.

- Fecha de producción: 21 de mayo de 2009.
- Lote LAPROMED: 90519.

2. **Etapa No. 2:** Preparación de muestras según metodología; se preparan cinco muestras de concentraciones de referencia (80.0, 90.0, 100.0, 110.0 y 120.0%) para evaluar la linealidad y precisión. Además, se tomarán esas mismas concentraciones de referencia para preparar por triplicado las muestras de Clorhidrato de ambroxol jarabe por lote producido.

Para evaluar la exactitud, se tomarán como referencia la preparación de las muestras de referencia y de las muestras del jarabe al 80.0, 100.0 y 120.0 % (preparadas para evaluar la linealidad); una vez conocido el contenido promedio del Clorhidrato de ambroxol en éstas corridas, se procederá a enriquecer las muestras con estándar. Para preparar las muestras, se mantendrá constante la cantidad de muestra tomada y se agregarán cantidades variables del estándar.

Por aparte, se preparan cuatro muestras de concentraciones de referencia diferentes (25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 %) y 4 muestras de Clorhidrato de ambroxol jarabe con dichas concentraciones, para evaluar la robustez del método. Se usará como referencia la USP Mexicana 2004.

Nota No. 1: La solución conteniendo Clorhidrato de ambroxol en un vehículo adecuado contiene no menos del 95.0 % y no más del 105.0 % de la cantidad de etiquetada del mismo (9).

a. **Preparación de solución de referencia:**

- i. Pesar en una balanza analítica por separado 9 muestras de Clorhidrato de ambroxol estándar de Referencia interno en balones aforados de 100 mL Clase "A", según la Tabla No.1.

Tabla No.1

| DETERMINACIÓN DE LINEALIDAD, PRECISIÓN Y EXACTITUD | |
|---|---|
| Identificación No. | Peso en mg de Estándar de Referencia interno |
| Std 80.0 % | 7.20 mg |
| Std 90.0 % | 8.10 mg |
| Std 100.0 % | 9.00 mg |
| Std 110.0 % | 9.9 mg |
| Std 120.0 % | 10.80 mg |
| DETERMINACIÓN DE ROBUSTEZ | |
| Std 25.0 % | 2.25 mg |
| Std 50.0 % | 4.50 mg |
| Std 200.0 % | 18.00 mg |
| Std 250.0 % | 22.50 Mg |

- ii. Identificar cada balón aforado según el orden correspondiente, mencionado en la Tabla No.1 como: Std 80.0 %, Std 90.0 %, Std 100.0 %, Std 110.0 %, Std 120.0 %, Std 25.0 %, Std 50.0 %, Std 200.0 % y Std 250.0 %.

- iii. Aforar los balones a 100 mL con una solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N para preparar 9 soluciones de Clorhidrato de ambroxol de pureza conocida, que contengan el equivalente a 0.0720, 0.0810, 0.0900, 0.0990, 0.1080, 0.0022, 0.0450, 0.0180 y 0.0225 mg / mL de Clorhidrato de ambroxol, en la solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N. (Realizar éste procedimiento bajo una Campana de Extracción).

b. Preparación de la muestra:

- i. Medir una alícuota de Clorhidrato de ambroxol jarabe según la Tabla No.2 con una bureta de 10 mL Clase "A" y colocarla directamente en un balón aforado de 100 mL Clase "A".

Tabla No.2

| DETERMINACIÓN DE LINEALIDAD, PRECISIÓN Y EXACTITUD | | | |
|---|--------------------------------------|---|---|
| No. Identificación | Concentraciones de referencia | Alícuota de Clorhidrato de ambroxol jarabe | mg equivalentes de Clorhidrato de ambroxol |
| Mx1 (Mx1a, Mx1b, Mx1c) | 80.0 % | 2.40 mL | 7.20 mg |
| Mx 2 (Mx2a, Mx2b, Mx2c) | 90.0 % | 2.70 mL | 8.10 mg |
| Mx3 (Mx3a, Mx3b, Mx3c) | 100.0 % | 3.00 mL | 9.00 mg |
| Mx4 (Mx4a, Mx4b, Mx4c) | 110.0 % | 3.30 mL | 9.90 mg |
| Mx5 (Mx5a, Mx5b, Mx5c) | 120.0 % | 3.60 mL | 10.80 mg |
| DETERMINACIÓN DE LA ROBUSTEZ | | | |
| mx 1 | 25.0 % | 0.75 mL | 2.25 mg |
| mx 2 | 50.0 % | 1.50 mL | 4.50 mg |
| mx 3 | 200.0 % | 6.00 mL | 18.00 mg |
| mx 4 | 250.0 % | 7.50 mL | 22.50 mg |

Nota No.2: Preparar por triplicado cada muestra de jarabe según la concentración de referencia indicada en la Tabla No.2 y así determinar la Linealidad, Exactitud y Precisión.

La determinación de la Robustez se realiza sólo con la preparación de una sola muestra de jarabe por concentración de referencia.

- ii. Identificar cada balón según el No. de Identificación asignado en la Tabla No.2.

Nota No.3: A partir del inciso iii hasta el xvi, el procedimiento deberá realizarse en un ambiente ventilado y bajo una campana de extracción. Esto, se debe a que el éter dietílico es un solvente muy volátil y que tiene propiedades sedantes que pueden producir mareos y desvanecimientos a las personas que lo manipulen sin un correcto equipo de protección que incluye: mascarilla, guantes de latex, bata blanca de manga larga y lentes de protección). (Ver Anexo No.2)

- iii. Llevar al aforo de 100 mL con solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N y mezclar. (Proteger la boquilla y tapón de los balones con papel parafilm hasta el momento de la manipulación de las muestras).
- iv. Colocar por separado en ampollas de decantación de volumen adecuado y previamente identificadas según la Tabla No.1 y No.2, la muestra de referencia y las muestras de jarabe preparadas.
- v. Añadir a cada ampolla 20.0 mL de éter dietílico y agitar por 1 minuto, con cuidado de liberar el aire de las ampollas durante la agitación.

- vi. Extraer la fase ácida de la muestra de referencia y las muestras del jarabe por separado y colocarlas en sus respectivos erlenmeyer de volumen adecuado previamente identificados y descartar las fases con éter en un contenedor adecuado.
- vii. Colocar nuevamente las fases ácidas de la muestra de referencia y las muestras del jarabe por separado en ampollas de decantación de volumen adecuado previamente identificadas.
- viii. Añadir nuevamente a cada ampolla 20.0 mL de Éter dietílico y agitar por 1 minuto, con cuidado de liberar el aire de las ampollas durante la agitación.
- ix. Extraer la fase ácida de la muestra de referencia y de las muestras del jarabe por separado y colocarlas en sus respectivos earlenmeyers de volumen adecuado previamente identificados y descartar las fases con éter en un contenedor adecuado.
- x. Colocar perlas de vidrio en cada erlenmeyer que contiene la muestra de referencia y las muestras del jarabe y tapar los mismos con papel parafilm hasta el momento de su manipulación.
- xi. Limpiar el área de trabajo y colocar la Desecadora con sílica gel activada bajo la campana de extracción.
- xii. Colocar los erlenmeyers preparados con las muestras en el inciso x dentro de la desecadora y retirarles el papel parafilm.
- xiii. Tapar la desecadora con las muestras y conectar al vacío.

- xiv. Aplicar vacío a las muestras por 30 minutos para eliminar las trazas de éter dietílico residual.
- xv. Encender el Espectrofotómetro de UV-Visible y ajustar la longitud de onda máxima de absorbancia a 307 nm para el Clorhidrato de ambroxol.
- xvi. Al pasar los 30 minutos, retirar las muestras de la desecadora y taparlas con papel parafilm y trasladarlas al cuarto de lectura.
- xvii. Leer las muestras a la longitud de onda indicada en el inciso xv, utilizando una celda de cuarzo de 1.00 cm de diámetro y como blanco de ajuste la solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N (9).
- xviii. Después, de leer las muestras de referencia y muestras del jarabe, tomar las muestras de referencia y del jarabe preparadas al 80, 100 y 120 % y colocarlas nuevamente bajo la campana de extracción.
- xix. Proceder a enriquecer las muestras con estándar de Clorhidrato de ambroxol, según la tabla No.3. Pesar el estándar en una balanza analítica para cada muestra por separado y anotar el peso exacto añadido a cada muestra.

Tabla No.3

| No. Identificación Muestras | mg de Clorhidrato de ambroxol estándar de referencia interna |
|-----------------------------|--|
| Std 80.0 % | 0.2 mg |
| Mx1a (80.0 %) | 0.2 mg |
| Mx1b (80.0 %) | 0.2 mg |
| Mx1c (80.0 %) | 0.2 mg |
| Std 100.0 % | 0.2 mg |
| Mx3a (100.0 %) | 0.2 mg |
| Mx3b (100.0 %) | 0.2 mg |
| Mx3c (100.0 %) | 0.2 mg |
| Std 120.0 % | 0.2 mg |
| Mx5a (120.0 %) | 0.2 mg |
| Mx5b (120.0 %) | 0.2 mg |
| Mx5c (120.0 %) | 0.2 mg |

- xx. Agitar las muestras hasta disolver el estándar añadido y proceder a manipular las muestras según los incisos iv al xvii.

Nota No.4: Realizar todo el procedimiento por separado para cada lote de Clorhidrato de ambroxol jarabe muestreado en el Área de Líquidos y Semisólidos de LAPROMED.

3. **Etapa No. 3:** Cuantificación del Clorhidrato de ambroxol según referencia de la USP Mexicana, año 2004 y determinación de la Linealidad, Precisión, Exactitud y Robustez del método analítico. Calcular la cantidad de Clorhidrato de ambroxol en el volumen de las muestras por medio de las siguientes fórmulas:

mg de ambroxol

en 100 mL de solución = $C \times D \times \frac{Am}{Aref}$

Aref

(Ecuación No.1)

Donde:

C: Cantidad por mililitro de Clorhidrato de ambroxol en la muestra de referencia.

D: Factor de dilución de la muestra.

Am: Absorbancia obtenida con la muestra del jarabe.

Aref: Absorbancia obtenida con la muestra de referencia.

mg encontrados por

5 mL de Jarabe = x mg encontrados por 100 mL x n mL jarabe

(Ecuación No.2)

% de Clorhidrato de

Ambroxol = $\frac{x \text{ mg encontrado por n mL de jarabe}}{\text{mg teóricos de Clorhidrato de ambroxol presentes en el jarabe}} \times 100 \%$

(Ecuación No. 3)

Realizar los cálculos estadísticos según corresponda para determinar la Linealidad, Precisión, Exactitud y Robustez del Método analítico de Cuantificación del Clorhidrato de ambroxol jarabe.

- 4. Etapa No. 4:** Análisis de Resultados (global para las cuatro etapas): Se determinará la linealidad, precisión, exactitud y robustez del método con base en los resultados estadísticos que reporte dicho método y con base en los mismos se validará el método analítico de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol ingresado a LAPROMED.

VIII. RESULTADOS

1. **LINEALIDAD Y RANGO:** La evaluación estadísticas para éste parámetro incluyó la preparación por triplicado de las muestras de Clorhidrato de ambroxol jarabe por lote, a 5 concentraciones de referencia (al 80.0, 90.0, 100.0, 110.0 y 120.0 %) obteniéndose 15 lecturas por lote, que permitieron realizar un análisis estadístico individual y global, dando como resultado una ecuación de regresión lineal global en donde $y = 0.00601x + 0.00153$, con un coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0.99997 (Ver Tabla No.3 y No.5), determinado que la relación entre la respuesta analítica del método y la concentración del Clorhidrato de ambroxol es directamente proporcional. El análisis ANOVA, reportó un Valor de p igual a 0.0000, siendo este menor que el alfa establecido (0.05) lo que confirmó la relación lineal entre la respuesta del método y la concentración del jarabe (Ver Tabla No.3). Además, se determinó la Homogeneidad de varianzas por medio del Test de Cochran (Ver Tabla No.3), el cual especifica que el G_{exp} debe ser menor que el G_{tab} , para confirmar que las concentraciones son homogéneas y que el factor concentración no influye en la obtención de resultados.

Tabla No.1

“DATOS GENERALES PARA LA EVALUACIÓN DE LINEALIDAD Y RANGO DEL JARABE DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL”

| *std = estándar | | | | Absorbancia std* (nm) | | |
|-----------------|----------------------------------|-----------------------------|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| % de Ref. | (mg/mL) de *std en la mx de Ref. | mx (mL de jarabe agregados) | mg *std teóricos | Lote No.1 ₉₀₅₁₇ | Lote No.2 ₉₀₅₁₈ | Lote No.3 ₉₀₅₁₉ |
| 80.00 | 0.0720 | 2.40 | 7.20 | 0.483 | 0.480 | 0.481 |
| 90.00 | 0.0810 | 2.70 | 8.10 | 0.540 | 0.542 | 0.542 |
| 100.00 | 0.0900 | 3.00 | 9.00 | 0.604 | 0.600 | 0.599 |
| 110.00 | 0.0990 | 3.30 | 9.90 | 0.663 | 0.662 | 0.660 |
| 120.00 | 0.1080 | 3.6 | 10.80 | 0.722 | 0.725 | 0.720 |

Tabla No.2
RESULTADOS GLOBALES DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| | % de Ref. (x) | Abs.* (nm) Lote No. 1 <small>*Abs. = Absorbancia</small> | Abs.* (nm) Lote No. 2 <small>*Abs. = Absorbancia</small> | Abs.* (nm) Lote No. 3 <small>*Abs. = Absorbancia</small> | Media individual (y) | Media | Desv. Estándar global (SD) | Coef. de Variación global (CV) |
|-----|----------------------|--|--|--|-----------------------------|--------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| mx1 | 80.00 | 0.484 | 0.481 | 0.480 | 0.482 | 0.482 | 0.0000% | 0.0000% |
| mx2 | 80.00 | 0.484 | 0.481 | 0.481 | 0.482 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.484 | 0.482 | 0.481 | 0.482 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.544 | 0.541 | 0.541 | 0.542 | 0.542 | 0.0006% | 0.1065% |
| mx2 | 90.00 | 0.544 | 0.542 | 0.541 | 0.542 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.545 | 0.542 | 0.542 | 0.543 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.605 | 0.602 | 0.601 | 0.603 | 0.603 | 0.0006% | 0.0957% |
| mx2 | 100.00 | 0.605 | 0.602 | 0.601 | 0.603 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.606 | 0.603 | 0.602 | 0.604 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.665 | 0.661 | 0.661 | 0.662 | 0.663 | 0.0006% | 0.0871% |
| mx2 | 110.00 | 0.665 | 0.661 | 0.662 | 0.663 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.666 | 0.662 | 0.662 | 0.663 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.725 | 0.721 | 0.721 | 0.722 | 0.723 | 0.0006% | 0.0799% |
| mx2 | 120.00 | 0.725 | 0.721 | 0.721 | 0.722 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.726 | 0.722 | 0.722 | 0.723 | | | |

Tabla No.3
ANÁLISIS ESTADÍSTICO GLOBAL DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL

| Intervalo de Confianza para la Pendiente | | | Intervalo de Confianza para el Intercepto | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|---------|
| $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_1 | | $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_0 | | |
| 95.0 % | 0.00601 \pm 0.0000 | | 95.0 % | 0.00153 \pm 0.0026 | | |
| Error estándar de la pendiente ($s\beta_1$) | | 0.0000 | Error estándar del intercepto ($s\beta_0$) | | 0.0012 | |
| Tabla ANOVA | | | | | | |
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | $F_{crítica}$ | Valor-p |
| Regn. | 0.1084 | 1 | 0.1084 | 259266.98 | 4.6672 | 0.0000 |
| Error | 0.0000 | 13 | 0.0000 | | | |
| Total | 0.1084 | 14 | | | | |
| Test de Cochran | | | | | | |
| Varianzas | | 80.00 | 90.00 | 100.00 | 110.00 | 120.00 |
| Valor G_{exp} | 0.3287 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| No. de puntos (k) | No. de Repeticiones (n) | Criterio CV | Valor G_{tab} (Cochran) | Valor de α | Desviación estándar relativa (RSD) | |
| 5 | 3 | 2.00 % | 0.6838 | 0.05 | 0.0369% | |

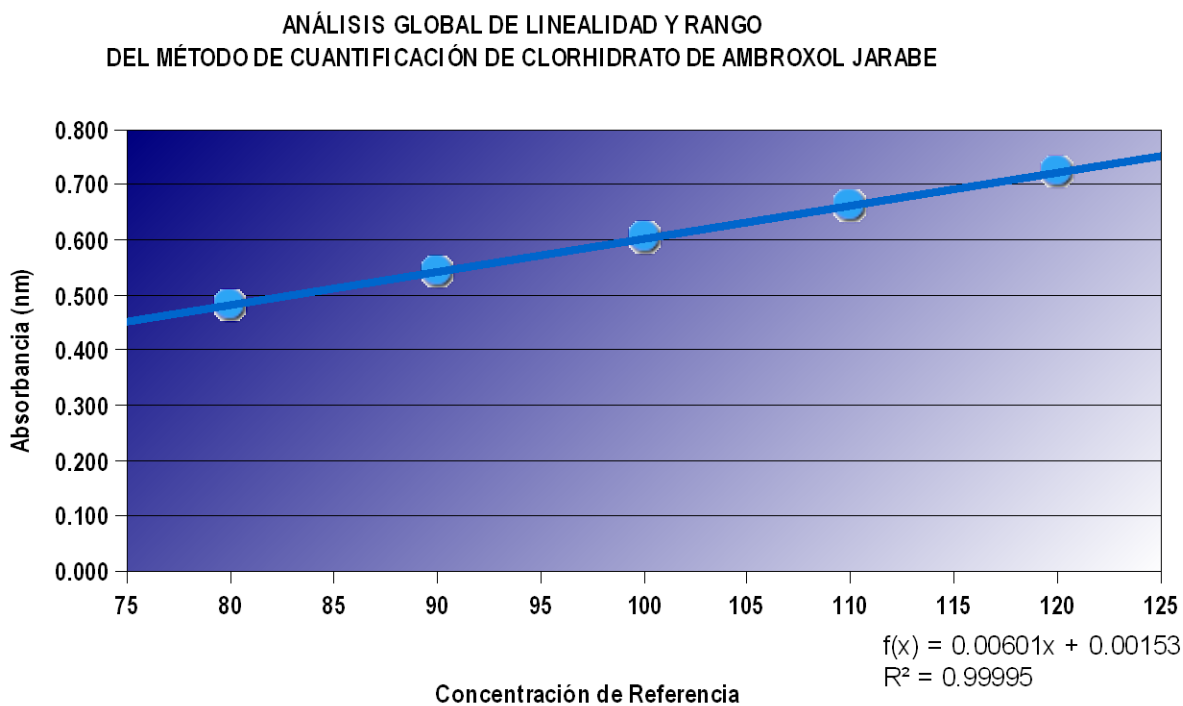
Tabla No.4
RESULTADOS GLOBALES DE LINEALIDAD Y RANGO
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| | % de Ref. | % de ambroxol Lote No. 1 | % de ambroxol Lote No. 2 | % de ambroxol Lote No. 3 | Media individual | Media | Desv. Estándar global (SD) | Coef. de Variación global (CV) |
|-----|------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| mx1 | 80.00 | 80.13 | 80.17 | 80.13 | 80.14 | 80.20% | 0.0551% | 0.0687% |
| mx2 | 80.00 | 80.13 | 80.17 | 80.30 | 80.20 | | | |
| mx3 | 80.00 | 80.13 | 80.33 | 80.30 | 80.25 | | | |
| mx1 | 90.00 | 90.07 | 90.17 | 90.32 | 90.19 | 90.30% | 0.0819% | 0.0907% |
| mx2 | 90.00 | 90.07 | 90.17 | 90.32 | 90.24 | | | |
| mx3 | 90.00 | 90.23 | 90.33 | 90.48 | 90.35 | | | |
| mx1 | 100.00 | 100.17 | 100.33 | 100.33 | 100.28 | 100.30% | 0.0924% | 0.0921% |
| mx2 | 100.00 | 100.17 | 100.33 | 100.33 | 100.28 | | | |
| mx3 | 100.00 | 100.33 | 100.50 | 100.50 | 100.44 | | | |
| mx1 | 110.00 | 110.10 | 110.17 | 110.35 | 110.21 | 110.30% | 0.0819% | 0.0742% |
| mx2 | 110.00 | 110.10 | 110.17 | 110.52 | 110.26 | | | |
| mx3 | 110.00 | 110.26 | 110.33 | 110.52 | 110.37 | | | |
| mx1 | 120.00 | 120.03 | 120.17 | 120.37 | 120.19 | 120.20% | 0.0924% | 0.0768% |
| mx2 | 120.00 | 120.03 | 120.17 | 120.37 | 120.19 | | | |
| mx3 | 120.00 | 120.20 | 120.33 | 120.53 | 120.35 | | | |

Tabla No.5
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS GLOBALES EVALUADOS PARA EL ANÁLISIS
DE VARIANZAS DE LA REGRESIÓN LINEAL DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | r: El coeficiente de correlación de la regresión lineal debe encontrarse entre 0.98 y 1.00. | 0.99997 | x | |
| 2 | r ² : El coeficiente de determinación debe ser mayor de 0.995. | 0.99995 | x | |
| 3 | b: Paso del intercepto por cero: Por intervalos de confianza. Debe ser menor ó igual a 0.03. | 0.0021 | x | |
| 4 | Comprobación de la curva: La desviación estándar relativa debe ser menor del 5.00 %. | 0.0369% | x | |
| 5 | Homogeneidad de varianzas: La varianza debe ser constante para todas las concentraciones. | 0.0000 | x | |

Gráfica No.1



Fuente: Tabla No.2

2. **PRECISIÓN:** La evaluación de éste parámetro se llevó a cabo preparando las muestras de jarabe por triplicado a 3 concentraciones de referencia, dando como resultado la lectura de 12 muestras por lote, con un total de 36 corridas; lo que permitió un análisis estadístico en base a la determinación del Valor de p (Debe ser mayor al alfa especificado) y el Coeficiente de Variación (Debe ser menor al 2.00%) para determinar la Precisión Intermedia. Dicho análisis reportó un Coeficiente de variación igual a 0.1540% y Valor de p de 0.1097 (Ver Tablas No.8 y No.10) confirmando que el método no se ve afectado por ninguna variable externa que puede intervenir en la obtención de datos precisos. Además, se evaluó la Repetibilidad del método en base a la determinación de la desviación estándar y del Coeficiente de variación, dando como resultado un Coeficiente de variación igual a 0.0532% y una desviación estándar del 0.0531%, siendo ambos datos menores al 2.00% establecido, ratificando que ambos datos no son significativos y que no hay diferencias entre los análisis practicados a cada lote de jarabe en las mismas condiciones de trabajo (Ver Tabla No.9 y No.10).

Tabla No.6

“DATOS GENERALES PARA LA EVALUACIÓN DE PRECISIÓN DEL JARABE DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL”

| | | | | Absorbancia (nm) | | |
|--|----------------------------------|-----------------------------|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| % de Ref. | (mg/mL) de *std en la mx de Ref. | mx (mL de jarabe agregados) | mg *std teóricos | Lote No.1 ₉₀₅₁₇ | Lote No.2 ₉₀₅₁₈ | Lote No.3 ₉₀₅₁₉ |
| Día 1 (Balanza 1, Temperatura: 25 °C, Hora: 11:00 am) | | | | | | |
| 80.00 | 0.0720 | 2.40 | 7.20 | 0.483 | 0.480 | 0.481 |
| 100.00 | 0.0900 | 3.00 | 9.00 | 0.604 | 0.600 | 0.599 |
| 120.00 | 0.1080 | 3.60 | 10.80 | 0.722 | 0.725 | 0.720 |
| Día 2 (Balanza 2, Temperatura: 26.5 °C, Hora: 12:00 pm) | | | | | | |
| 80.00 | 0.0720 | 2.40 | 7.20 | 0.484 | 0.480 | 0.482 |
| 100.00 | 0.0900 | 3.00 | 9.00 | 0.603 | 0.599 | 0.601 |
| 120.00 | 0.1080 | 3.60 | 10.80 | 0.725 | 0.720 | 0.723 |

*std = estándar

Tabla No.7
RESULTADOS GLOBALES DE PRECISIÓN INTERMEDIA
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL

| % Referencia | Muestras | % Recuperación (Día 1) | % Recuperación(Día 2) |
|---------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 100.17 | 100.33 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 100.17 | 100.33 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 100.17 | 100.75 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 100.21 | 100.17 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 100.21 | 100.17 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 100.42 | 100.38 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 100.17 | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 100.38 | 100.25 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 100.38 | 100.25 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 100.17 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 100.17 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 100.33 | 100.50 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 100.33 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 100.33 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 100.50 | 100.50 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 100.33 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 100.33 | 100.33 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 100.50 | 100.67 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 100.03 | 100.33 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 100.03 | 100.33 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 100.17 | 100.75 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 100.14 | 100.17 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 100.14 | 100.17 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 100.28 | 100.31 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 100.31 | 100.39 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 100.31 | 100.39 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 100.45 | 100.39 |

Tabla No. 8
ANÁLISIS ESTADÍSTICO GLOBAL DE PRECISIÓN INTERMEDIA
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| PRECISIÓN INTERMEDIA | | | | | | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|----------------|
| | | % de Recuperación | | | | |
| | | Día 1 | Día 2 | | | |
| Media individual | | 100.26% | 100.35% | | | |
| Coef. Variación (CV) individual | | 0.1285% | 0.1663% | | | |
| Desviación estándar (SD) Global | | 0.1544% | | | | |
| Coef. Variación (CV) Global | | 0.1540% | | | | |
| | | Día 1 | Día 2 | | | |
| 80.00% | Media | 100.25% | 100.30% | | | |
| | CV_{individual} | 0.1066% | 0.1985% | | | |
| 100.00% | Media | 100.33% | 100.41% | | | |
| | CV_{individual} | 0.1163% | 0.1230% | | | |
| 120.00% | Media | 100.21% | 100.36% | | | |
| | CV_{individual} | 0.1405% | 0.1694% | | | |
| Tabla ANOVA ($\alpha = 0.05$) | | | | | | |
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | F_{crítica} | Valor-p |
| Muestras | 0.0977 | 2 | 0.0489 | 2.3102 | 8.8829 | 0.1097 |
| Analista | 0.1085 | 1 | 0.1085 | 5.1266 | 13.8618 | 0.0279 |
| Error | 1.0577 | 50 | 0.0212 | | | |
| Total | 1.2639 | 53 | | | | |

Tabla No.9
RESULTADOS GLOBALES DE REPETIBILIDAD
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| No. determinación | % de Referencia | % de Recuperación (Datos obtenidos con el análisis global de Exactitud) |
|--|-----------------|--|
| 1 | 80.00 % | 100.04% |
| 2 | 80.00 % | 100.04% |
| 3 | 80.00 % | 100.11% |
| 4 | 100.00 % | 100.06% |
| 5 | 100.00 % | 100.11% |
| 6 | 100.00 % | 100.11% |
| 7 | 120.00 % | 100.16% |
| 8 | 120.00 % | 100.20% |
| 9 | 120.00 % | 100.11% |
| Media | | 100.10% |
| Desviación estándar (SD) | | 0.0532% |
| % Coeficiente de Variación (CV) | | 0.0531% |

Tabla No.10
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS GLOBALES EVALUADOS PARA PRECISIÓN
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|---|------------|-----------|-----------|
| 1 | Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación debe ser igual ó menor del 2.00%. | 0.1540% | x | |
| 2 | Precisión Intermedia: El valor-p debe ser mayor al α (0.05) especificado. | 0.1097 | x | |
| 3 | Repetibilidad: El Coeficiente de Variación (CV) debe ser menor de 2.00%. | 0.0532% | x | |
| 4 | Repetibilidad: La máxima Desviación estándar debe ser menor ó igual al 2.00%. | 0.0531% | x | |

- 3. EXACTITUD:** El análisis estadístico de la Exactitud, se realizó en base a la obtención de 72 corridas, que incluye la lectura de 36 muestras de jarabe preparadas por triplicado a tres concentraciones de referencia (80.0, 100.0 y 120.0 %) sin estándar y la lectura de dichas muestras con adición de estándar, obteniéndose así un porcentaje de Recobro global del Clorhidrato de ambroxol presente en el jarabe del 100.10 %, con un Coeficiente de Variación del porcentaje de Recobro del 0.0531%, siendo menor del 2.0 % especificado. Además, el Test de t realizado reportó un t_{exp} igual a 3.2619 menor que el t_{tabla} (4.303) y un valor de p igual a 0.0879 mayor que el alfa establecido (0.05), confirmado así que el método es exacto y que no se ve afectado por ninguna variable externa que afecte la obtención de datos exactos. (Ver tabla No.11 y No.12).

Tabla No.11
RESULTADOS GLOBALES DE EXACTITUD DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE
AMBROXOL JARABE

| % Ref. | Muestras | mg de ambroxol agregados | mg de ambroxol recuperados | Desviación estándar mg recuperados (SD) | % de Recobro |
|---------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|---|--------------|
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 7.2119 | 7.2149 | 0.0103% | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 7.2119 | 7.2149 | | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 1 | 7.2119 | 7.2298 | | 100.25 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 7.2150 | 7.2180 | | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 7.2150 | 7.2180 | | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 2 | 7.2300 | 7.2180 | | 99.83 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 7.2120 | 7.2150 | | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 7.2270 | 7.2300 | | 100.04 |
| 80.00 | Mx ₁ LOTE 3 | 7.2270 | 7.2450 | | 100.25 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 9.0149 | 9.0149 | 0.0152% | 100.00 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 9.0149 | 9.0149 | | 100.00 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 1 | 9.0298 | 9.0446 | | 100.16 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 9.0300 | 9.0449 | | 100.17 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 9.0300 | 9.0449 | | 100.17 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 2 | 9.0450 | 9.0599 | | 100.16 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 9.0301 | 9.0300 | | 100.00 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 9.0301 | 9.0450 | | 100.17 |
| 100.00 | Mx ₂ LOTE 3 | 9.0451 | 9.0450 | | 100.00 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 10.8030 | 10.8149 | 0.0243% | 100.11 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 10.8030 | 10.8149 | | 100.11 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 1 | 10.8179 | 10.8292 | | 100.11 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 10.8150 | 10.8270 | | 100.11 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 10.8150 | 10.8270 | | 100.11 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 2 | 10.8300 | 10.8270 | | 99.97 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 10.8331 | 10.8600 | | 100.25 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 10.8331 | 10.8750 | | 100.39 |
| 120.00 | Mx ₃ LOTE 3 | 10.8481 | 10.8750 | | 100.25 |
| Medias | | 9.0233 | 9.0333 | --- | 100.10 |

Tabla No.12
% DE RECOBRO DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE PARA LA EVALUACIÓN DE EXACTITUD

| | | % de Recobro | | | |
|--------------------------|------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| | % Ref. | Lote No.1 ₉₀₅₁₇ | Lote No.2 ₉₀₅₁₈ | Lote No.3 ₉₀₅₁₉ | Media _{global} |
| mx1 | 80.00 | 100.04% | 100.04% | 100.04% | 100.04% |
| mx2 | 80.00 | 100.04% | 100.04% | 100.04% | 100.04% |
| mx3 | 80.00 | 100.25% | 99.83% | 100.25% | 100.11% |
| mx1 | 100.00 | 100.00% | 100.17% | 100.00% | 100.06% |
| mx2 | 100.00 | 100.00% | 100.17% | 100.17% | 100.11% |
| mx3 | 100.00 | 100.16% | 100.16% | 100.00% | 100.11% |
| mx1 | 120.00 | 100.11% | 100.11% | 100.25% | 100.16% |
| mx2 | 120.00 | 100.11% | 100.11% | 100.39% | 100.20% |
| mx3 | 120.00 | 100.11% | 99.97% | 100.25% | 100.11% |
| MEDIAS | | 100.09% | 100.08% | 100.15% | 100.10% |
| Test t de student | | | | | |
| $\alpha = 0.05$ | | Grados de libertad (gl) = 2 | | $t_{\text{tablas}} = 4.303$ | |
| | | Lote No.1 ₉₀₅₁₇ | Lote No.2 ₉₀₅₁₈ | Lote No.3 ₉₀₅₁₉ | Media _{global} |
| | t_{exp} | 1.9198 | 1.3209 | 1.8584 | 3.2619 |
| | Valor de p | 0.1689 | 0.2685 | 0.1078 | 0.0879 |

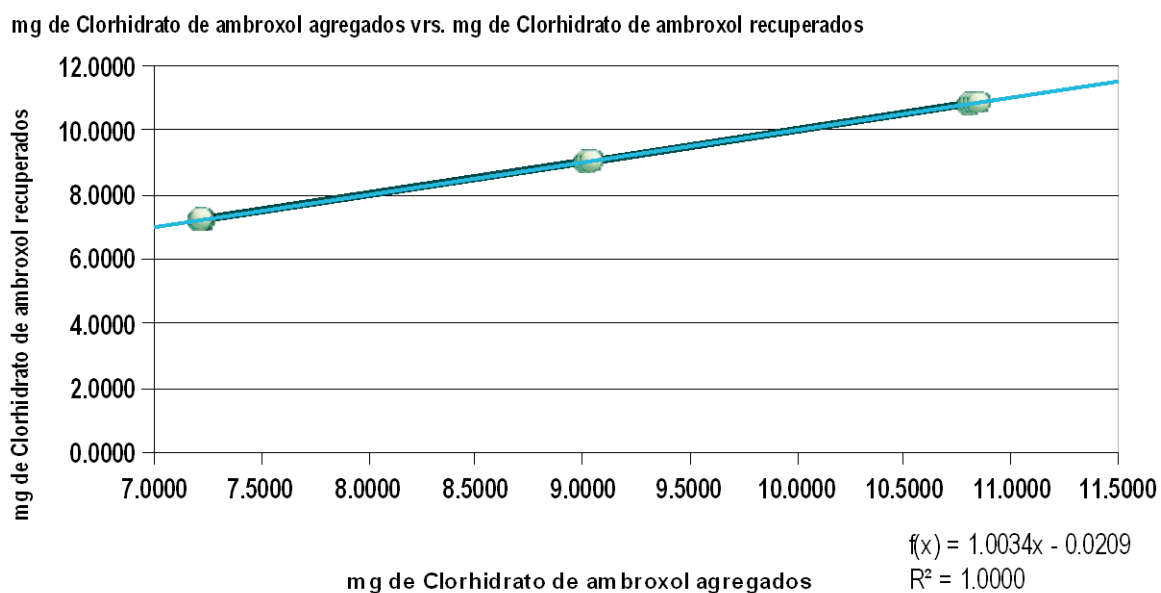
Tabla No.13
ANÁLISIS ESTADÍSTICO GLOBAL DE EXACTITUD CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| Referencia | Resultado |
|---|-----------|
| Número de datos | 27 |
| Desviación estándar (SD) del % de Recobro | 0.0532% |
| Coefficiente de variación (CV) del % de Recobro | 0.0531% |
| Coefficiente de determinación (r^2) | 1.0000 |
| Coefficiente de correlación (r) | 1.0000 |
| Pendiente (b_1) | 1.0034 |
| Ordenada al origen (b_0) | -0.0209 |

Tabla No.14
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS GLOBALES EVALUADOS PARA LA
EXACTITUD DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|---|------------------------------|-----------|-----------|
| 1 | La pendiente de la ecuación lineal resultante de la cantidad adicionada vrs. La cantidad recuperada debe ser mayor 0.95. | 1.0034 | X | |
| 2 | Coefficiente de variación (CV) del % Recobro debe ser menor o igual al 2.00%. | 0.0531% | X | |
| 3 | Test de t: el t_{exp} debe ser menor que el t_{tablas} . | $3.2619_{exp} < 4.303_{tab}$ | X | |
| 4 | El valor de P debe ser mayor que α (0.05). | $0.0879 > 0.05$ | X | |
| 5 | Los porcentajes de recuperación obtenidos: Deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método. | 99.79 – 100.21 % 100.10 % | X | |

Gráfica No.2
ANÁLISIS GLOBAL DE EXACTITUD
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE



Fuente: Tabla No.11.

Tabla No.15
DATOS GENERALES DEL ANÁLISIS DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| % de Ref. | (mg/mL) de estandar en la mx de Referencia | mx (mL de jarabe agregados) | mg de estándar teóricos | Absorbancia (nm) | | | |
|-------------------------------|--|---|-------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | | std* (nm) | Lote No.1 ₉₀₅₁₇ | Lote No.2 ₉₀₅₁₈ | Lote No.3 ₉₀₅₁₉ |
| 25.00 | 0.0900 | 0.75 | 2.25 | 0.616 | 0.623 | 0.619 | 0.620 |
| 50.00 | 0.0900 | 1.50 | 4.50 | 0.601 | 0.605 | 0.604 | 0.603 |
| 250.00 | 0.0900 | 6.00 | 18.00 | 0.592 | 0.593 | 0.594 | 0.594 |
| 250.00 | 0.0900 | 7.50 | 22.50 | 0.590 | 0.591 | 0.592 | 0.591 |
| *std = estándar | | | | | | | |
| Datos Lote No.1: 90517 | | | | | | | |
| Día: Lunes | | Concentraciones de Referencia: 25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 %. | | | T° trabajo: 25.0°C | | |
| Balanza: 1 | Analista: P. Carranza | Equipo: Espectrofotómetro UV-Visible (Serie: 3420057007) | | | Hora: 10:30 am | | |
| | % de Referencia | mg ambroxol | % ambroxol | % de Recuperación | | | |
| mx1 | 25.00 | 2.2750 | 25.28 | 101.14 | | | |
| mx2 | 50.00 | 4.5300 | 50.33 | 100.67 | | | |
| mx3 | 200.00 | 18.0304 | 200.34 | 100.17 | | | |
| mx4 | 250.00 | 25.5381 | 250.42 | 100.17 | | | |
| Datos Lote No.2: 90518 | | | | | | | |
| Día: Martes | | Concentraciones de Referencia: 25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 %. | | | T° trabajo: 25.0°C | | |
| Balanza: 2 | Analista: P. Carranza | Equipo: Espectrofotómetro UV-Visible (Serie: 3420057007) | | | Hora: 11:30 am | | |
| | % de Referencia | mg ambroxol | % ambroxol | % de Recuperación | | | |
| mx1 | 25.00 | 2.2610 | 25.12 | 100.49 | | | |
| mx2 | 50.00 | 4.5225 | 50.25 | 100.5 | | | |
| mx3 | 200.00 | 18.0608 | 200.68 | 100.34 | | | |
| mx4 | 250.00 | 22.5763 | 250.85 | 100.34 | | | |

| Datos Lote No.3: 90519 | | | | |
|-------------------------------|---------------------------------|---|-------------------|---------------------------|
| Día: Viernes | | Concentraciones de Referencia: 25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 %. | | T° trabajo: 25.5°C |
| Balanza: 3 | Analista: P. Carranza | Equipo: Espectrofotómetro UV-Visible (Serie: 3420057007) | | Hora: 12:30 am |
| | % de Referencia | mg ambroxol | % ambroxol | % de Recuperación |
| mx1 | 25.00 | 2.2646 | 25.16 | 100.65 |
| mx2 | 50.00 | 4.5150 | 50.17 | 100.33 |
| mx3 | 200.00 | 18.0608 | 200.68 | 100.34 |
| mx4 | 250.00 | 22.5381 | 250.42 | 100.17 |

Tabla No.16

VALORES NOMINALES Y ALTERNATIVOS**PARA EL ANÁLISIS DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO
DE AMBROXOL JARABE**

| Valores de factor de f | Factor f | Valor | |
|--|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | Nominal | Alternativo |
| A/a | Día | Martes | Viernes |
| B/b | % de Referencia | 25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 % | 25.0, 50.0, 200.0 y 250.0 % |
| C/c | T° de trabajo | 25.0 °C | 25.5 °C |
| D/d | Balanzas | 2 | 3 |
| E/e | Analista | P. Carranza | P. Carranza |
| F/f | Equipo | 1 | 1 |
| G/g | Hora de trabajo | 11:30 am | 12:30 pm |
| Desviación estándar Precisión Intermedia: 0.154 % | | | |
| $\alpha = 0.05$ % | | | |

Tabla No.17
COMBINACIÓN DE DETERMINACIONES PARA EL ANÁLISIS DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| Valor de factor F | Combinación de Determinaciones | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | | | | | |
| A/a | A | A | A | A | a | a | a | a | | | | | | |
| B/b | B | B | B | B | B | B | b | b | | | | | | |
| C/c | C | C | C | C | C | c | C | c | | | | | | |
| D/d | D | D | D | D | d | d | D | D | | | | | | |
| E/e | E | E | E | E | e | E | e | E | | | | | | |
| F/f | F | F | F | F | F | f | f | F | | | | | | |
| G/g | G | G | G | G | g | G | G | g | | | | | | |
| Resultado (% Recup.) | 100.49 | 100.5 | 100.34 | 100.34 | 100.65 | 100.33 | 100.34 | 100.17 | | | | | | |
| Nominal | | | | | | | | | | | | | | |
| Nominal | | | | | | | | Alternativo | | | | | | |
| | A | B | C | D | E | F | G | A | b | c | d | e | f | g |
| 1 | 100.49 | 100.49 | 100.49 | 100.49 | 100.49 | 100.49 | 100.49 | 100.65 | 100.34 | 100.50 | 100.34 | 100.50 | 100.50 | 100.50 |
| 2 | 100.50 | 100.50 | 100.34 | 100.50 | 100.34 | 100.34 | 100.34 | 100.33 | 100.34 | 100.34 | 100.34 | 100.34 | 100.34 | 100.34 |
| 3 | 100.34 | 100.65 | 100.65 | 100.34 | 100.33 | 100.65 | 100.33 | 100.34 | 100.34 | 100.65 | 100.65 | 100.65 | 100.33 | 100.65 |
| 4 | 100.34 | 100.33 | 100.34 | 100.17 | 100.17 | 100.17 | 100.34 | 100.17 | 100.17 | 100.33 | 100.33 | 100.34 | 100.34 | 100.17 |

Tabla No.18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| Fuente (Grupos) | | Valor-p |
|-----------------|-----|---------|
| 1 | A-a | 0.6964 |
| 2 | B-b | 0.0465 |
| 3 | C-c | 0.2757 |
| 4 | D-d | 0.7291 |
| 5 | E-e | 0.2538 |
| 6 | F-f | 0.7622 |
| 7 | G-g | 0.7291 |

Tabla No.19
RESULTADOS DE LAS DIFERENCIAS ESTABLECIDAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE
ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| Diferencia de grupo | | Cuadrado de Diferencias | |
|---------------------|------|-------------------------|------|
| A/a | 0.05 | A/a | 0.00 |
| B/b | 0.19 | B/b | 0.04 |
| C/c | 0.12 | C/c | 0.01 |
| D/d | 0.04 | D/d | 0.00 |
| E/e | 0.13 | E/e | 0.02 |
| F/f | 0.04 | F/f | 0.00 |
| G/g | 0.04 | G/g | 0.00 |

Tabla No.20
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA ROBUSTEZ
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|------------|---|-------------------|------------------|------------------|
| 1 | La Desviación estándar de las diferencias debe ser menor de la Desviación estándar obtenida en la Precisión Intermedia del método. (Menor de 0.154 %) | 0.146% | x | |

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los ensayos realizados para determinar la validez del método analítico de cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe propuesto, verificaron con los resultados obtenidos que el método descrito es lineal, preciso, exacto y robusto.

Los resultados obtenidos de la fase experimental, para determinar la Linealidad y Rango del método, demostraron que las absorbancias son directamente proporcionales a la concentración del Clorhidrato de ambroxol en el jarabe, en el rango establecido; ya que al evaluar los tres lotes de jarabe, en un rango de 5 concentraciones de referencia del 80.0 – 120.0 % y preparando por triplicado cada serie de muestras; se obtuvo una ecuación de regresión lineal global ($y = 0.00601x + 0.00153$) con un coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0.99997 (Ver Tabla No.5), determinado que la relación entre la respuesta analítica del método y la concentración del Clorhidrato de ambroxol es directamente proporcional; ya que dicho coeficiente se encontró dentro del rango de 0.98 a 1.00 establecido; confirmando así, que la correlación de los datos es directa y fuerte. Además, el coeficiente de determinación (r^2) del método se encontró en 0.99995 siendo mayor que 0.995. Como se aprecia en el Anexo No.3 (Ver Tabla No.4, No.8 y No. 12), los tres lotes de jarabe cumplieron con dicho rango, ya que el coeficiente de determinación (r^2) reportado para cada lote fue de 0.99997, 0.99995 y 0.99996 respectivamente. Éstos resultados, demuestran que las absorbancias reportadas, están dentro de la línea de regresión, confirmando que a medida que su valor es mayor, el ajuste de la recta a los datos es mejor, puesto que el desajuste que puede provocarse por la sustitución de las absorbancias observadas por los datos establecidos en la ecuación de la recta es menor.

El análisis de varianzas se hizo a través del test de Cochran; éste test determinó que la varianza del método con respecto las concentraciones, no influye en la variabilidad de los resultados; cumpliendo así con la Homocedasticidad de varianzas. El análisis estadístico, presentó como resultado una varianza igual a 0.00 para todas las concentraciones de referencia, con un G_{exp} igual a 0.3287 menor del G_{tab} 0.6838 establecido (Ver Tabla No.3); comprobando así, que las varianzas de las concentraciones son homogéneas y que el factor concentración no influye en la obtención de resultados. También se observó, que la varianza para los tres lotes de Clorhidrato de ambroxol

jarabe es constante y que son homogéneas (Ver Anexo No.3: Tabla No.2, No.6 y No.10), cumpliendo con la Homocedasticidad de las mismas.

La comprobación de la curva se hizo a través de la determinación de la desviación estándar relativa, la cual debe ser menor del 5.00%, para confirmar así que es válida. La desviación estándar relativa reportada por el método fue de 0.0369%, demostrando que la misma no es significativa y que no hay ningún punto en la parte alta de la curva se establezca fuera del rango de concentraciones establecidas que afecte la respuesta lineal del método.

En base a dichos resultados se estableció que el método es lineal, debido a que se comprobó que la respuesta del método y la concentración del Clorhidrato de ambroxol en el jarabe son directamente proporcionales.

El parámetro de Precisión, evaluado como Repetibilidad y Precisión Intermedia, mostró resultados satisfactorios, pues los coeficientes de variación determinados en ambos casos cumplieron con el criterio de aceptación (Menores del 2.0 %), para métodos espectrofotométricos.

La evaluación de la Precisión Intermedia, se llevó a cabo a través del análisis de los tres lotes del jarabe, a tres concentraciones de referencia (80.0, 100.0 y 120.0 %) por triplicado; variando factores como, los días de análisis, equipo, horas de trabajo y temperatura, obteniéndose un Coeficiente de variación global para el método de 0.1540% (Ver Tabla No.10) menor al criterio establecido; indicando que dicho método no se ve afectado por ninguna variable externa, que pueda interferir en la obtención de resultados precisos. Además, se aplicó la prueba t de Student, en la cual se evaluó la influencia en los resultados al analizarse el jarabe bajo los parámetros establecidos, reportándose un Valor de p de 0.1097 mayor al valor especificado para alfa (0.05); lo que reveló la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de recuperación obtenidos entre los dos días de análisis a diferentes horas de trabajo, temperatura y equipo.

Así también, la determinación de la Repetibilidad del método se llevó a cabo efectuando una serie de análisis sobre el mismo jarabe (los tres lotes independientes) en las mismas condiciones

operativas (por el mismo analista, con los mismos aparatos y reactivos, etc.) en el mismo laboratorio y en un período de tiempo corto, obteniéndose así una desviación estándar global del 0.0532%; y para cada lote de Clorhidrato de ambroxol jarabe desviaciones estándar del 0.0813% (Lote No.1), 0.1050% (Lote No.2) y 0.1400% (Lote No.3) siendo menores al 2.00% (Ver Anexo No.3: Tabla No.16, No.20 y No.24); ratificando así que las mismas no son significativas y que no hay diferencias entre los análisis practicadas a cada lote de jarabe en las mismas condiciones de trabajo; concluyendo que el método es preciso, ya que cumple con la Precisión Intermedia y Repetibilidad.

El establecimiento de la Exactitud, se llevó a cabo evaluando el porcentaje de recuperación para cada lote de jarabe, obteniéndose un 100.10% de recuperación global (Ver Tablas No.11, No.12, No.13 y No.14) lo que permite la obtención de resultados cercanos al valor real es decir, al parámetro establecido, en donde el porcentaje de recuperación se encontró dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método. Además, para confirmar que las recuperación fue satisfactoria, se realizó la prueba estadística T de student, en donde se obtuvo una t_{exp} igual a 3.2619 menor a la t_{tablas} (4.303) y un valor de p igual a 0.0879 mayor que alfa (0.05), lo que comprobó que no existe diferencia significativa entre la recuperación media y el 100 % de recuperación esperada, por lo que no se rechaza $H_0: \mu = 100\%$ de recuperación y se concluye que el método es exacto.

Asimismo, la pendiente de la ecuación lineal resultante de la cantidad adicionada vrs. la cantidad recuperada es igual a 1.0034, lo cual indicó una relación de dependencia directa entre la respuesta del método y las concentraciones del analito; ya que es mayor al 0.95 establecido; y el coeficiente de variación de recobro global obtenido fue del 0.0531% (Ver Tabla No.14) confirmando que el método no se ve afectado por ninguna variable externa que interfiera en la obtención de datos exactos.

La robustez del método se evaluó modificando la concentración de referencia para las muestras, que abarco un rango del 25.0 – 250.0 %; se utilizó diferentes balanzas para pesar las muestras, las horas de trabajo fueron diferentes al igual que los días y la temperatura; confirmando que dichos factores no afectan el desempeño del método ya que las diferencias de los factores son mínimas, obteniéndose una desviación estándar de las diferencias igual a 0.146%, menor a la desviación

estándar reportada para la precisión intermedia del método, como puede observarse en la tabla No. 20.

Los resultados obtenidos, determinan al método analítico como un método lineal, preciso, exacto y robusto por lo cual es válido para la cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe en el Laboratorio de Producción de Medicamentos – LAPROMED –.

X. CONCLUSIONES

1. El método analítico de cuantificación para Clorhidrato de ambroxol jarabe en el Laboratorio de Producción de Medicamentos –LAPROMED– es válido ya que cumple con los parámetros establecidos de Linealidad, Precisión, Exactitud y Robustez.
2. El método es lineal, ya que se determinó que la respuesta analítica del método y la concentración del Clorhidrato de ambroxol es directamente proporcional.
3. Se estableció que el método es preciso, debido a que al evaluar la desviación estándar en el caso de la Precisión Intermedia, el dato reportado fue menor al 5.0 %; además al evaluar la Repetibilidad se obtuvo un coeficiente de variación menor del 2.0 %.
4. El método es exacto, debido que se obtuvo una correlación directa entre la respuesta analítica del método y su porcentaje de recuperación; además, se estableció que no existe diferencia significativa entre la recuperación media y el 100 % de recuperación esperada.
5. Se estableció que el método es robusto, debido a que no se ve afectado por las diferencias establecidas entre los factores establecidos de concentración, hora, día, temperatura, equipo y analista. Además, se obtuvo una desviación estándar de las diferencias menor a la obtenida en la Precisión Intermedia del método, con lo cual se confirma la Robustez.

XI. RECOMENDACIONES

1. Analizar el Clorhidrato de ambroxol jarabe bajo las condiciones de trabajo establecidas en la metodología.
2. Trabajar en áreas bien ventiladas y con el equipo de protección adecuado debido a la manipulación del Éter dietílico según la metodología del análisis.
3. Continuar con procesos de Validación de métodos en LAPROMED.
4. Determinar la Reproducibilidad para el método de cuantificación de Clorhidrato de ambroxol jarabe entre Laboratorios en un futuro, debido a que no fue contemplado dicho parámetro en ésta Validación.
5. Utilizar el equipo con su calibración correspondiente para darle certeza a la Validación.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Validación de Métodos Analíticos. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. (AEFI) Año 2001. pp 23 -105.
2. Reglamento Técnico Centroamericano: REGLAMENTO RTCA 11.01.35: 06 TÉCNICO CENTROAMERICANO. ICS 11.120.01 RTCA 11.01.35:06.
3. Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG/ISO IEC 17025.
4. Validación de Métodos analíticos. Disponible en:
http://www.udistrital.edu.co/comunidad/estudiantes/dililian/que_es_valid.htm. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2009.
5. MINISTERIO DE SALUD, COSTA RICA. GUIA DE VALIDACIÓN DE METODOS ANALITICOS. Disponible en:
<http://www.ministeriodesalud.go.cr/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2009.
6. Hirata Polanco, M.E., ¿Por qué Validar?, México. Disponible en:
<http://www.scribd.com/doc/4925527/porque-validar-metodos-analiticos>. Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2009.
7. OGA (Organización Guatemalteca de Acreditación), Política de Selección y Validación de Métodos de ensayo, Guatemala, 2008. Disponible en:
http://oga.org.gt/acerca_de_la_oga.html. Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2009.
8. QUIMICA ORGANICA, Síntesis del Clorhidrato de Ambroxol. Disponible en:
<http://www.quimicaorganica.org/foro/sintesis-organica/sintesis-del-clorhidrato-de-ambroxol.html>. Fecha de consulta 12 de noviembre de 2009.

9. Farmacopea Mexicana. Octava Edición. Año 2004. pp.857-858.
10. CLORHIDRATO DE AMBROXOL, México. Disponible en. http://www.serral.com.mx/ipps/farmacom/sermoxol_2500.html. Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2009.
11. Merk, Juan. ESTADÍSTICA. Unidad de Práctica de Ingeniería y E.P.S. USAC. 1a. Edición. Enero 2000.pp. 51-100 y 119-144.
12. VITUTOR, Tutoría Estadística: Disponible en: http://www.vitutor.com/estadistica/bi/coeficiente_correlacion.html. Fecha de consulta: 8 de enero de 2010.
13. Wayne, Daniel. "Bioestadística, Base para el análisis de las Ciencias de la Salud". Editorial Limusa S.A. de C. V. Séptima reimpresión, Tercera Edición. México. 2000. pp.: 44-58, 105-113, 345-373, 453-492.
14. Fichas técnicas: Ácido Clorhídrico y Éter dietílico: Disponible en: Merck Guatemala, División químicos: <http://www.merck-chemicals.com.gt>. Fecha de Consulta: 10 de enero de 2010.
15. Swartz, Michael y Krull, Ira S. "Analytical Method Development and Validation". Marcel Dekker, Inc. New York, United States of América. 1997. pp.: 53-80.
16. OAA (Organismo Argentino de Acreditación). Guía para Validación de Métodos de ensayo. Argentina. 2003. pp.: 3-16.
17. ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE.GOOD MANUFACTURING PRACTICE GUIDE FOR ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS. 2000.

- 18.** Anleu, L. Rossana. "Validación del método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la cuantificación de Ibuprofeno en suspensión". Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. 2000.
- 19.** Delange, D.M. Dr. y González, V. Dr. "Acercamiento a la validación de métodos analíticos en la industria farmacéutica cubana". Revista CENIC. Ciencias Químicas. Vol. 36, No. 1, 2005. La Habana, Cuba.
- 20.** Skoog, D., et.al. "Química Analítica". Mc Graw Hill. 6ª. Edición. México. 2003.
- 21.** Mazariegos, R. Mayra. S. "Validación del proceso de mezclado, llenado y estabilidad de las sales de rehidratación oral con glucosa anhidra granulada en el Laboratorio de Medicamentos". Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. 2000

XIII. ANEXOS

ANEXO No.1

A. FÓRMULAS ESTADÍSTICAS:

1. **Media aritmética:** La media aritmética es el valor obtenido al sumar todos los datos y dividir el resultado entre el número total de datos.

$$\bar{x} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{N} \qquad \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{N}$$

2. **Varianza:** La varianza es la media aritmética del cuadrado de las desviaciones respecto a la media de una distribución estadística.

$$\sigma^2 = \frac{(X_1 - \bar{x})^2 + (X_2 - \bar{x})^2 + \dots + (X_n - \bar{x})^2}{N} \qquad \sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{x})^2}{N}$$

3. **Desviación típica:** La desviación típica es la raíz cuadrada de la varianza.

$$\sigma = \sqrt{\frac{(X_1 - \bar{x})^2 + (X_2 - \bar{x})^2 + \dots + (X_n - \bar{x})^2}{N}} \qquad \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{x})^2}{N}}$$

4. **Coefficiente de variación:** El coeficiente de variación es la relación entre la desviación típica de una muestra y su media.

$$C.V = \frac{\sigma}{\bar{x}}$$

5. **Coefficiente de variación en tanto por ciento:**

$$C.V = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100$$

6. **Covarianza:** La covarianza de una variable bidimensional es la media aritmética de los productos de las desviaciones de cada una de las variables respecto a sus medias respectivas.

La covarianza se representa por s_{xy} o σ_{xy} .

$$\sigma_{xy} = \frac{\sum f_i(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{N} \qquad \sigma_{xy} = \frac{\sum f_i x_i y_i}{N} - \bar{x}\bar{y}$$

La covarianza indica el sentido de la correlación entre las variables

- Si $\sigma_{xy} > 0$ la correlación es directa.
- Si $\sigma_{xy} < 0$ la correlación es inversa.

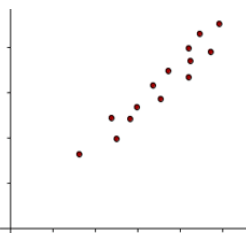
La covarianza presenta como inconveniente, el hecho de que su valor depende de la escala elegida para los ejes (11).

7. **Correlación lineal:** La correlación trata de establecer la relación o dependencia que existe entre las dos variables que intervienen en una distribución bidimensional. Es decir, determinar si los cambios en una de las variables influyen en los cambios de la otra. En caso de que suceda, diremos que las variables están correlacionadas o que hay correlación entre ellas.

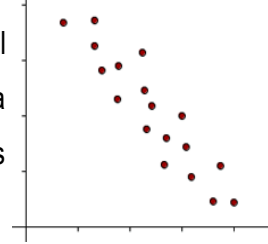
a. **Tipos de correlación**

- Correlación directa:** La correlación directa se da cuando al aumentar una de las variables la otra aumenta.

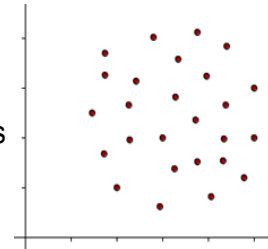
La recta correspondiente a la nube de puntos de la distribución es una recta creciente.



- ii. **Correlación inversa:** La correlación inversa se da cuando al aumentar una de las variables la otra disminuye. La recta correspondiente a la nube de puntos de la distribución es una recta decreciente.

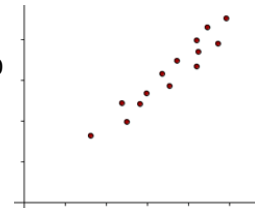


- iii. **Correlación nula:** La correlación nula se da cuando no hay dependencia de ningún tipo entre las variables. En este caso se dice que las variables son incorreladas y la nube de puntos tiene una forma redondeada.

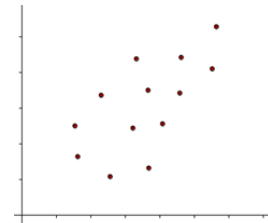


- b. **Grado de correlación:** El grado de correlación indica la proximidad que hay entre los puntos de la nube de puntos. Se pueden dar dos tipos:

- i. **Correlación fuerte:** La correlación será fuerte cuanto más cerca estén los puntos de la recta.



- ii. **Correlación débil:** La correlación será débil cuanto más separados estén los puntos de la recta (12).



8. **Coefficiente de correlación lineal:** El coeficiente de correlación lineal es el cociente entre la covarianza y el producto de las desviaciones típicas de ambas variables.

El coeficiente de correlación lineal se expresa mediante la letra r .

- a. **Propiedades del coeficiente de correlación:**

- i. El coeficiente de correlación no varía al hacerlo la escala de medición. Es decir, si expresamos la altura en metros o en centímetros el coeficiente de correlación no varía.
- ii. El signo del coeficiente de correlación es el mismo que el de la covarianza.
 - Si la covarianza es positiva, la correlación es directa.
 - Si la covarianza es negativa, la correlación es inversa.
 - Si la covarianza es nula, no existe correlación.
- iii. El coeficiente de correlación lineal es un número real comprendido entre -1 y 1 .

$$-1 \leq r \leq 1$$

- iv. Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a -1 la correlación es fuerte e inversa, y será tanto más fuerte cuanto más se aproxime r a -1 .
- v. Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a 1 la correlación es fuerte y directa, y será tanto más fuerte cuanto más se aproxime r a 1 .
- vi. Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a 0 , la correlación es débil.
- vii. Si $r = 1$ ó -1 , los puntos de la nube están sobre la recta creciente o decreciente. Entre ambas variables hay dependencia funcional.

9. Recta de regresión lineal: La recta de regresión es la que mejor se ajusta a la nube de puntos.

- a. **Recta de regresión de Y sobre X:** La recta de regresión de Y sobre X se utiliza para estimar los valores de la Y a partir de los de la X. La pendiente de la recta es el cociente entre la covarianza y la varianza de la variable X.
- b. **Recta de regresión de X sobre Y:** La recta de regresión de X sobre Y se utiliza para estimar los valores de la X a partir de los de la Y.

La pendiente de la recta es el cociente entre la covarianza y la varianza de la variable Y.

Si la correlación es nula, $r = 0$, las rectas de regresión son perpendiculares entre sí, y sus ecuaciones son ⁽¹³⁾:

$$y = \bar{y}$$

$$x = \bar{x}$$

ANEXO No. 2


1. Ficha de Seguridad de Éter Dietílico (14):

| Información sobre producto | |
|-------------------------------------|---|
| Grado | ACS,ISO,Reag. Ph Eur |
| Fórmula empírica (según Hill) | C ₄ H ₁₀ O |
| Fórmula química | (C ₂ H ₅) ₂ O |
| Número HS | 2909 11 00 |
| Número CE | 200-467-2 |
| Masa molar | 74.12 g/mol |
| Número de índice CE | 603-022-00-4 |
| Número CAS | 60-29-7 |
| Datos químicos y físicos | |
| Temperatura de ignición | 180 °C |
| Solubilidad en agua | 69 g/l (20 °C) |
| Punto de fusión | -116.3 °C |
| Masa molar | 74.12 g/mol |
| Densidad | 0.71 g/cm ³ |
| Punto de ebullición | 34.6 °C (1013 hPa) |
| Presión de vapor | 587 hPa (20 °C) |
| Limite de explosión | 1.7 - 36 %(V) |
| Temperatura de inflamabilidad | -40 °C |
| Información de seguridad GHS | |
| Clasificación | H224: Líquido y vapores extremadamente inflamables. H302: Nocivo en caso de ingestión. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. EUH019: Puede formar peróxidos explosivos. EUH066: La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel. |
| Clasificación de precaución | P210: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. P403 + P235: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. |
| Señal | Peligro |
| Pictogramas de precaución |  |

| | |
|---|--|
| |  |
| RTECS | KI5775000 |
| Clase de almacenamiento | 3 Líquidos Inflamables |
| WGK | WGK 1 contamina ligeramente el agua |
| Desecho | 1 Disolventes exentos de halógenos y soluciones de sustancias orgánicas fuertemente impurificados: categoría A. |
| Información de seguridad | |
| Frase R | R 12-19-22-66-67 Extremadamente inflamable. Puede formar peróxidos explosivos. Nocivo por ingestión. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel. La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo. |
| Frase S | S 9-16-29-33 Consérvese el recipiente en lugar bien ventilado. Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar. No tirar los residuos por el desagüe. Evítese la acumulación de cargas electrostáticas. |
| Características de peligrosidad | extremadamente inflamable, nocivo |
| Símbolos de seguridad |  Extremadamente inflamable  Nocivo |
| Información de transporte | |
| Clasificación (Transporte terrestre) ADR, RID | UN 1155 Diethylether, 3, I |
| Clasificación (Transporte marítimo) IMDG-Code | UN 1155 DIETHYL ETHER, 3, I |
| Clasificación (Transporte aéreo) IATA-DGR | UN 1155 DIETHYL ETHER, 3, I |

2. Ficha de seguridad Silica gel con indicador de humedad (gel azul) 1 – 3 mm ACS

Reag. Ph Eur. (14):

| Información sobre producto | |
|------------------------------------|--|
| Gradeo | ACS,Reag. Ph Eur |
| Número HS | 3824 90 97 |
| Datos químicos y físicos | |
| Solubilidad en agua | (20 °C) insoluble |
| Concentración de saturación (aire) | (20 °C) Aire,no aplicable |
| Densidad | (20 °C) sin datos disponibles |
| Valor de pH | (H ₂ O, 20 °C) no aplicable |
| Absorción de agua | >270 g/kg |
| Información de seguridad | |
| Frase R | R 49-52/53 Puede causar cáncer por inhalación. Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. |
| Frase S | S 53-45 Evítese la exposición - recábense instrucciones especiales antes del uso.En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta). |
| Características de peligrosidad | cancerígeno, peligroso para el medio ambiente |
| Símbolo de precaución |  Tóxico |
| Clase de almacenamiento | 6.1B Sustancias no combustibles, tóxicos |
| WGK | NWG ningún peligro para el agua |
| Desecho | 15 Soluciones que contienen metales pesados y sustancias sólidas: categoría E. El níquel Raney (también el níquel Urushibara), en suspensión acuosa, puede disolverse agitando con ácido clorhídrico (art. 100312) (categoría E). El níquel Raney mismo o los residuos de filtración no deben secarse, ya que estos se autoinflaman con seguridad en el aire. Metal pesado significa en este contexto cualquier compuesto de antimonio, arsénico, cadmio, cromo(VI), cobre, plomo, níquel y estaño, así como estas sustancias en forma metálica, siempre que estén clasificadas como peligrosas (Otros metales pesados se recogen separadamente). |

ANEXO No.3

Tabla No.1

**RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.1: 90517**

| | % de Ref. (x) | Absorbancia (nm) Lote No.1₉₀₅₁₇ (y) | Media | Desviación Estándar_(SD) | Coficiente de Variación_(CV) |
|-----|--------------------------|---|--------------|---|---|
| mx1 | 80.00 | 0.484 | 0.484 | 0.0000% | 0.0000% |
| mx2 | 80.00 | 0.484 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.484 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.544 | 0.544 | 0.0006% | 0.1061% |
| mx2 | 90.00 | 0.544 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.545 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.605 | 0.605 | 0.0006% | 0.0954% |
| mx2 | 100.00 | 0.605 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.606 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.665 | 0.665 | 0.0006% | 0.0868% |
| mx2 | 110.00 | 0.665 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.666 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.725 | 0.725 | 0.0006% | 0.0796% |
| mx2 | 120.00 | 0.725 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.726 | | | |

Tabla No.2
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.1: 90517

| Intervalo de Confianza para la Pendiente | | | Intervalo de Confianza para el Intercepto | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------|--|-------------------------------------|------------------------------------|---------|
| 1 - α | (1 - α) I.C. para β_1 | | 1 - α | (1 - α) I.C. para β_0 | | |
| 95.0 % | 0.00604 \pm 0.0000 | | 95.0 % | 0.00120 \pm 0.0021 | | |
| Error estándar de la pendiente ($s\beta_1$) | | 0.0000 | Error estándar del intercepto ($s\beta_0$) | | 0.0010 | |
| Tabla ANOVA | | | | | | |
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F _{cal} | F _{critica} | Valor-p |
| Regn. | 0.1093 | 1 | 0.1093 | 384111.47 | 4.6672 | 0.0000 |
| Error | 0.0000 | 13 | 0.0000 | | | |
| Total | 0.1093 | 14 | | | | |
| Test de Cochran | | | | | | |
| Varianzas | | 80.00 | 90.00 | 100.00 | 110.00 | 120.00 |
| Valor G _{exp} | 0.3287 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| No. de puntos (k) | No. de Repeticiones (n) | Criterio CV | Valor G _{tab} (Cochran) | Valor de α | Desviación estandar relativa (RSD) | |
| 5 | 3 | 2.00 % | 0.6838 | 0.05 | 0.0551% | |

Tabla No.3
RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

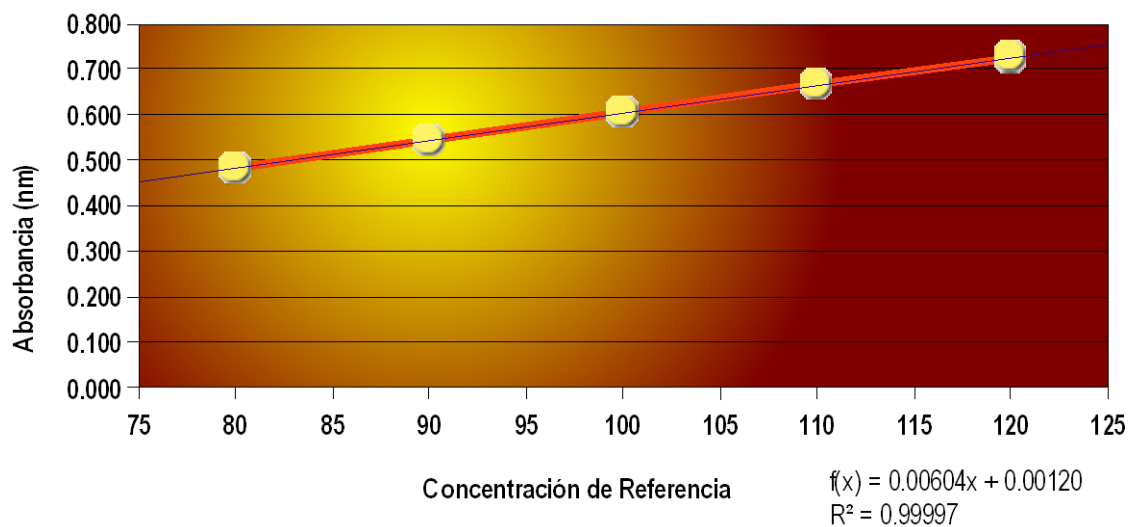
| | % de Ref. | Absorbancia (nm) | mg de ambroxol | % de ambroxol | Media | Desv. estándar (SD) | Coef. de Variación (CV) |
|-----|-----------|------------------|----------------|---------------|----------|---------------------|-------------------------|
| std | | 0.604 | | | | | |
| mx1 | 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 80.13 | 80.10% | 0.0000% | 0.0000% |
| mx2 | 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 80.13 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 80.13 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.544 | 8.1060 | 90.07 | 90.10% | 0.0924% | 0.1025% |
| mx2 | 90.00 | 0.544 | 8.1060 | 90.07 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.545 | 8.1209 | 90.23 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 100.17 | 100.20% | 0.0924% | 0.0922% |
| mx2 | 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 100.17 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.606 | 9.0298 | 100.33 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.665 | 9.9089 | 110.10 | 110.20% | 0.0924% | 0.0839% |
| mx2 | 110.00 | 0.665 | 9.9089 | 110.10 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.666 | 9.9238 | 110.26 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 120.03 | 120.10 % | 0.0981% | 0.0817% |
| mx2 | 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 120.03 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.726 | 10.8179 | 120.20 | | | |

Tabla No.4
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

LOTE No.1: 90517

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados. | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | r: El coeficiente de correlación de la regresión lineal debe encontrarse entre 0.98 y 1.00. | 0.99998 | x | |
| 2 | r ² : El coeficiente de determinación debe ser mayor de 0.995. | 0.99997 | x | |
| 3 | b: Paso del intercepto por cero: Por intervalos de confianza. Debe ser menor o igual a 0.03. | 0.0017 | x | |
| 4 | Comprobación de la curva: La desviación estándar relativa debe ser menor del 5.00 %. | 0.0551% | x | |
| 5 | Homogeneidad de varianzas: La varianza debe ser constante para todas las concentraciones. | 0.0000% | x | |

Gráfica No.1
LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.1: 90517



Fuente: Tabla No.1

Tabla No.5
RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.2: 90518

| | % de Ref. (x) | Absorbancia (nm) Lote No.2₉₀₅₁₈ (y) | Media | Desviación Estándar_(SD) | Coficiente de Variación_(CV) |
|-----|--------------------------|---|--------------|---|---|
| mx1 | 80.00 | 0.481 | 0.481 | 0.0006% | 0.1199% |
| mx2 | 80.00 | 0.481 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.482 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.541 | 0.542 | 0.0006% | 0.1066% |
| mx2 | 90.00 | 0.542 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.542 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.602 | 0.602 | 0.0006% | 0.0959% |
| mx2 | 100.00 | 0.602 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.603 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.661 | 0.661 | 0.0006% | 0.0873% |
| mx2 | 110.00 | 0.661 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.662 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.721 | 0.721 | 0.0006% | 0.0800% |
| mx2 | 120.00 | 0.721 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.722 | | | |

Tabla No.6
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.2: 90518

| Intervalo de Confianza para la Pendiente | | | Intervalo de Confianza para el Intercepto | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|---------|
| $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_1 | | $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_0 | | |
| 95.0 % | 0.00601 \pm 0.0000 | | 95.0 % | 0.00193 \pm 0.0026 | | |
| Error estándar de la pendiente ($s\beta_1$) | | 0.0000 | Error estándar del intercepto ($s\beta_0$) | | 0.0012 | |
| Tabla ANOVA | | | | | | |
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | $F_{crítica}$ | Valor-p |
| Regn. | 0.1079 | 1 | 0.1079 | 251935.41 | 4.6672 | 0.0000 |
| Error | 0.0000 | 13 | 0.0000 | | | |
| Total | 0.1079 | 14 | | | | |
| Test de Cochran | | | | | | |
| Varianzas | | 80.00 | 90.00 | 100.00 | 110.00 | 120.00 |
| Valor G_{exp} | 0.2938 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| No. de puntos (k) | No. de Repeticiones (n) | Criterio CV | Valor G_{tab} (Cochran) | Valor de α | Desviación estandar relativa (RSD) | |
| 5 | 3 | 2.00 % | 0.6838 | 0.05 | 0.0647% | |

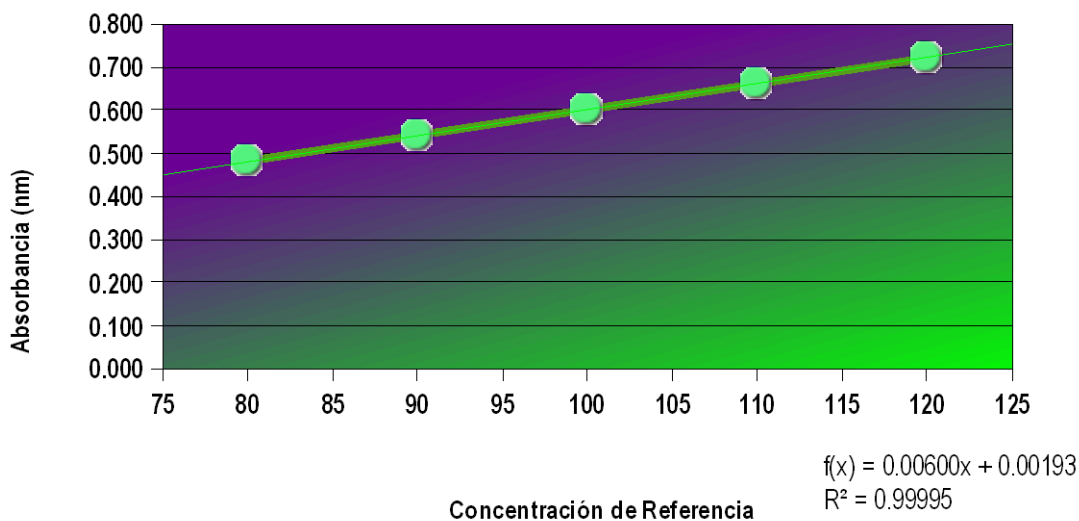
Tabla No.7
RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| | % de Ref. | Absorbancia (nm) | mg de ambroxol | % de ambroxol | Media | Desv. Estándar (SD) | Coef. de Variación (CV) |
|-----|-----------|------------------|----------------|---------------|---------|---------------------|-------------------------|
| std | | 0.600 | | | | | |
| mx1 | 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 80.17 | 80.20% | 0.0924% | 0.1151% |
| mx2 | 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 80.17 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.482 | 7.2300 | 80.33 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.541 | 8.1150 | 90.17 | 90.30% | 0.0924% | 0.1023% |
| mx2 | 90.00 | 0.542 | 8.1300 | 90.33 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.542 | 8.1300 | 90.33 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 100.33 | 100.40% | 0.0981% | 0.0978% |
| mx2 | 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 100.33 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.603 | 9.0450 | 100.50 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.661 | 9.9150 | 110.17 | 110.20% | 0.0924% | 0.0838% |
| mx2 | 110.00 | 0.661 | 9.9150 | 110.17 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.662 | 9.9300 | 110.33 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 120.17 | 120.20% | 0.0924% | 0.0768% |
| mx2 | 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 120.17 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.722 | 10.8300 | 120.33 | | | |

Tabla No.8
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.2: 90518

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | r: El coeficiente de correlación de la regresión lineal debe encontrarse entre 0.98 y 1.00. | 0.99997 | x | |
| 2 | r ² : El coeficiente de determinación debe ser mayor de 0.995. | 0.99995 | x | |
| 3 | b: Paso del intercepto por cero: Por intervalos de confianza. Debe ser menor o igual a 0.03. | 0.0027 | x | |
| 4 | Comprobación de la curva: La desviación estándar relativa debe ser menor del 5.00 %. | 0.0647% | x | |
| 5 | Homogeneidad de varianzas: La varianza debe ser constante para todas las concentraciones. | 0.0000 | x | |

Gráfica No. 2
LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.2: 90518



Fuente: Tabla No.5.

Tabla No.9
RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.3: 90519

| | % de Ref. (x) | Absorbancia (nm) Lote No.3₉₀₅₁₉ (y) | Media | Desviación Estándar_(SD) | Coficiente de Variación_(CV) |
|-----|--------------------------|---|--------------|---|---|
| mx1 | 80.00 | 0.480 | 0.481 | 0.0006% | 0.1201% |
| mx2 | 80.00 | 0.481 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.481 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.541 | 0.542 | 0.0006% | 0.1060% |
| mx2 | 90.00 | 0.542 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.542 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.601 | 0.601 | 0.0006% | 0.0970% |
| mx2 | 100.00 | 0.601 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.602 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.661 | 0.662 | 0.0006% | 0.0873% |
| mx2 | 110.00 | 0.662 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.662 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.721 | 0.721 | 0.0006% | 0.0800% |
| mx2 | 120.00 | 0.722 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.722 | | | |

Tabla No.10
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.3: 90519

| Intervalo de Confianza para la Pendiente | | | Intervalo de Confianza para el Intercepto | | | |
|---|------------------------------------|-------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|---------|
| $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_1 | | $1 - \alpha$ | $(1 - \alpha)$ I.C. para β_0 | | |
| 95.0 % | 0.00602 \pm 0.0000 | | 95.0 % | -0.00040 \pm 0.0.0022 | | |
| Error estándar de la pendiente ($s\beta_1$) | | 0.0000 | Error estándar del intercepto ($s\beta_0$) | | 0.0000 | |
| Tabla ANOVA | | | | | | |
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | $F_{crítica}$ | Valor-p |
| Regn. | 0.1086 | 1 | 0.1086 | 344344.11 | 4.6672 | 0.0000 |
| Error | 0.00 | 13 | 0.00 | | | |
| Total | 0.1086 | 14 | | | | |
| Test de Cochran | | | | | | |
| Varianzas | | 80.00 | 90.00 | 100.00 | 110.00 | 120.00 |
| Valor G_{exp} | 0.2938 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| No. de puntos (k) | No. de Repeticiones (n) | Criterio CV | Valor G_{tab} (Cochran) | Valor de α | Desviación estándar relativa (RSD) | |
| 5 | 3 | 2.00 % | 0.6838 | 0.05 | 0.0554% | |

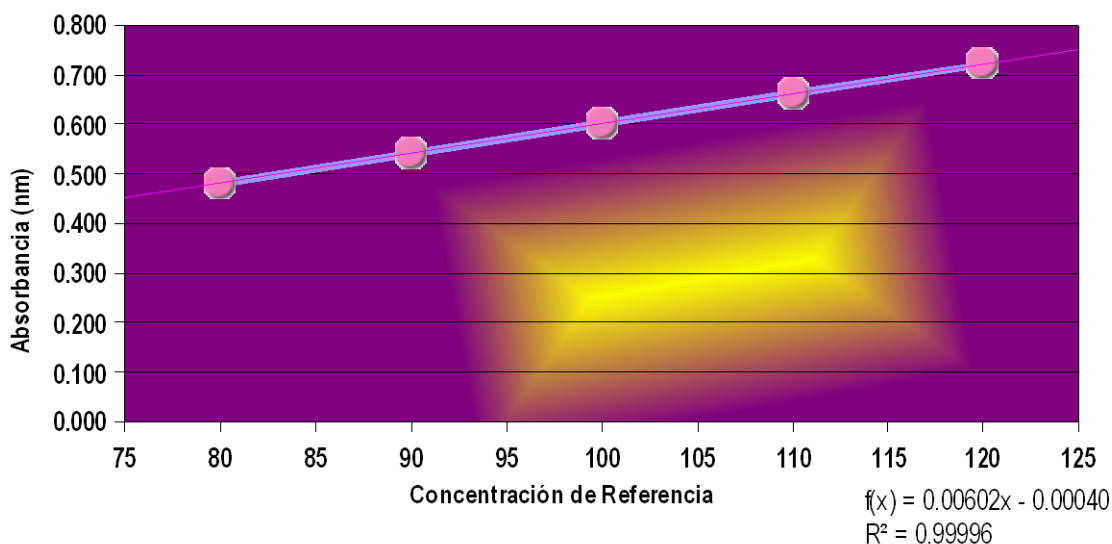
Tabla No.11
RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| | % de Ref. | Absorbancia (nm) | mg de ambroxol | % de ambroxol | Media | Desv. estándar (SD) | Coef. de Variación (CV) |
|-----|-----------|------------------|----------------|---------------|---------|---------------------|-------------------------|
| std | | 0.599 | | | | | |
| mx1 | 80.00 | 0.480 | 7.2120 | 80.13 | 80.24% | 0.0981% | 0.1223% |
| mx2 | 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 80.30 | | | |
| mx3 | 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 80.30 | | | |
| mx1 | 90.00 | 0.541 | 8.1285 | 90.32 | 90.37% | 0.0924% | 0.1022% |
| mx2 | 90.00 | 0.541 | 8.1235 | 90.32 | | | |
| mx3 | 90.00 | 0.542 | 8.1436 | 90.48 | | | |
| mx1 | 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | 100.39% | 0.0981% | 0.0978% |
| mx2 | 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | | | |
| mx3 | 100.00 | 0.602 | 9.0451 | 100.50 | | | |
| mx1 | 110.00 | 0.661 | 9.9316 | 110.35 | 110.46% | 0.0981% | 0.0889% |
| mx2 | 110.00 | 0.662 | 9.9466 | 110.52 | | | |
| mx3 | 110.00 | 0.662 | 9.9466 | 110.52 | | | |
| mx1 | 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 120.37 | 120.42% | 0.0924% | 0.0767% |
| mx2 | 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 120.37 | | | |
| mx3 | 120.00 | 0.722 | 10.8481 | 120.53 | | | |

Tabla No.12
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.3: 90519

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | r: El coeficiente de correlación de la regresión lineal debe encontrarse entre 0.98 y 1.00. | 0.99998 | X | |
| 2 | r ² : El coeficiente de determinación debe ser mayor de 0.995. | 0.99996 | X | |
| 3 | b: Paso del intercepto por cero: Por intervalos de confianza. Debe ser menor ó igual a 0.03. | 0.0006% | X | |
| 4 | Comprobación de la curva: La desviación estándar relativa debe ser menor del 5.00 %. | 0.0554% | X | |
| 5 | Homogeneidad de varianzas: La varianza debe ser constante para todas las concentraciones. | 0.0000% | X | |

Gráfica No. 3
LINEALIDAD Y RANGO
DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE
LOTE No.3: 90519



Fuente: Tabla No.9

Tabla No.13
RESULTADOS DE PRECISI3N INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| % Ref. | Día 1 | | | | | Día 2 | | | | |
|---|---------------|-------------------|----------------------------------|--------|-------------------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------|--------|-------------------------------|
| | Abs.* (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperaci3n ambroxol | Media | Coef. de Variaci3n (CV) | Abs.* (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperaci3n ambroxol | Media | Coef. de Variaci3n (CV) |
| std | 0.604 | | | | | 0.603 | | | | |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 100.17 | 100.17 | 0.0000% | 0.484 | 7.2239 | 100.33 | 100.47 | 0.2414% |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 100.17 | | | | | | | |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 100.17 | | | | | | | |
| 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 100.17 | 100.22 | 0.0922% | 0.605 | 9.0299 | 100.33 | 100.39 | 0.0978% |
| 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 100.17 | | | | | | | |
| 100.00 | 0.606 | 9.0298 | 100.33 | | | | | | | |
| 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 100.03 | 100.08 | 0.0808% | 0.726 | 10.8358 | 100.33 | 100.47 | 0.2414% |
| 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 100.03 | | | | | | | |
| 120.00 | 0.726 | 10.8179 | 100.17 | | | | | | | |
| Datos Individuales | | | | 100.16 | 0.0887% | Datos Individuales | | | 100.44 | 0.1823% |
| Datos Globales | | | | | | | | | | |
| Desviaci3n est3andar global: 0.2027%. | | | | | | | | | | |
| Coeficiente de variaci3n global: 0.2021%. | | | | | | | | | | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PRECISIÓN INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| Tabla ANOVA ($\alpha = 0.05$) | | | | | | |
|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|----------------|
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | F_{crítica} | Valor-p |
| Muestras | 0.0068 | 2 | 0.0034 | 0.1468 | 13.7336 | 0.8648 |
| Analista | 0.3669 | 1 | 0.3669 | 15.8190 | 20.2424 | 0.0014 |
| Error | 0.3247 | 14 | 0.0232 | | | |
| Total | 0.6985 | 17 | | | | |

Tabla No.15
RESULTADOS REPETIBILIDAD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| No. de Determinación | % de Referencia | % de Recuperación (Datos obtenidos con el análisis de Exactitud) |
|--|------------------------|---|
| 1 | 80.00 % | 100.04 % |
| 2 | 80.00 % | 100.04 % |
| 3 | 80.00 % | 100.25 % |
| 4 | 100.00 % | 100.00 % |
| 5 | 100.00 % | 100.00 % |
| 6 | 100.00 % | 100.16 % |
| 7 | 120.00 % | 100.11 % |
| 8 | 120.00 % | 100.11 % |
| 9 | 120.00 % | 100.11 % |
| Media | | 100.09 % |
| Desviación estándar (SD) | | 0.0813% |
| % Coeficiente de Variación (CV) | | 0.0812% |

Tabla No.16
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA PRECISIÓN
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación debe ser igual ó menor del 2.00 %. | 0.2021% | x | |
| 2 | Precisión Intermedia: El valor-p debe ser mayor al α (0.05) especificado. | 0.8648 | x | |
| 3 | Repetibilidad: El Coeficiente de Variación (CV) debe ser menor de 2.00 %. | 0.0813% | x | |
| 4 | Repetibilidad: La máxima Desviación estándar debe ser menor ó igual al 2.00 %. | 0.0812% | x | |

Tabla No.17
RESULTADOS DE PRECISIÓN INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| % Ref. | Día 1 | | | | | Día 2 | | | | | |
|---|---------------|-------------------|----------------------------------|---------|-------------------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------|---------|-------------------------------|---------|
| | Abs.* (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperación ambroxol | Media | Coef. de Variación (CV) | Abs.* (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperación ambroxol | Media | Coef. de Variación (CV) | |
| Std | 0.600 | | | | | 0.599 | | | | | |
| 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 100.21 | 100.28% | 0.1209% | 0.480 | 7.2120 | 100.17 | 100.24% | 0.1210% | |
| 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 100.21 | | | 0.480 | 7.2120 | 100.17 | | | |
| 80.00 | 0.482 | 7.2300 | 100.42 | | | 0.480 | 7.2270 | 100.38 | | | |
| 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 100.33 | 100.39% | 0.0978% | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | 100.39% | 0.0978% | |
| 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 100.33 | | | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | | | |
| 100.00 | 0.603 | 9.0450 | 100.50 | | | 0.602 | 9.0451 | 100.50 | | | |
| 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 100.14 | 100.19% | 0.0807% | 0.720 | 10.8180 | 100.17 | 100.22% | 0.0807% | |
| 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 100.14 | | | 0.720 | 10.8180 | 100.17 | | | |
| 120.00 | 0.722 | 10.8300 | 100.28 | | | 0.721 | 10.8331 | 100.31 | | | |
| Datos Individuales | | | | 100.28% | 0.1231% | Datos Individuales | | | | 100.28% | 0.1184% |
| Datos Globales | | | | | | | | | | | |
| Desviación estándar global: 0.1175%. | | | | | | | | | | | |
| Coeficiente de variación global: 0.1171%. | | | | | | | | | | | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PRECISIÓN INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| Tabla ANOVA ($\alpha = 0.05$) | | | | | | |
|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|----------------|
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | F_{crítica} | Valor-p |
| Muestras | 0.1073 | 2 | 0.0537 | 5.9089 | 13.7336 | 0.0138 |
| Analista | 0.0000 | 1 | 0.0000 | 0.0055 | 20.2424 | 0.9414 |
| Error | 0.1272 | 14 | 0.0091 | | | |
| Total | 0.2346 | 17 | | | | |

Tabla No.19
RESULTADOS REPETIBILIDAD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| No. de Determinación | % de Referencia | % de Recuperación (Datos obtenidos con el análisis de Exactitud) |
|--|------------------------|---|
| 1 | 80.00 % | 100.04 % |
| 2 | 80.00 % | 100.04 % |
| 3 | 80.00 % | 100.04% |
| 4 | 100.00 % | 100.17% |
| 5 | 100.00 % | 100.17% |
| 6 | 100.00 % | 100.16 % |
| 7 | 120.00 % | 100.11 % |
| 8 | 120.00 % | 100.11 % |
| 9 | 120.00 % | 99.97% |
| Media | | 100.08% |
| Desviación estándar (SD) | | 0.1050% |
| % Coeficiente de Variación (CV) | | 0.1049% |

Tabla No.20
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA PRECISIÓN
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación debe ser igual ó menor del 2.00 %. | 0.1171% | x | |
| 2 | Precisión Intermedia: El valor-p debe ser mayor al α (0.05) especificado. | 0.9419 | x | |
| 3 | Repetibilidad: El Coeficiente de Variación (CV) debe ser menor de 2.00 %. | 0.1059% | x | |
| 4 | Repetibilidad: La máxima Desviación estándar debe ser menor ó igual al 2.00 %. | 0.1049% | x | |

Tabla No.21
RESULTADOS DE PRECISI3N INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| % Ref. | Día 1 | | | | | Día 2 | | | | |
|---|-----------|----------------|----------------------------|---------|-------------------------|---------------------------|----------------|----------------------------|---------|-------------------------|
| | Abs. (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperación ambroxol | Media | Coef. de Variación (CV) | Abs. (nm) | mg de ambroxol | % de Recuperación ambroxol | Media | Coef. de Variación (CV) |
| std | 0.599 | | | | | 0.601 | | | | |
| 80.00 | 0.480 | 7.2120 | 100.17 | 100.31% | 0.1209% | 0.481 | 7.2030 | 100.04 | 100.18% | 0.1210% |
| 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 100.38 | | | 0.482 | 7.2180 | 100.25 | | |
| 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 100.38 | | | 0.482 | 7.2180 | 100.25 | | |
| 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | 100.39% | 0.0978% | 0.603 | 9.0300 | 100.33 | 100.44% | 0.1954% |
| 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 100.33 | | | 0.603 | 9.0300 | 100.33 | | |
| 100.00 | 0.602 | 9.0451 | 100.50 | | | 0.605 | 9.0599 | 100.67 | | |
| 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 100.31 | 100.36% | 0.0805% | 0.724 | 10.8419 | 100.39 | 100.39% | 0.0000% |
| 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 100.31 | | | 0.724 | 10.8419 | 100.39 | | |
| 120.00 | 0.722 | 10.8481 | 100.45 | | | 0.724 | 10.8419 | 100.39 | | |
| Datos Individuales | | | | 100.35% | 0.0937% | Datos Individuales | | | 100.34% | 0.1663% |
| Datos Globales | | | | | | | | | | |
| Desviación estándar global: 0.1316%. | | | | | | | | | | |
| Coeficiente de variación global: 0.1311%. | | | | | | | | | | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PRECISIÓN INTERMEDIA
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| Tabla ANOVA ($\alpha = 0.05$) | | | | | | |
|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|----------------|
| Fuente | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F_{cal} | F_{crítica} | Valor-p |
| Muestras | 0.0942 | 2 | 0.0471 | 3.3101 | 13.7336 | 0.0665 |
| Analista | 0.0008 | 1 | 0.0008 | 0.0562 | 20.2424 | 0.8160 |
| Error | 0.1992 | 14 | 0.0142 | | | |
| Total | 0.2942 | 17 | | | | |

Tabla No.23
RESULTADOS REPETIBILIDAD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| No. de Determinación | % de Referencia | % de Recuperación (Datos obtenidos con el análisis de Exactitud) |
|--|------------------------|---|
| 1 | 80.00 % | 100.04 % |
| 2 | 80.00 % | 100.04 % |
| 3 | 80.00 % | 100.25 % |
| 4 | 100.00 % | 100.00% |
| 5 | 100.00 % | 100.16 % |
| 6 | 100.00 % | 100.00 % |
| 7 | 120.00 % | 100.25 % |
| 8 | 120.00 % | 100.39 % |
| 9 | 120.00 % | 100.25 % |
| Media | | 100.15 % |
| Desviación estándar (SD) | | 0.1400% |
| % Coeficiente de Variación (CV) | | 0.1398% |

Tabla No.24
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA PRECISIÓN
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|--|------------|-----------|-----------|
| 1 | Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación debe ser igual ó menor del 2.00 %. | 0.1311% | x | |
| 2 | Precisión Intermedia: El valor-p debe ser mayor al α (0.05) especificado. | 0.0665 | x | |
| 3 | Repetibilidad: El Coeficiente de Variación (CV) debe ser menor de 2.00 %. | 0.1400% | x | |
| 4 | Repetibilidad: La máxima Desviación estándar debe ser menor ó igual al 2.00 %. | 0.1398% | x | |

Tabla No.25
ANÁLISIS DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

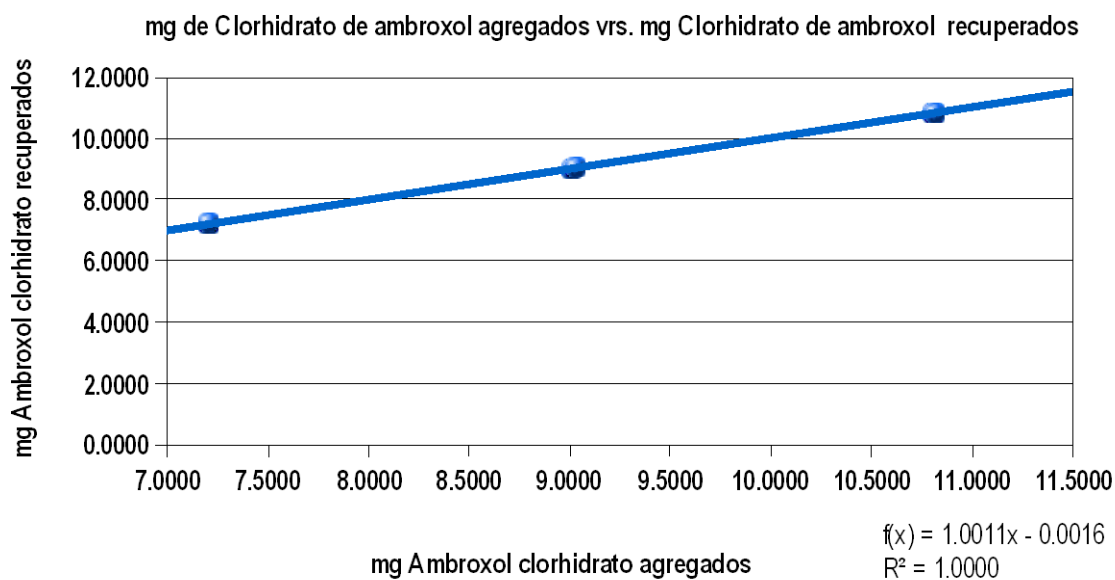
| | | X | | Y | | | | | | |
|-----------|------------|----------------|------------|---|-------------------|----------|----------|----------|--------------------|-------------------------------------|
| % de Ref. | Abs.* (nm) | mg de ambroxol | Abs.* (nm) | mg de ambroxol recuperados (adición de std) | Desv. Estánd (SD) | XY | X^2 | Y^2 | Y_1 % de Recobro | Y_1^2 % de (Recobro) ² |
| std | 0.604 | | 0.605 | | | | | | | |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 0.485 | 7.2149 | 0.0086% | 52.0331 | 52.0115 | 52.0548 | 100.04 | 10008.32 |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 0.485 | 7.2149 | | 52.0331 | 52.0115 | 52.0548 | 100.04 | 10008.32 |
| 80.00 | 0.484 | 7.2119 | 0.486 | 7.2298 | | 52.1406 | 52.0115 | 52.2700 | 100.25 | 10049.70 |
| 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 0.606 | 9.0149 | 0.0171% | 81.2684 | 81.2684 | 81.2684 | 100.00 | 10000.00 |
| 100.00 | 0.605 | 9.0149 | 0.606 | 9.0149 | | 81.2684 | 81.2684 | 81.2684 | 100.00 | 10000.00 |
| 100.00 | 0.606 | 9.0298 | 0.608 | 9.0446 | | 81.6709 | 81.5373 | 81.8048 | 100.16 | 10032.81 |
| 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 0.727 | 10.8149 | 0.0086% | 116.8334 | 116.7048 | 116.9621 | 100.11 | 10022.04 |
| 120.00 | 0.725 | 10.8030 | 0.727 | 10.8149 | | 116.8334 | 116.7048 | 116.9621 | 100.11 | 10022.04 |
| 120.00 | 0.726 | 10.8179 | 0.728 | 10.8298 | | 117.1557 | 117.0270 | 117.2846 | 100.11 | 10022.01 |
| SUMA | | 81.1192 | | 81.1936 | | 751.2371 | 750.5452 | 751.9299 | 900.82 | 90165.25 |
| MEDIA | | 9.0132 | | 9.0215 | | | | | 100.09 | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.26
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| Referencia | | Resultado |
|--|---------------------------|-------------------------|
| Número de datos | | 9 |
| Desviación estándar del % de Recobro | | 0.0812% |
| Coeficiente de variación (CV) del % de Recobro | | 0.0813% |
| Coeficiente de determinación (r^2) | | 1.0000 |
| Coeficiente de correlación (r) | | 1.0000 |
| Pendiente (b_1) | | 1.0011 |
| Ordenada al origen (b_0) | | -0.0016 |
| Test t de student | | |
| $\alpha = 0.05$ | Grados de libertad = 2 | Media %recobro = 100.09 |
| $t_{\text{tablas}} = 4.303$ | $t_{\text{exp}} = 1.9198$ | |
| Valor de p | 0.1689 | |

Gráfica No.27
EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517



Fuente: Tabla No.25.

Tabla No.28
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.1: 90517

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|---|------------------------------|-----------|-----------|
| 1 | La pendiente de la ecuación lineal resultante de la cantidad adicionada vrs. La cantidad recuperada debe ser mayor 0.95. | 1.0011 | x | |
| 2 | Coeficiente de variación (CV) del % Recobro debe ser menor o igual al 2.00 %. | 0.0812% | x | |
| 3 | Test de t: el t_{exp} debe ser menor que el t_{tablas} . | $1.9198_{exp} < 4.303_{tab}$ | x | |
| 4 | El valor de P debe ser mayor que α (0.05). | 0.1689 > 0.05 | x | |
| 5 | Los porcentajes de recuperación obtenidos: Deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método. | 99.2 – 100.8 % 100.09 % | x | |

Tabla No.29
ANÁLISIS DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

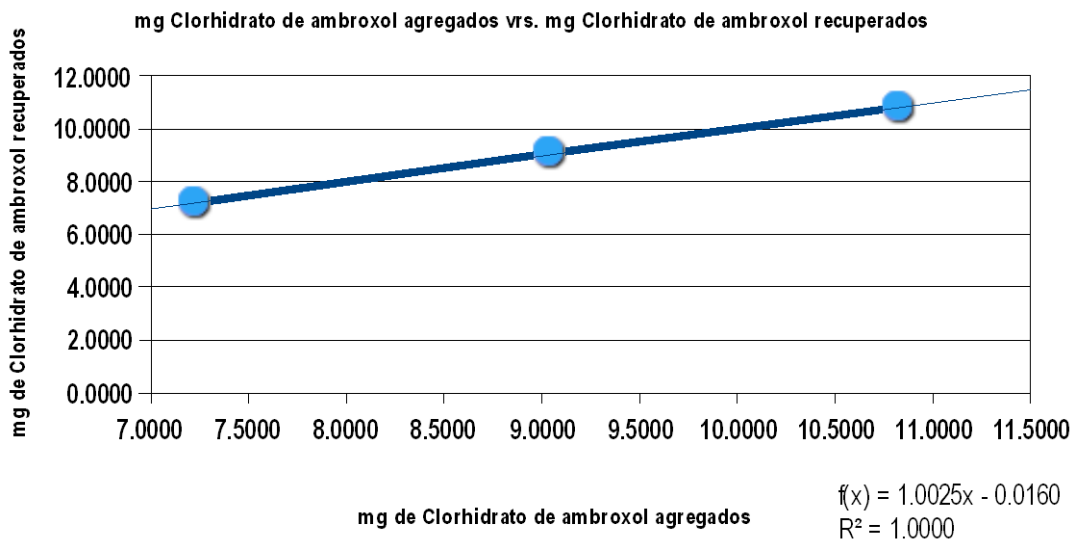
| | | X | | Y | | | | | | |
|-----------|-----------|----------------|-----------|---|-------------------|----------|----------|----------|--------------------|-------------------------------------|
| % de Ref. | Abs. (nm) | mg de ambroxol | Abs. (nm) | mg de ambroxol recuperados (adición de std) | Desv. Estánd (SD) | XY | X^2 | Y^2 | Y_1 % de Recobro | Y_1^2 % de (Recobro) ² |
| std | 0.600 | | 0.601 | | | | | | | |
| 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 0.482 | 7.2180 | 0.0000% | 52.0779 | 52.0562 | 52.0995 | 100.04 | 10008.32 |
| 80.00 | 0.481 | 7.2150 | 0.482 | 7.2180 | | 52.0779 | 52.0562 | 52.0995 | 100.04 | 10008.32 |
| 80.00 | 0.482 | 7.2300 | 0.483 | 7.2180 | | 52.1861 | 52.2729 | 52.0995 | 99.83 | 9966.83 |
| 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 0.604 | 9.0449 | 0.0087% | 81.6754 | 81.5409 | 81.8102 | 100.17 | 10033.03 |
| 100.00 | 0.602 | 9.0300 | 0.604 | 9.0449 | | 81.6754 | 81.5409 | 81.8102 | 100.17 | 10033.03 |
| 100.00 | 0.603 | 9.0450 | 0.605 | 9.0599 | | 81.9468 | 81.8120 | 82.0818 | 100.16 | 10032.97 |
| 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 0.723 | 10.8270 | 0.0000% | 117.0940 | 116.9642 | 117.2239 | 100.11 | 10022.20 |
| 120.00 | 0.721 | 10.8150 | 0.723 | 10.8270 | | 117.0940 | 116.9642 | 117.2239 | 100.11 | 10022.20 |
| 120.00 | 0.722 | 10.8300 | 0.723 | 10.8270 | | 117.2564 | 117.2889 | 117.2239 | 99.97 | 9994.46 |
| SUMA | | 81.2250 | | 81.2847 | | 753.0840 | 752.4965 | 753.6726 | 900.61 | 90121.37 |
| MEDIA | | 9.0250 | | 9.0316 | | | | | 100.07 | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| Referencia | | Resultado |
|--|-------------------------------|--------------------------------|
| Número de datos | | 9 |
| Desviación estándar del % de Recobro | | 0.1050% |
| Coeficiente de variación (CV) del % de Recobro | | 0.1049% |
| Coeficiente de determinación (r^2) | | 1.0000 |
| Coeficiente de correlación (r) | | 1.0000 |
| Pendiente (b_1) | | 1.0025 |
| Ordenada al origen (b_0) | | -0.0160 |
| Test t de student | | |
| $\alpha = 0.05$ | Grados de libertad = 2 | Media %recobro = 100.08 |
| $t_{tablas} = 4.303$ | $t_{exp} = 1.3209$ | |
| Valor de p | 0.2685 | |

Gráfica No.6
EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518



Fuente: Tabla No.29

Tabla No.31
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.2: 90518

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|---|------------------------------|-----------|-----------|
| 1 | La pendiente de la ecuación lineal resultante de la cantidad adicionada vrs. La cantidad recuperada debe ser mayor 0.95. | 1.0025 | x | |
| 2 | Coefficiente de variación (CV) del % Recobro debe ser menor o igual al 2.00 %. | 0.1149% | x | |
| 3 | Test de t: el t_{exp} debe ser menor que el t_{tablas} . | $1.3209_{exp} < 4.303_{tab}$ | x | |
| 4 | El valor de P debe ser mayor que α (0.05). | $0.2685 > 0.05$ | x | |
| 5 | Los porcentajes de recuperación obtenidos: Deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método. | 99.52 – 100.48 % 100.08 % | x | |

Tabla No.32
ANÁLISIS DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

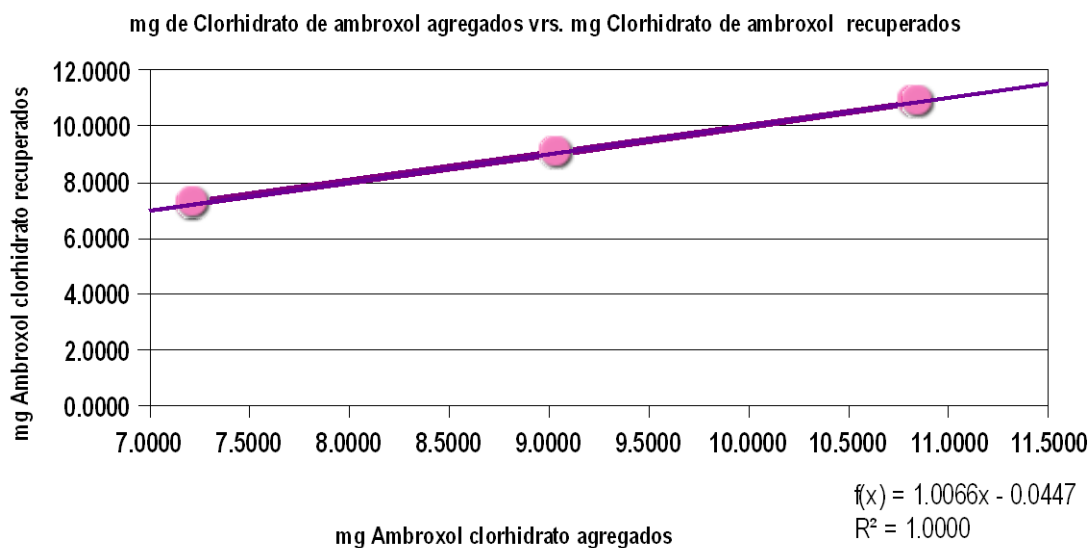
| | | X | | Y | | | | | | |
|--------------|-----------|----------------|-----------|---|-------------------|----------|----------|----------|--------------------|-------------------------------------|
| % de Ref. | Abs. (nm) | mg de ambroxol | Abs. (nm) | mg de ambroxol recuperados (adición de std) | Desv. Estánd (SD) | XY | X^2 | Y^2 | Y_1 % de Recobro | Y_1^2 % de (Recobro) ² |
| std | 0.599 | | 0.600 | | | | | | | |
| 80.00 | 0.480 | 7.2120 | 0.481 | 7.2150 | 0.0150% | 52.0346 | 52.0129 | 52.0562 | 100.04 | 10008.32 |
| 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 0.482 | 7.2300 | | 52.2512 | 52.2295 | 52.2729 | 100.04 | 10008.30 |
| 80.00 | 0.481 | 7.2270 | 0.483 | 7.2450 | | 52.3596 | 52.2295 | 52.4900 | 100.25 | 10049.88 |
| 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 0.602 | 9.0300 | 0.0087% | 81.5418 | 81.5427 | 81.5409 | 100.00 | 9999.78 |
| 100.00 | 0.601 | 9.0301 | 0.603 | 9.0450 | | 81.6773 | 81.5427 | 81.8120 | 100.17 | 10033.03 |
| 100.00 | 0.602 | 9.0451 | 0.603 | 9.0450 | | 81.8129 | 81.8138 | 81.8120 | 100.00 | 9999.78 |
| 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 0.724 | 10.8600 | 0.0087% | 117.6475 | 117.3561 | 117.9396 | 100.25 | 10049.72 |
| 120.00 | 0.721 | 10.8331 | 0.725 | 10.8750 | | 117.8100 | 117.3561 | 118.2656 | 100.39 | 10077.51 |
| 120.00 | 0.722 | 10.8481 | 0.725 | 10.8750 | | 117.9731 | 117.6813 | 118.2656 | 100.25 | 10049.66 |
| SUMA | | 81.2856 | | 81.4200 | | 755.1079 | 753.7646 | 756.4550 | 901.38 | 90275.97 |
| MEDIA | | 9.0317 | | 9.0467 | | | | | 100.15 | |

*Abs. = Absorbancia

Tabla No.33
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| Referencia | | Resultado |
|--|-------------------------------|--------------------------------|
| Número de datos | | 9 |
| Desviación estándar del % de Recobro | | 0.1400% |
| Coeficiente de variación (CV) del % de Recobro | | 0.1398% |
| Coeficiente de determinación (r^2) | | 1.0000 |
| Coeficiente de correlación (r) | | 1.0000 |
| Pendiente (b_1) | | 1.0066 |
| Ordenada al origen (b_0) | | -0.04 |
| Test t de student | | |
| $\alpha = 0.05$ | Grados de libertad = 2 | Media %recobro = 100.15 |
| $t_{tablas} = 4.303$ | $t_{exp} = 1.8584$ | |
| Valor de p | 0.1078 | |

Gráfica No.7
EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519



Fuente: Tabla No.32.

Tabla No.34
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO Y CRITERIOS EVALUADOS PARA EXACTITUD
CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE LOTE No.3: 90519

| No. | Parámetro de desempeño y criterios evaluados | Resultados | Sí cumple | No cumple |
|-----|---|------------------------------|-----------|-----------|
| 1 | La pendiente de la ecuación lineal resultante de la cantidad adicionada vrs. La cantidad recuperada debe ser mayor 0.95. | 1.0066 | x | |
| 2 | Coefficiente de variación (CV) del % Recobro debe ser menor o igual al 2.00 %. | 0.1398% | x | |
| 3 | Test de t: el t_{exp} debe ser menor que el t_{tablas} . | $1.8584_{exp} < 4.303_{tab}$ | x | |
| 4 | El valor de P debe ser mayor que α (0.05). | $0.1078 > 0.05$ | x | |
| 5 | Los porcentajes de recuperación obtenidos: Deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método. | 99.48 – 100.52 % 100.15 % | x | |

Tabla No. 35
RESULTADOS GLOBALES DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO DE
CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL JARABE

| Fuente | Suma Cuadrados (SC) | Grados de libertad (gl) | Media cuadrática (MC) | F _{calc} | F _{crítico} | Valor-p |
|------------------|---------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|---------|
| ANOVA A-a | | | | | | |
| Entre | 0.00 | 1 | 0.00 | 0.1676 | 46.08 | 0.6964 |
| Dentro | 0.14 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA B-b | | | | | | |
| Entre | 0.08 | 1 | 0.08 | 6.2550 | 46.08 | 0.0465 |
| Dentro | 0.07 | 6 | 0.01 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA C-c | | | | | | |
| Entre | 0.03 | 1 | 0.03 | 1.4376 | 46.08 | 0.2757 |
| Dentro | 0.12 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA D-d | | | | | | |
| Entre | 0.00 | 1 | 0 | 0.1317 | 46.08 | 0.7291 |
| Dentro | 0.15 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA E-e | | | | | | |
| Entre | 0.03 | 1 | 0.03 | 1.5924 | 46.08 | 0.2538 |
| Dentro | 0.12 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA F-f | | | | | | |
| Entre | 0.00 | 1 | 0.00 | 0.1003 | 46.08 | 0.7622 |
| Dentro | 0.15 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |
| ANOVA G-g | | | | | | |
| Entre | 0.00 | 1 | 0.00 | 0.1317 | 46.08 | 0.7291 |
| Dentro | 0.15 | 6 | 0.02 | | | |
| Total | 0.15 | 7 | | | | |



Susana Paola Carranza Díaz
Autora



Licda. Claudia Villeda
Asesora



~~Licda. Leslie Amaza~~

Co-asesora



Lic. Julio Chinchilla
Revisor



Lic. Estuardo Serrano Vives, Ms.A.
Director de Escuela



Dr. Oscar Cobar Pinto
Decano