

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



CUANTIFICACION DE PRESERVANTES EN DOS FORMAS
FARMACEUTICAS LIQUIDAS (SOLUCIONES Y SUSPENSIONES)

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

KATHERINE ELIZABETH ALVARADO GONZALEZ

MARIA DE LOS ANGELES CHAVEZ GARCIA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

**ASESORA DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

DOCENTES ASESORAS

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

Licda. Gloria Cecilia Menjívar de Sagastume

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirnos llegar a este último peldaño, gracias porque nunca permitiste que perdiéramos la fe en ti.

A nuestros docentes asesores: Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez y Licda. Gloria Cecilia Menjívar de Sagastume, por ser esas guías en todo momento para culminar nuestro trabajo de graduación, gracias por acompañarnos durante todo este proceso, por toda la paciencia y por enseñarnos tanto. Que Dios las siga bendiciendo.

Al Laboratorio Farmacéutico nacional, por permitirnos realizar nuestro trabajo de campo; por darnos a rienda suelta todos los insumos que eran necesarios, para llevar a cabo este trabajo de graduación.

Al personal de esta corporación que directamente o indirectamente aportó su granito de arena para poder llevar a cabo todo el proceso. Que Dios los bendiga enormemente.

Katherine Elizabeth Alvarado González

María de los Ángeles Chávez García

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta aquí siendo la luz en cada paso de mi vida por que sin él nada es posible, por darme paciencia, perseverancia y recordarme que todo lo que permites es necesario para poder avanzar y recibir tus bendiciones. A ti debo lo que soy y lo que tengo. Dios ha sido bueno!

A mi Mama, Rosario González por todo tu apoyo, esfuerzo incansable y motivación constante en momentos difíciles, por formarme con reglas y con algunas libertades para alcanzar mis sueños, por ser ese pilar fundamental en mi formación como profesional y querer lo mejor para mí.

A mis Papas, Dios me dio la oportunidad de tener conmigo a dos, agradezco todo su apoyo, esfuerzo para que no me faltara nada y por haber estado ahí cuando más lo necesite, aunque uno ya no se encuentre conmigo físicamente sé que espiritualmente lo está.

A mis Hermanos, por el valioso apoyo que me han brindado para alcanzar este logro.

A mi amiga y compañera de tesis, María Chávez por la paciencia y persistencia en todo momento fue una dicha poder compartir todos los momentos de este proceso el cual nos mantuvo juntas para lograr este sueño que hoy finalizamos, los tiempos de Dios son perfectos!

A mis Familiares y Amigos, gracias por el apoyo brindado desinteresadamente y por darme la mano cuando lo necesite.

Katherine Elizabeth Alvarado González

DEDICATORIA

A Dios, quien como guía estuvo presente en el caminar de mi vida, bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer.

A mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas.

A mi madre Gladis de Chávez, por estar dispuesta a acompañarme cada larga y agotadora noche de estudio.

A mi padre Ángel Chávez, por siempre desear y anhelar lo mejor para mi vida, gracias por cada consejo y por cada una de sus palabras que me guiaron durante mi vida. Gracias por ser ese apoyo incondicional en cada realizado. No resta más que decir que lo logramos.

A mis hermanos Gladis Chávez y Gabriel Chávez, por darme ánimos en momentos que quise desistir. Gracias por estar siempre para mí.

A mi eterno novio Juan Carlos, por apoyarme en este proceso y por confiar en mí. Te amo mi dulce esposo.

A mi compañera y amiga de tesis, Katherine Alvarado agradecerte por tu confianza y persistencia, sé que dábamos paso de tortugas, pero íbamos firmes a nuestro objetivo principal. Amiga nada más que decir, "LO LOGRAMOS"

María de los Ángeles Chávez García

INDICE GENERAL

	Pág. N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xxiv
Capítulo II	
2.0 Objetivos	27
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	29
3.1 Generalidades	29
3.2 Generalidades sobre antimicrobianos	30
3.3 Conservantes Químicos	32
3.4 Parabenos	32
3.4.1 Aplicaciones de los Parabenos	33
3.5 Estabilidad Farmacéutica	35
3.5.1 Evaluaciones del Estudio de Estabilidad de un Medicamento.	36
3.6 Validación de un método analítico.	39
3.6.1 Procedimientos analíticos que deben ser validados.	39
3.6.2 Las características de desempeño analítico atípicas utilizadas para la validación de métodos.	40
3.6.3 Datos requeridos para la Validación.	56
3.6.4 Métodos de las adiciones estándar.	57

3.7 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC)	58
3.7.1 Definiciones e interpretación de cromatogramas.	61
3.7.2 Aptitud del Sistema	63
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	68
4.1 Tipo de Estudio	68
4.2 Investigación bibliográfica	68
4.3 Investigación de campo	68
4.4 Parte Experimental	70
4.4.1 Etapa I: Estandarización de Materias Primas.	71
4.4.2 Etapa II: Validación del método de ensayo para las Materias Primas.	76
4.4.3 Etapa III: Parámetros de desempeño a evaluar para la validación del método de ensayo para Producto.	100
4.4.4 Etapa IV: Cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno en Solución y Suspensión.	153
Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados.	161
5.1 Etapa I: Estandarización de Materias Primas.	161
5.2 Etapa II: Validación del método de ensayo para Materias Primas.	162
5.3 Etapa III: Validación del método de ensayo en producto	171
5.4 Etapa IV: Cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno.	192
Capítulo VI	

6.0 Conclusiones	198
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	201
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág. N°
1	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del sistema en Metilparabeno.	163
2	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno.	164
3	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del sistema en Propilparabeno.	168
4	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno.	169
5	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	172
6	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	173
7	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	177
8	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	178
9	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	182
10	Cumplimiento de la Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	183
11	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	187
12	Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	188

13	Resultados de Preservantes para la forma farmacéutica Solución (Jarabe) sobre el cumplimiento de especificación de agentes Preservantes 80.0%-120.0% según USP 40, NF 35 año 2017.	193
14	Resultados obtenidos para la forma farmacéutica Solución (Jarabe) sobre el cumplimiento de Especificación de agentes conservadores 80.0%-120.0% USP 40, NF 35 año 2017.	194
15	Resultados obtenidos de la cuantificación de agentes preservantes para la forma farmacéutica Suspensión sobre el cumplimiento de especificación de agentes Preservantes 80.0%-120.0% según USP 40, NF 35 año 2017.	195
16	Conformidad de resultados para la forma farmacéutica Suspensión sobre el cumplimiento de Especificación de agentes conservadores 80.0%-120.0% USP 40, NF 35 año 2017.	196

INDICE DE TABLAS

TABLA N°		Pág. N°
1	Usos del Metilparabeno en preparaciones Farmacéuticas.	34
2	Usos del Propilparabeno en preparaciones farmacéuticas.	35
3	Intervalos especificados mínimos en validación de métodos.	40
4	Datos requeridos para la Validación.	57
5	Resultados de Estandarización Metilparabeno.	161
6	Resultados de Estandarización Propilparabeno.	162
7	Resultados de la prueba de Especificidad Metilparabeno.	162
8	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema de Metilparabeno.	162
9	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema Metilparabeno.	163
10	Resultados de la prueba de Linealidad del Método de Metilparabeno.	164
11	Resultados de la prueba de Precisión Metilparabeno.	165
12	Resultados de la prueba de Precisión Intermedia Metilparabeno.	165
13	Resultados de la prueba de Exactitud de Metilparabeno.	166
14	Resultados de la prueba de Especificidad Propilparabeno.	166

15	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno.	167
16	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno.	167
17	Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno.	168
18	Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno.	169
19	Resultados de la prueba de Precisión Intermedia en Propilparabeno.	170
20	Resultados de la prueba de Exactitud en Propilparabeno.	170
21	Resultados de la prueba de Especificidad en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	171
22	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	171
23	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	172
24	Resultados de la prueba Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	173
25	Resultados de la prueba de Precisión en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	174
26	Resultados de la prueba de Precisión Intermedia en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	174
27	Resultados de la prueba de Exactitud en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	175

28	Resultados de la prueba de Estabilidad de la Muestra en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	175
29	Resultados de la prueba de Especificidad en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	176
30	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	176
31	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	177
32	Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	178
33	Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	179
34	Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	179
35	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	180
36	Resultados de la prueba de Estabilidad de Muestra en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución.	180
37	Resultados de la prueba de Especificidad en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	181
38	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	181
39	Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	182

40	Resultados de Linealidad del Método de Metilparabeno en una Suspensión.	183
41	Resultados de la prueba de Precisión en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	184
42	Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	184
43	Resultados de la prueba de Exactitud en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	185
44	Resultados de la prueba de Estabilidad de la Muestra en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	185
45	Resultados de la prueba de Especificidad en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	186
46	Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	186
47	Resultados de la prueba de Linealidad del sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	187
48	Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	188
49	Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	189
50	Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	189
51	Resultados de la prueba de Exactitud Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	190

52	Resultados de la prueba de Estabilidad de la muestra Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.	190
53	Resumen de resultados de la Validación de metodología para el ensayo de Preservantes.	191
54	Resumen de resultados de la Validación de la metodología para ensayo de Preservantes en producto.	191
55	Resultados Estándar al 100% de Metilparabeno y Propilparabeno.	193
56	Resultados Cuantificación de agentes conservadores en las diferentes muestras de laboratorios participantes en el estudio para la Forma Farmacéutica Solución (Jarabe).	194
57	Resultados Cuantificación de agentes conservadores en las diferentes muestras de laboratorios participantes en el estudio para la Forma Farmacéutica Suspensión.	200

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Diagrama de desarrollo del proceso de investigación de campo y parte experimental.
- 2 Establecimientos inscritos ante la Dirección Nacional de Medicamentos del Área Metropolitana de San Salvador (Actualizado a Abril 2018).
- 3 Monografías de Metilparabeno y Propilparabeno
- 4 Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.04:10
Productos farmacéuticos. Estudios de estabilidad de medicamentos para uso humano.
- 5 Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06
Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.
- 6 Guía de Validación de métodos analíticos fisicoquímicos del organismo salvadoreño de acreditación versión 1 revisión 0
- 7 Parámetros a evaluar en la validación de la metodología de análisis para ensayo.
- 8 Esquema de diluciones para Metilparabeno materia prima por parámetros.
- 9 Esquema de diluciones para Propilparabeno materia prima por parámetro.
- 10 Esquema de diluciones para Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución por parámetro.
- 11 Esquema de diluciones para Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución por parámetro.

- 12 Esquema de diluciones para Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión por parámetro.
- 13 Esquema de diluciones para Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión por parámetro.
- 14 Esquema general de diluciones para análisis de productos seleccionados.
- 15 Cromatogramas
- 16 Certificados de Validación
- 17 Fotografías del desarrollo de la parte experimental

ABREVIATURAS

API:	Ingrediente Farmacéutico Activo
CV:	Coeficiente de Variación
Cst:	Concentración de estándar
DNM:	Dirección Nacional de Medicamentos
FDA:	Administración de Alimentos y Drogas
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
IC:	Intervalo de Confianza
OMS:	Organización Mundial de la Salud
RTCA:	Reglamento Técnico Centroamericano
S:	Desviación estándar
USP:	Farmacopea de los Estados Unidos Americanos

RESUMEN

RESUMEN

El presente estudio se realizó en un Laboratorio Nacional, ubicado en el área Metropolitana de San Salvador, en el periodo comprendido de Julio 2015 a Septiembre de 2018, realizando primeramente la Validación de las metodologías analíticas oficiales (USP 40, NF 35) para las Materias primas Metilparabeno y Propilparabeno, utilizando el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC); luego se realizó la validación de la metodología de análisis para ensayo de Parabenos para productos como son Solución y Suspensión, la cual reúne las capacidades de desempeño necesarias para cada parámetro evaluado: Especificidad, Adecuabilidad del sistema, Linealidad del sistema, linealidad del método, precisión y precisión intermedia, exactitud y Estabilidad de la muestra, lo cual indica que el método es seguro y confiable para cumplir con la aplicación de acuerdo con los requisitos analíticos establecidos internamente por el laboratorio nacional el cual los ha adaptado del RTCA Validación de métodos analíticos 11.03.39:06 y posteriormente se realizó el análisis de cuantificación de Preservantes en 8 muestras de soluciones y 8 muestras de suspensiones de las cuales 2 muestras una de cada presentación pertenecen al laboratorio nacional donde se realizó la parte experimental.

Los resultados obtenidos al aplicar la metodología para la cuantificación de los Preservantes del grupo de parabenos, de las diferentes muestras de los Laboratorios sometidos al estudio, se comprobó el cumplimiento de la especificación establecida según bibliografía oficial USP 40, NF 35, determinando que la cantidad no ha sido utilizada con la finalidad de encubrir una mala práctica de manufactura ya que los resultados obtenidos se encuentra por debajo del límite superior (80.0% - 120.0%) conforme a la Farmacopea de los Estados Unidos de América, garantizando que el producto se mantiene libre de contaminación microbiana y que no perjudica la Salud de la población Salvadoreña que los consume.

Esta metodología adaptada de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP-40, NF 35), puede servir de guía para dar cumplimiento a la prueba requerida “Valoración de Preservantes”, según Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.04.10 en la evaluación del Estudio de Estabilidad de un Medicamento en preparados Farmacéuticos Soluciones y Suspensiones.

CAPITULO I
INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

La Estabilidad de las Forma Farmacéuticas Líquidas, puede ser afectada por las condiciones ambientales de almacenamiento como: Temperatura, luz, aire y humedad, así como también por los componentes del empaque primario, por lo que la elección de los agentes preservantes es un factor muy importante durante el diseño de estas formulaciones ya que su función principal es garantizar una matriz libre de contaminantes que puedan afectar todas aquellas propiedades que involucran su calidad y eficacia, posterior a su manufactura y durante su uso.

Los agentes preservantes parabenos (Metilparabeno y Propilparabeno), se usan ampliamente en la Fabricación de productos, especialmente en la Industria Farmacéutica para mantener la estabilidad de las diferentes Formas Farmacéuticas líquidas debido a su bajo costo, perfil de baja toxicidad y su largo historial de uso seguro.

Para cuantificar estos Preservantes químicos (Metilparabeno y Propilparabeno) y obtener un resultado confiable para determinar que las cantidades utilizadas en la manufactura de estas formulaciones y corroborar que se encuentran dentro de la especificación permitida según la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP-40, NF35), se presenta el siguiente Método Analítico Validado, el cual reúne las capacidades de desempeño para cada parámetro evaluado: Especificidad, Adecuabilidad del sistema, Linealidad del sistema, linealidad del método, precisión y precisión intermedia, exactitud y Estabilidad de la muestra, el cual cumple con la aplicación de acuerdo con los requisitos analíticos establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano de Validación de métodos analíticos 11.03.39:06, por técnica de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

El presente estudio se realizó en un Laboratorio Nacional, ubicado en el área Metropolitana de San Salvador, realizando la Validación de las metodologías analíticas para las Materias primas Metilparabeno y Propilparabeno, luego se realizó la validación de la metodología de análisis para ensayo en producto Solución (que incluye Jarabes) y Suspensión, la matriz de estas formulaciones fue proporcionada por el Laboratorio Nacional, una vez obtenida la validación de la metodología de análisis para el ensayo de los Preservantes químicos se procedió a realizar los análisis para la cuantificación de los Preservantes químicos Metilparabeno y Propilparabeno en las 8 muestras de soluciones y 8 muestras de suspensiones de las cuales 2 muestras una de cada presentación pertenecen al laboratorio nacional donde se realizó la parte experimental. Dicho estudio se realizó en un periodo comprendido Julio 2015 a Septiembre 2018.

Se comprobó el cumplimiento de la especificación al identificar que la cantidad de agentes preservantes no ha sido utilizada con la finalidad de encubrir una mala práctica de manufactura de las Formas Farmacéuticas Líquidas (Soluciones y Suspensiones) de acuerdo a la bibliografía oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP-40, NF35), garantizando que la cantidad presente de los agentes Preservantes (Metilparabeno y Propilparabeno) mantienen al producto libre de contaminación microbiana.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Cuantificar Preservantes en dos Formas Farmacéuticas Líquidas (Soluciones y Suspensiones).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Realizar la Validación de las metodologías de análisis para Metilparabeno y Propilparabeno, por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).
- 2.2.2 Cuantificar la cantidad de Metilparabeno y Propilparabeno en Formas Farmacéuticas Líquidas Soluciones y Suspensión, por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) que poseen diferentes principios activos.
- 2.2.3 Comparar el cumplimiento de los resultados obtenidos, con especificaciones de Metilparabeno y Propilparabeno, de libros oficiales.
- 2.2.4 Evaluar el cumplimiento de prueba requerida para la valoración de Preservantes en Formas Farmacéuticas Líquidas (Soluciones y Suspensión) de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.04:10 Productos Farmacéuticos. Estudios de Estabilidad de Medicamentos para uso Humano.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Generalidades. ⁽¹⁰⁾

El Reglamento Técnico Centro Americano 11.01.04:10 (RTCA 11.01.04:10) define los Medicamentos como: Sustancia simple o compuesta, natural, sintética o mezcla de ellas, con Forma Farmacéutica definida empleada para diagnosticar, tratar, prevenir enfermedades o modificar una función fisiológica de los seres humanos. ⁽¹⁰⁾

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define los Medicamentos esenciales a los que cubren las necesidades de salud prioritarias de la población. Su selección se hace atendiendo a la prevalencia de las enfermedades y a su seguridad eficacia y costo-eficacia comparativa. ⁽⁷⁾

- Forma Farmacéutica: Es una combinación de API (ingrediente farmacéutico activo) y, a menudo excipientes para facilitar la dosificación, administración y liberación del medicamento en el paciente. El diseño y análisis de todas las formas farmacéuticas se centran en la calidad del producto farmacéutico. ⁽¹⁴⁾

- Jarabe: (termino no preferido; ver Solución) Solución que contiene altas concentraciones de sacarosa u otros azucares. Este término se empleada comúnmente en la farmacia magistral. ⁽¹⁴⁾

- Soluciones: Son formas farmacéuticas líquidas constituidas por uno o más principios activos disueltos en un vehículo adecuado. Se administran por vía oral y se dosifican volumétricamente. La forma de solución es la ideal para que un principio activo se disuelva en el tracto gastrointestinal. ⁽¹⁴⁾

- Suspensiones: Son formas farmacéuticas constituidas por uno o más principios activos insolubles o poco solubles dispersos de manera homogénea en un vehículo apropiado de consistencia líquida y viscosidad variable. Las suspensiones comprenden medicamentos para la ingestión oral, gotas nasales y oftálmicas, inyectables, lociones y geles; hay para uso humano, veterinario y para la sanidad vegetal. ⁽¹⁴⁾

3.2 Generalidades sobre antimicrobianos. ⁽³⁾

Los conservantes antimicrobianos son sustancias agregadas a las formas farmacéuticas no estériles para protegerlas del desarrollo microbiano o de microorganismos que se introducen sin ser advertidos durante el proceso de fabricación o después de este.

Todos los agentes antimicrobianos útiles son sustancias tóxicas. Para la máxima protección de los pacientes, la concentración del conservante que se indique como eficaz en el producto envasado final debe ser inferior al nivel que pueda resultar tóxico para los seres humanos.

Las formas farmacéuticas líquidas, son útiles por diversos motivos y pueden administrarse por varias vías; uso oral, introducción en las cavidades corporales o aplicación externa. La dosis puede ajustarse fácilmente mediante dilución, y la preparación líquida oral puede administrarse a niños o a los adultos incapaces de deglutir comprimidos o capsulas.

La preparación de estas formas farmacéuticas líquidas requiere varias consideraciones por parte del farmacéutico; finalidad de la droga, uso interno o externo. Concentración de la droga, selección del vehículo líquido, estabilidad física y química de la droga, preservación de la preparación y uso de excipientes

apropiados, como buffers, solubilizantes, agentes suspensores, agentes para controlar la viscosidad, colorantes y aditivos para modificar el sabor. Las preparaciones orales requieren que se considere un aumento de la adhesión del paciente al régimen prescrito fabricando un producto aceptable; es importante tener presente el color, olor y sabor.

La estabilidad del componente activo en el producto final es un factor de gran importancia para el formulador. En general, las drogas son menos estables en medios acuosos que en el estado sólido; por lo tanto, es importante estabilizar y preservar en particular las soluciones, las suspensiones que contengan agua.

Los principales criterios que deben considerarse en la selección de un conservador son los siguientes: debe ser efectivo frente a un amplio espectro de microorganismos, estable durante toda su vida útil, atóxico, no sensibilizante, compatible con los componentes presentes en la forma farmacéutica, barato y esencialmente desprovisto de sabor y olor.

Además de los aspectos mencionados antes existen otros factores específicos que deben tenerse en cuenta al seleccionar un conservador.

1. El sitio de uso: es decir, externo, interno u oftálmico.
2. El pH del líquido, dado que este factor puede afectar la ionización y la estabilidad del conservador.
3. El solvente, puesto que este factor afecta la solubilidad del conservador.
4. La participación en la fase oleosa de una emulsión, lo que reduce la concentración en la fase acuosa en la que tiene lugar la acción conservadora.

5. La adsorción en la fase sólida, de una suspensión, lo que reduce la concentración en la fase acuosa.
6. Variables de procesamiento y envasado, como calor, orden de agregado de otros componentes, mezclado o materiales del envase.
7. Tipo de forma farmacéutica, por ejemplo; solución, o suspensión.

3.3 Conservantes Químicos. ⁽³⁾

Los conservantes pueden agruparse en diversas clases según la estructura molecular; aquí comentaremos solamente algunos:

- Alcoholes: el etanol es útil como conservador cuando se le utiliza como un solvente, sin embargo, para que sea eficaz se requiere una concentración demasiado alta; mayor del 10%. Lo que genera posibles incompatibilidades en los sistemas de suspensiones y emulsión.

- Ácidos: el ácido benzoico presenta una baja solubilidad en agua, el rango de concentración utilizado con fines inhibidores varía entre el 0.1 y el 0.5% solo la forma no ionizada es efectiva; por lo tanto, su uso se limita a preparaciones con un pH inferior a 4.5.

- Esteres: los parabenos son esterres del ácido p-hidroxibenzoico e incluyen los derivados metílico, propílico y butílico. La solubilidad en agua de estos compuestos disminuye a medida que el peso molecular aumenta, del 0.25 % para el éster metílico al 0.02 % para el éster butílico. Estos compuestos se utilizan ampliamente en los productos farmacéuticos y son efectivos y estables dentro de un espectro de pH de 4 a 8.

- Compuestos de amonio cuaternario: el cloruro de benzalconio es una mezcla que contiene principalmente los homólogos $C_{12}H_{25}$ y $C_{14}H_{29}$

3.4 Parabenos. ⁽⁹⁾

Los parabenos se utilizan desde 1925, están aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) y por autoridades europeas. Estos conservantes no se consideran un riesgo para la salud, ya que nuestro organismo es capaz de metabolizarlos y eliminarlos sin que resulten tóxicos. El problema radica en la cantidad utilizada, considerando la cantidad de productos que lo contienen, se presume que podrían tener algún impacto para la salud a largo plazo (por su uso constante y prolongado), pero por el momento no existen estudios que demuestren su toxicidad.

3.4.1 Aplicaciones de los Parabenos. ⁽¹²⁾

Metilparabeno.

Es ampliamente utilizado como un conservante antimicrobiano en cosméticos, productos alimenticios, y formulaciones farmacéuticas. Se puede utilizar ya sea sólo o en combinación con otros parabenos o con otros agentes antimicrobianos. Los parabenos son eficaces en un amplio intervalo de pH y tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana, aunque son más eficaces contra levaduras y mohos. Aumenta la actividad antimicrobiana como la longitud de cadena del resto alquilo se aumenta, pero disminuye la solubilidad acuosa; por lo tanto, una mezcla de parabenos se utiliza frecuentemente para proporcionar una conservación eficaz. La eficacia de conservación también se mejora por la adición de propilenglicol (2-5%), o mediante el uso de parabenos en combinación con otros agentes antimicrobianos. Debido a la baja solubilidad de los parabenos,

(en particular la sal de sodio) se utilizan con más frecuencia en las formulaciones. Sin embargo, esto eleva el pH de las formulaciones débilmente tamponadas. Metilparabeno (0,18%), junto con propilparabeno (0,02%) se ha utilizado para la conservación de diversas formulaciones farmacéuticas parenterales.

Los parabenos son más activos frente a levaduras y mohos que contra bacterias. También son más activos contra las bacterias gram-positivas que contra bacterias Gram-negativas. Metilparabeno es el menos activo de los parabenos; actividad antimicrobiana aumenta al aumentar la longitud de cadena del resto alquilo. La actividad puede ser mejorada mediante el uso de combinaciones de parabenos como se producen efectos sinérgicos. Por lo tanto, las combinaciones de metil-, etil-, propil-, y butilparabeno menudo se utilizan juntos. La actividad también se ha informado de que se mejora por la adición de otros excipientes tales como: propilenglicol (2-5%), alcohol feniletilo; y el ácido edético, La actividad también puede ser mejorada debido a sinérgico. efectos mediante el uso de combinaciones de parabenos con otros conservantes antimicrobianos tales como imidurea. ácido p-hidroxibenzoico, El producto de hidrólisis prácticamente no tiene actividad antimicrobiana.

Tabla 1. Usos del Metilparabeno en preparaciones farmacéuticas ⁽¹²⁾

Usos	Concentración (%)
IM, IV, inyecciones SC,	0.065 – 0.25
Soluciones Inhalatorias	0.025 – 0.07
Inyecciones Intradérmica	0.10
Soluciones nasales	0.033
Preparaciones Oftálmicas	0.015 – 0.2
Soluciones orales y suspensiones	0.015 – 0.2
Preparaciones rectales	0.1 – 0.18
Preparaciones tópicas	0.02 – 0.3
Preparaciones vaginales	0.1 – 0.18

Propilparabeno. ⁽¹²⁾

Se usa ampliamente como un conservante antimicrobiano en los cosméticos, productos alimenticios, y formulaciones farmacéuticas. Se puede utilizar sólo, en combinación con otros ésteres de parabeno, o con otros agentes antimicrobianos. Los parabenos son eficaces en un amplio intervalo de pH y tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana, aunque son más eficaces contra levaduras y mohos. Debido a la baja solubilidad de los parabenos, las sales de parabeno, particularmente la sal de sodio, se utilizan con frecuencia en las formulaciones. Esto puede provocar que el pH de las formulaciones débilmente tamponadas para ser más alcalina.

Tabla 2. Usos del Propilparabeno en preparaciones farmacéuticas ⁽¹²⁾

Usos	Concentración (%)
IM, IV, inyecciones SC,	0.005 – 0.2
Soluciones Inhalatorias	0.015
Inyecciones Intradérmica	0.02 – 0.26
Soluciones nasales	0.017
Preparaciones Oftálmicas	0.005 – 0.01
Soluciones orales y suspensiones	0.01 – 0.02
Preparaciones rectales	0.02 – 0.01
Preparaciones tópicas	0.01 – 0.6
Preparaciones vaginales	0.02 – 0.1

3.5 Estabilidad Farmacéutica. ⁽⁵⁾

El término estabilidad con respecto a formas farmacéuticas de medicamentos, se refiere a la integridad física y química de la unidad de dosificación de mantener la protección contra la contaminación microbiológica. La vida útil de la forma farmacéutica es el lapso de tiempo desde la preparación inicial hasta la fecha de

caducidad especificada. Las especificaciones de la monografía en cuanto a identidad, contenido, calidad y pureza se aplican a lo largo de toda la vida útil del producto.

Los parámetros de estabilidad de la forma farmacéutica de un medicamento pueden estar influenciados por condiciones ambientales de almacenamiento (temperatura, luz, aire y humedad), así como también por los componentes del envase.

La estabilidad de las formas farmacéuticas fabricadas debe ser demostrada por el fabricante, utilizando métodos apropiados para ese fin. Las pruebas de la monografía podrían utilizarse para las pruebas de estabilidad si estas fueran indicadoras de estabilidad (es decir, si diferencian con exactitud entre las moléculas intactas del fármaco y sus productos de degradación). Las consideraciones de estabilidad deben incluir no solo los requisitos farmacopeicos específicos, sino también los cambios en la apariencia física del producto que advertirían a los usuarios si la integridad continuada del producto es cuestionable.

- Estudios de estabilidad: pruebas que se efectúan para obtener información sobre las condiciones en las que se deben procesar y almacenar las materias primas o los productos semielaborados o los productos terminados, según sea el caso. Las pruebas de estabilidad también se emplean para determinar la vida útil del medicamento en su envase primario original y en condiciones de almacenamiento especificadas. ⁽¹⁰⁾

3.5.1. Evaluaciones del Estudio de Estabilidad de un Medicamento. ⁽¹⁰⁾

El estudio de estabilidad de un medicamento debe incluir las pruebas requeridas para cada forma farmacéutica.

La determinación de las sustancias relacionadas o productos de degradación o ambas, se realizará cuando la monografía lo establezca. Parámetros a evaluar:

-Tabletas, tabletas recubiertas y grageas: concentración de principio activo, características organolépticas, desintegración, disolución y humedad cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto.

-Cápsulas: concentración de principio activo, características organolépticas del contenido y de la cápsula, disolución y humedad cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto.

-Emulsiones: concentración de principio activo, características organolépticas, viscosidad y límites microbianos. Cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto prueba de eficacia de conservadores y valoración de los mismos y esterilidad. Todos los estudios deben llevarse a cabo en muestras en contacto con el envase primario para determinar si existe alguna interacción entre ellos, que afecte la estabilidad del producto.

-Soluciones y suspensiones: concentración de principio activo, características organolépticas, pH, límites microbianos y cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto suspendibilidad (en suspensiones), pérdida de peso (envase de plástico), prueba de eficacia de conservadores y valoración de los mismos, esterilidad, materia particulada. Todos los estudios deben de llevarse a cabo en muestras en contacto con el empaque primario para determinar si existe alguna interacción, que afecte la estabilidad del producto.

-Polvos o gránulos para solución o suspensión de uso oral: concentración de principio activo, características organolépticas, humedad y cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto prueba de eficacia de

conservadores y valoración de los mismos, límite microbiano, éste se debe llevar a cabo en análisis inicial y final. Al reconstituirlo, se deben seguir las instrucciones indicadas en la etiqueta y los parámetros a examinar durante el período de conservación recomendado son: concentración del principio activo, características organolépticas y pH.

-Soluciones inyectables, polvos para suspensión inyectable y polvos liofilizados: concentración de principio activo, características organolépticas, humedad y cuando proceda de acuerdo a las características propias del producto prueba de eficacia de conservadores y valoración de los mismos, esterilidad, pirógenos, endotoxinas bacterianas cuando aplique, éstas se deben llevar a cabo en análisis inicial y final. Si el producto es para reconstituir, se debe preparar de acuerdo a las instrucciones indicadas en la etiqueta y los parámetros a examinar durante el período de conservación recomendado son: concentración del fármaco, características organolépticas y pH.

-Aerosoles y nebulizadores: concentración de principio activo, dosis de aspersion concentración/acción de la válvula cuando aplique, características organolépticas, tamaño de la partícula en las suspensiones. Se deben considerar las pruebas para recuento microbiano.

-Cremas, geles, pastas y ungüentos (pomadas): concentración de principio activo, características organolépticas, homogeneidad, viscosidad, pH, límites microbianos. Cuando proceda: prueba de eficacia de conservadores y valoración de los mismos, tamaño de partícula, pérdida de peso (envase plástico) y esterilidad.

-Supositorios y óvulos: concentración de principio activo, temperatura de fusión, características organolépticas, disolución cuando aplique y tiempo de licuefacción.

3.6 Validación de un método Analítico. ⁽⁵⁾

El objetivo de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que es apto para los fines previstos. ⁽⁵⁾

La validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

⁽⁵⁾

3.6.1 Procedimientos analíticos que deben ser validados. ⁽⁵⁾

La discusión sobre la validación de los procedimientos analíticos se dirige a los cuatro tipos más comunes de los procedimientos analíticos:

- Pruebas de identificación;
- Pruebas cuantitativas para el contenido de impurezas;
- Pruebas de límite para el control de las impurezas;
- Pruebas cuantitativas de la fracción activa en las muestras de sustancia de fármaco o producto farmacéutico u otro componente seleccionado (s) en el producto.

La revalidación podría ser necesaria en las siguientes circunstancias:

- Cambios en la síntesis de la sustancia farmacológica;
- Cambios en la composición del producto terminado;
- Cambios en el procedimiento analítico.

El grado de revalidación requerida depende de la naturaleza de los cambios. Algunos otros cambios pueden requerir validación también.

3.6.2 Las características de desempeño analítico típicas utilizadas para la validación de métodos. ⁽⁵⁾

-Linealidad: es la capacidad (dentro de un rango dado) para obtener resultados de las pruebas que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra. ⁽⁴⁾

El intervalo del procedimiento se valida verificando que el procedimiento analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo, al igual que dentro del intervalo. La ICH recomienda que, para establecer la linealidad, se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones. También recomienda que se consideren los intervalos especificados mínimos que se indican a continuación:

Tabla 3. Intervalos especificados mínimos en validación de métodos. ⁽⁵⁾

Valoración de un fármaco, o producto terminado	De 80 % a 120% de la concentración de prueba
Determinación de una impureza	De 50% a 120% del criterio de aceptación
Uniformidad de Contenido	Un mínimo de 70% a 130% de la concentración de prueba, a no ser que se justifique un intervalo más amplio o más apropiado, basándose en la naturaleza de la forma farmacéutica (Por ejemplo; inhaladores de dosis fija).
Pruebas de Disolución	\pm 20% por encima del intervalo especificado (por ejemplo; si los criterios de aceptación de un producto de liberación controlada cubren una región de 30%, después de 1 hora, y hasta 90% después de 24 horas, el intervalo validado sería de 10% a 110% de la cantidad declarada).

La linealidad puede demostrarse directamente en el fármaco (por dilución de una solución madre patrón) y / o pesadas separadas de mezclas sintéticas de los componentes del producto, usando el procedimiento propuesto. El último aspecto puede ser estudiado durante el transcurso de la investigación.⁽⁵⁾

Linealidad debe ser evaluada por inspección visual de un plan de señales en función de la concentración del analito o contenido. Si hay una relación lineal, los resultados de las pruebas deben ser evaluados por métodos estadísticos apropiados, por ejemplo, mediante el cálculo de la regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados. En algunos casos, para obtener la linealidad entre ensayos y concentraciones de la muestra, pueden necesitar ser sometido a una transformación matemática antes del análisis de regresión de los datos de prueba. Los datos de la regresión lineal en sí pueden ser útil para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. ⁽⁵⁾

La recta de regresión de “y” sobre “x”.⁽⁶⁾

Se supone que existe una relación lineal entre la señal analítica (y) y la concentración (x), y se muestra como calcular la mejor línea recta a través de los puntos de la gráfica de calibrado, cada uno de los cuales a un error experimental. Ya que se ha supuesto que todos los errores se encuentran en “y”, ahora se trata de buscar la recta que minimice las desviaciones en la dirección “y”, entre los puntos experimentales y los calculados por la línea. Ya que algunas de estas desviaciones serán positivas y algunas negativas (conocidas técnicamente como los residuos de “y”), es razonable intentar minimizar la suma de los cuadrados de los residuos, debido a que estos cuadrados serán todos positivos. Esto explica el uso frecuente del término método de los mínimos cuadrados para este procedimiento. La línea recta buscada se calcula basándose en este principio: como resultado se encuentra que la línea debe pasar por el centro de gravedad de los puntos (“x”, “y”).

Se puede demostrar que la recta de mínimos cuadrados viene dada por:

Pendiente de la recta de mínimos cuadrados: ⁽⁶⁾

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados:

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

La línea determinada por estas dos ecuaciones se conoce como recta de regresión de “y” sobre “x”, es decir, la recta que indica como varía “y” cuando “x” se ajusta a los valores elegidos. Es muy importante hacer constar que la recta de regresión de “x” sobre y no es la misma recta (excepto en el caso muy improbable en que todos los puntos caigan sobre una línea recta, exactamente cuándo $r=1$ o $r=-1$). La recta de regresión de “x” sobre “y” (que también pasa por el centro de gravedad de todos los puntos) supone que todos los errores ocurren en la dirección de “x”. si se mantiene rigurosamente el convenio que la señal analítica se representa siempre sobre el eje y “y” la concentración sobre el eje “x” es la que se debe usar siempre en los experimentos de calibración. ⁽⁶⁾

Criterios de aceptación: ⁽⁵⁾

$$r^2 \geq 0.98$$

IC (β_1), no debe incluir el cero.

La linealidad se determinará con la siguiente fórmula:

$$Y = b_1 X + b_0$$

Siendo:

X = concentración de la muestra analizada

b_1 = valor de la pendiente

Y = respuesta

b_0 = término independiente (ordenada al origen)

Para determinar la pendiente (b_1) se utilizará la siguiente fórmula:

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n = Numero de mediciones (concentración–respuesta analítica)

Para determinar la constante b_0 (ordenada al origen) se utilizará la siguiente fórmula.

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Para la interpretación estadística de la regresión lineal se determinará: El coeficiente de determinación (r^2)

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)}$$

Intervalos de confianza para la pendiente.

$$IC (\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

Desviación estándar de la pendiente.

$$S_{b_1} = S_y / x \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

Desviación estándar de regresión

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}}$$

Coeficiente de variación de regresión

$$\frac{C}{V} y/x = \frac{\frac{Sx}{y}}{Y} x 100$$

-Exactitud: La exactitud de un procedimiento analítico expresa el grado de concordancia entre el valor que se acepta, ya sea como un valor verdadero convencional o un valor de referencia aceptado y el valor encontrado. ⁽⁵⁾

La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza. Los documentos de ICH recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración).

Criterios de aceptación: ⁽⁴⁾

El IC(μ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del porcentaje de recobro se incluya en el intervalo:

98 – 102% si el método es cromatográfico,

98 – 102% si el método es volumétrico,

97 – 103% si el método es químico o espectrofotométrico,

95 – 105% si el método es microbiológico,

El CV del porcentaje de recobro:

No debe ser de 2% si el método es cromatográfico,

No mayor de 2% si el método es volumétrico,

No mayor de 3% si es químico o espectrofotométrico,

No mayor de 5% si es microbiológico.

Cualquier otro criterio de aceptación deber ser justificado.

Media Aritmética ⁽⁶⁾

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Dónde:

\bar{x} = Media aritmética

x = Valores obtenidos del ensayo

n = Número de mediciones o recobros, muestras o determinaciones.

Desviación Estándar ⁽⁶⁾

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Dónde:

S = Desviación estándar

y = Valores obtenidos del ensayo

n = Número de mediciones o recobros o muestras o determinaciones.

Coeficiente de Variación ⁽⁶⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

Dónde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

% de recuperación = (valor encontrado / valor verdadero de referencia) * 100

-Precisión: La precisión de un procedimiento analítico expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas obtenidas de muestreo múltiple de la misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. La precisión puede ser considerado en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

La precisión debe ser investigada usando muestras homogéneas auténticas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea que puede ser investigada utilizando muestras preparadas artificialmente o una solución de muestra. ⁽⁵⁾

La precisión de un procedimiento analítico se expresa generalmente como la varianza, la desviación estándar o el coeficiente de variación de una serie de mediciones. La precisión de un procedimiento analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea que permita calcular estadísticamente estimaciones validas de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Los análisis en este contexto son análisis independientes de muestras que se han llevado a cabo mediante el procedimiento analítico completo, desde la preparación de las muestras hasta el resultado final de las pruebas. ⁽⁵⁾

Criterios de aceptación:

CV \leq 1.5% para métodos físico-químicos.

CV \leq 3% para métodos biológicos

Valores superiores deben ser justificados.

Desviación estándar ⁽⁶⁾

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Dónde:

S = Desviación estándar

y = Valores obtenidos del ensayo

n = Número de mediciones o recobros o muestras o determinaciones.

Coeficiente de variación ⁽⁶⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

Dónde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

Intervalos de confianza para la pendiente.

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

Repetibilidad expresa la precisión en las mismas condiciones de operación durante un corto intervalo de tiempo. ⁽⁵⁾

Los documentos de ICH recomiendan que se evalúe la repetibilidad utilizando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el procedimiento (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración) o usando un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de prueba. ⁽⁵⁾

La medida en que se debe establecer la precisión intermedia depende de las circunstancias en las que se destina el procedimiento a utilizar. El solicitante debe establecer los efectos de los acontecimientos al azar de la precisión del procedimiento analítico. Variaciones típicas para ser estudiados incluyen días diferentes, los analistas diferentes, equipos diferentes, etc. No se considera necesario estudiar estos efectos de forma individual. Se recomienda el uso de un diseño experimental (matriz).

Reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios (estudios en colaboración, por lo general se aplica a la estandarización de la metodología). ⁽⁵⁾

La desviación estándar, desviación estándar relativa (coeficiente de variación) e intervalo de confianza debe ser reportado para cada tipo de precisión investigado.

-Robustez: La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas, en los parámetros del procedimiento indicados en la documentación, y provee una indicación de su aptitud durante condiciones normales de uso. La robustez puede determinarse durante la etapa de desarrollo del procedimiento analítico. ⁽⁵⁾

La evaluación de la robustez se debe considerar durante la fase de desarrollo y depende del tipo de procedimiento en estudio. Se debe mostrar la fiabilidad de un análisis con respecto a deliberar variaciones en los parámetros del método. Si las mediciones son susceptibles a variaciones en las condiciones analíticas, las condiciones analíticas deben ser adecuadamente controlados o una declaración

de precaución deben incluirse en el procedimiento. Una consecuencia de la evaluación de la robustez debe ser que se establece una serie de parámetros de idoneidad del sistema (por ejemplo, la prueba de resolución) para asegurar que se mantiene la validez del procedimiento analítico utilizado siempre. ⁽⁵⁾

Ejemplos de variaciones típicas son:

- Estabilidad de las soluciones analíticas;
- Tiempo de extracción.

En el caso de cromatografía líquida, ejemplos de variaciones típicas son:

- Influencia de las variaciones de pH en una fase móvil;
- Influencia de las variaciones en la composición de la fase móvil;
- diferentes columnas (distintos lotes y / o proveedores);
- La temperatura;
- Velocidad de flujo.

En el caso de la cromatografía de gases, ejemplos de las variaciones típicas son:

- Diferentes columnas (distintos lotes y / o proveedores);
- La temperatura;
- Velocidad de flujo.

Condiciones para robustez.

1-Influencia de las variaciones de pH en una fase móvil (Aumento y disminución en ± 0.2 unidades)

2-Influencia de las variaciones en la composición de la fase móvil (Aumento y disminución $\pm 10\%$)

3-La temperatura (Aumento y disminución $\pm 10^\circ$)

4-Velocidad de flujo (Aumento y disminución en 50%)

Criterios de aceptación:

$|di| \leq 2\%$ para métodos Cromatográficos y volumétricos.

$|di| \leq 3\%$ para métodos químicos y espectrofotométricos.

$|di| \leq 5\%$ para métodos biológicos.

Media Aritmética

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Donde:

\bar{x} = Media aritmética

x = Valores obtenidos del ensayo

n = Número de mediciones o recobros, muestras o determinaciones.

-Especificidad: En un procedimiento analítico para impurezas, la especificidad puede establecerse mediante la adición al fármaco o producto farmacéutico de una cantidad conocida de impurezas en concentración de que estas impurezas se determinan con exactitud y precisión adecuadas.

Los documentos de ICH afirman que cuando se utilizan procedimientos Cromatográficos, deberán presentarse cromatogramas representativos para demostrar el grado de selectividad y los picos deberán identificarse adecuadamente. Las pruebas de pureza de picos (por ejemplo, utilizando arreglo de diodos o espectrometría de masas) pueden resultar útiles para demostrar que el pico Cromatográficos del analito no puede atribuirse a más de un solo componente. ⁽⁵⁾

-Límite de detección: El límite de detección de un procedimiento analítico individual es la cantidad más baja de analito en una muestra que se puede detectar, pero no necesariamente cuantificarse como un valor exacto. ⁽⁵⁾

En el caso de procedimientos analíticos instrumentales que presentan ruido de fondo, los documentos de ICH describen un enfoque usual, que consiste en comparar las señales medidas a partir de muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con las de muestras blanco. Se establece la concentración mínima a la que puede detectarse confiablemente un analito. La relación señal-ruido habitualmente aceptables son de 2:1 o 3:1. Otros enfoques dependen de la determinación de la pendiente de la curva de calibración y la desviación estándar de las respuestas. Independientemente del método utilizado, el límite de detección debería validarse posteriormente mediante el análisis de un número adecuado de muestras preparadas al límite de detección o que se sabe que están cerca de dicho límite. ⁽⁵⁾

Son posibles varios enfoques para determinar el límite de detección, dependiendo de si el procedimiento es un no-instrumental o instrumental. Enfoques distintos de los enumerados a continuación pueden ser aceptables.

1. Sobre la base de Evaluación Visual. ⁽⁵⁾

La evaluación visual puede ser utilizando para los métodos no-instrumentales, pero también puede ser utilizado con métodos instrumentales.

El límite de detección se determina por el análisis de las muestras con concentraciones conocidas de analito y por establecer el nivel mínimo en el que el analito se puede detectar de forma fiable.

2. Sobre la base de señal a ruido. ⁽⁵⁾

Este enfoque sólo puede aplicarse a los procedimientos analíticos que exhiben ruido de línea de base.

Determinación de la relación de señal a ruido se realiza mediante la comparación de señales medidas a partir de muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con los de las muestras en blanco y el establecimiento de la concentración mínima a la que el analito se puede detectar de forma fiable. Una relación de señal a ruido entre 3 o 2: 1 se considera generalmente aceptable para estimar el límite de detección.

3. En base a la desviación estándar de la respuesta y de la inclinación. ⁽⁵⁾

El límite de detección (DL) puede expresarse como:

$$DL = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Dónde:

σ = la desviación estándar de la respuesta

S = la pendiente de la curva de calibración

La pendiente S puede estimarse a partir de la curva de calibración del analito.

La estimación de σ puede llevarse a cabo en una variedad de maneras, por ejemplo: ⁽⁵⁾

a) Sobre la base de la desviación estándar del blanco.

La medición de la magnitud de la respuesta de fondo analítica se realiza mediante el análisis de un número apropiado de muestras en blanco y el cálculo de la desviación estándar de estas respuestas.

b) Sobre la base de la curva de calibración.

Una curva de calibración específica debe ser estudiada utilizando muestras que contienen un analito en el rango de DL. La desviación estándar residual de una línea de regresión o la desviación estándar de y-intersecciones de las líneas de regresión puede usarse como la desviación estándar.

El límite de detección y el método utilizado para la determinación del límite de detección deben ser presentados. Si DL se determina en base a la evaluación visual o en base a la relación señal-ruido, la presentación de los cromatogramas pertinentes se considera aceptable para la justificación. ⁽⁵⁾

-Límite de cuantificación: El límite de cuantificación de un procedimiento analítico individual es la cantidad más baja de analito en una muestra que se puede determinar cuantitativamente con precisión y exactitud adecuada. El límite de cuantificación es un parámetro de ensayos cuantitativos para niveles bajos de compuestos en matrices de muestras, y se utiliza en particular para la determinación de impurezas y / o productos de degradación. ⁽⁵⁾

En el caso de procedimientos analíticos instrumentales que presentan ruido de fondo, los documentos ICH describen un enfoque común, que consiste en comparar las señales medidas a partir de muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con las de muestras blanco. Se establece la concentración mínima a que puede cuantificarse confiablemente un analito. Una relación señal-ruido habitualmente aceptable es de 10:1. Otros enfoques dependen de la determinación de la pendiente de la curva de calibración y la desviación estándar de las respuestas. Independientemente del enfoque utilizado, el límite de cuantificación debería validarse posteriormente mediante el análisis de un número adecuado de muestras que se sepa que están cerca del límite de cuantificación o fueron preparadas al límite de cuantificación. ⁽⁵⁾

Son posibles varios enfoques para determinar el límite de cuantificación, dependiendo de si el procedimiento es un no-instrumental o instrumental. Enfoques distintos de los enumerados a continuación pueden ser aceptables. ⁽⁵⁾

a) Sobre la base de Evaluación Visual. ⁽⁵⁾

La evaluación visual puede ser utilizada para los métodos no-instrumentales, pero también puede ser utilizado con métodos instrumentales.

El límite de cuantificación se determina generalmente por el análisis de las muestras con concentraciones conocidas de analito y por establecer el nivel mínimo en el que el analito se puede cuantificar con exactitud y precisión aceptable.

b) Sobre la base de señal a ruido de aproximación. ⁽⁵⁾

Este enfoque sólo puede aplicarse a los procedimientos analíticos que exhiben ruido de línea de base.

Determinación de la relación de señal a ruido se realiza mediante la comparación de señales medidas a partir de muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con los de las muestras en blanco y el establecimiento de la concentración mínima a la que el analito se puede cuantificar de forma fiable. Una proporción típica de señal a ruido es 10:1. ⁽⁵⁾

c) En base a la desviación estándar de la respuesta y de la inclinación

El límite de cuantificación (QL) se puede expresar como:

$$QL = \frac{10 \sigma}{S}$$

Donde

σ = la desviación estándar de la respuesta

S = la pendiente de la curva de calibración

La pendiente S puede estimarse a partir de la curva de calibración del analito.

La estimación de σ puede llevarse a cabo en una variedad de maneras, por ejemplo:

1. Sobre la base de la desviación estándar del blanco
2. La medición de la magnitud de la respuesta de fondo analítica se realiza mediante el análisis de un número apropiado de muestras en blanco y el cálculo de la desviación estándar de estas respuestas.
3. Sobre la base de la curva de calibración, una curva de calibración específica debe ser estudiada utilizando muestras, que contiene un analito en el rango de QL. La desviación estándar residual de una línea de regresión o la desviación estándar de y -intersecciones de las líneas de regresión puede usarse como la desviación estándar.

El límite de cuantificación y el método utilizado para la determinación del límite de cuantificación deben ser presentados.

El límite debe ser validado posteriormente por el análisis de un número adecuado de muestras conocidas para estar cerca o preparados en el límite de cuantificación.

-Intervalo: El intervalo de un procedimiento analítico es la aptitud entre las concentraciones inferior y superior del analito (incluyendo estos niveles en la cual se puede determinar al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el procedimiento según se describe por escrito. El intervalo se expresa normalmente en las mismas unidades que los resultados de la prueba (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) obtenidos mediante el procedimiento analítico. ⁽⁵⁾

El intervalo del procedimiento se valida verificando que el procedimiento analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo, al igual que dentro del intervalo. ⁽⁴⁾

3.6.3 Datos Requeridos para la Validación. ⁽¹⁴⁾

Los requisitos de las pruebas farmacopeicas varían desde determinaciones analíticas muy rigurosas hasta evaluaciones subjetivas de atributos. Las categorías de prueba más habituales para las que se exigen datos de validación. Estas categorías son:

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

Categoría II: Procedimientos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos procedimientos incluyen cuantitativos y pruebas de límite.

Categoría III: Procedimiento analíticos para la determinación de las características de desempeño (p.ej. disolución, liberación de fármacos, etc.).

Categoría IV: Pruebas de identificación.

Tabla N° 4. Datos requeridos para la Validación.

Características de desempeño analítico	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Análisis cuantitativos	Pruebas de límite		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de Detección	No	No	Si	*	No
Límite de Cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Intervalo	Si	Si	*	*	No

*Pueden requerirse, dependiendo de la naturaleza de la prueba específica.

3.6.4 Método de las adiciones estándar. ⁽⁶⁾

El método es muy utilizado en espectrometría de absorción y emisión atómica y también ha encontrado aplicación en electroquímica y otras muchas áreas. Se toman volúmenes iguales de solución problema, todas salvo una son adicionadas separadamente con cantidades conocidas y diferentes del analito, y todas se diluyen al mismo volumen. Se determinan las señales en el instrumento para todas estas soluciones y los resultados se representan gráficamente. La señal se representa en el eje y, mientras que el eje x se expresa en términos de las cantidades de analito añadidas (ya sea como peso absoluto o como concentración). ⁽⁶⁾

El coeficiente de correlación, intersección, pendiente de la recta de regresión y la suma de los cuadrados residual se debe presentar. Una gráfica de los datos debe ser incluidos. Además, un análisis de la desviación de los puntos de datos reales de la regresión lineal también puede ser útil para evaluar la linealidad. ⁽⁶⁾

Algunos procedimientos analíticos, tales como inmuno-ensayos, no demuestran linealidad después de cualquier transformación. En este caso, la respuesta analítica debería ser descrita por una función apropiada de la concentración (cantidad) de un analito en una muestra. Para el establecimiento de la linealidad, se recomienda un mínimo de 5 concentraciones. Otros enfoques deberían justificarse. ⁽⁶⁾

3.7 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). ⁽³⁾

La cromatografía líquida se ha convertido en una de las técnicas más versátiles de las que dispone el analista debido a su sencillez y capacidad para obtener separaciones de alta resolución. Se pueden desarrollar separaciones basadas en características tan diversas como la polaridad de los solutos, su naturaleza iónica, su peso molecular, su capacidad de partición o su capacidad para formar complejos de afinidad. ⁽³⁾

El término cromatografía líquida se usa hoy en día para referirse a aquellos métodos en los cuales la separación tiene lugar dentro de una columna empacada. El material de empaque es la fase estacionaria y puede ser un sólido con capacidades adsorptivas o un soporte inerte revestido con una fase líquida. Se usa fase líquida móvil como eluyente. El proceso de la cromatografía líquida puede ser realizado usando uno de dos métodos. En el primero, el procedimiento clásico llamado cromatografía de columna abierta, se deja fluir a la fase móvil a través de la columna empacada bajo la influencia de la gravedad, o a lo sumo una baja presión (50-100 psi). En el segundo, la fase móvil es forzada a través de la columna empacada mediante alta presión. Este método se llama cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), debido a las eficiencias extremadamente altas que se obtienen (50.000 platos por metro) o cromatografía

liquida de alta presión debido a las altas presiones que se precisan (1.000-3.000 psi) ⁽³⁾

En HPLC, el diámetro de partícula es típicamente de 10 µm o menos, y como resultado de ello las columnas se empacan más compactamente y desarrollan altas retropresiones que necesitan del bombeo de la fase móvil a través de la columna. ⁽³⁾

Las técnicas de separación Cromatográfica son métodos de separación de múltiples etapas en los que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria y la otra fase móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. La fase estacionaria puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas, la fase móvil puede ser gaseosa o líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en adsorción, distribución de masa (partición) o intercambio iónico; o puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen. Los tipos de Cromatografía útiles en el análisis cualitativo y cuantitativo que se emplean en los procedimientos Cromatográficos de la USP son: cromatografía en columna, de gases, en papel, en capa delgada (incluyendo la cromatografía en capa delgada de alta resolución) y de líquidos presurizados (comúnmente llamada cromatografía líquida de alta presión o alta resolución). ⁽¹⁴⁾

El término cromatografía de líquidos, según se usa en los compendios, es sinónimo de cromatografía líquida de alta presión y de cromatografía líquida de alta resolución. La cromatografía de líquidos es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. ⁽¹⁴⁾

- Fase estacionaria: las separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico, según el tipo de fase estacionaria empleada.

Las fases estacionarias más comúnmente usadas son la sílice modificada o las microperlas de polímero. Las microperlas se modifican agregando hidrocarburos de cadena larga el tipo de relleno específico necesario para contemplar un análisis se indica mediante la designación "L" en la monografía individual. A menudo el tamaño de las microperlas también se describe en la monografía. Los cambios en el tipo y tamaño de relleno se analizan en la sección Aptitud del Sistema. ⁽¹⁴⁾

- Columna Cromatográfica: el término columna incluye columnas de acero inoxidable, de acero inoxidable con recubrimiento interno y poliméricas, rellenas con una fase estacionaria. La longitud y el diámetro de la columna afectan la separación y, por lo tanto, las dimensiones típicas de la columna se incluyen en la monografía individual. Los cambios en las dimensiones de la columna se analizan en la sección de Aptitud del Sistema. ⁽¹⁴⁾

- Fase Móvil: la fase móvil es un disolvente o mezcla de disolventes, según se define en la monografía individual. ⁽¹⁴⁾

- Aparato: un cromatógrafo de líquidos consta de un recipiente que contiene la fase móvil, una bomba para forzar el paso de la fase móvil a través del sistema a alta presión, un inyector para introducir la muestra en la fase móvil, una columna Cromatográfica, un detector y un dispositivo de recolección de datos. ⁽¹⁴⁾

- Elución en Gradiente: se denomina elución en gradiente o programación del disolvente a la técnica de cambiar continuamente la composición del disolvente durante la cromatografía. El perfil de elución en gradiente se presenta en la monografía individual como una tabla de gradientes, que indica el tiempo y la composición proporcional de la fase móvil en el tiempo indicado.

3.7.1. Definiciones e interpretación de cromatogramas. ⁽¹⁴⁾

- Cromatograma: es una representación gráfica de la respuesta del detector, concentración de analito en el efluente u otra cantidad usada como una medida de concentración del efluente en función del volumen de efluente o del tiempo. ⁽¹⁴⁾

- Volumen de Residencia (D): conocido también como volumen de demora en elución a gradiente, es el volumen entre el punto en el que se encuentran los eluyentes y la entrada de la columna. ⁽¹⁴⁾

- Tiempo Muerto (t_m): es el tiempo requerido para la elución de un componente no retenido, mostrando como un pico de aire o de componente no retenido, con la escala de la línea base en minutos. ⁽¹⁴⁾

- Volumen Muerto (V_m): es el volumen de fase móvil requerido para eluir un componente no retenido. ⁽¹⁴⁾

$$VM = t_M \times F$$

- Número de platos teóricos (N)¹: N es una medida de eficiencia de la columna.

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

- Pico: El pico es la porción del cromatograma que registra la respuesta al detector cuando un componente individual eluye de la columna. Si la separación es incompleta, se puede registrar la elución de dos o más componentes como un pico no resuelto. ⁽¹⁴⁾

- Relación pico/valle (p/v): la p/v se pueden emplear como un criterio de aptitud del sistema en una prueba de sustancias relacionadas cuando no se logra la separación entre dos picos en la línea base.

$$\frac{p}{v} = \frac{Hp}{Hv}$$

- Retención Relativa (r): es el cociente entre el tiempo de retención ajustado de un componente y el de otro usado como referencia obtenido en condiciones idénticas. ⁽¹⁴⁾

$$r = \frac{t_{R2} - tM}{t_{R1} - tM}$$

- Tiempo de Retención Relativo (RRT): También conocido como tiempo relativo no ajustado. ⁽¹⁴⁾

$$RRT = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}$$

- Factor de Retardo (R_F): es el coeficiente entre la distancia recorrida 'por el centro de la mancha y la distancia recorrida simultáneamente por la fase móvil. ⁽¹⁴⁾

$$Rf = \frac{b}{a}$$

- Factor de Retención (k): se le conoce como factor de capacidad (k')
 K =cantidad de sustancia en la fase estacionaria / cantidad de sustancia en la fase móvil. ò K =tiempo de la sustancia en la fase estacionaria/tiempo de la sustancia en la fase móvil. ⁽¹⁴⁾

$$K = \frac{(tR - TM)}{tM}$$

- Tiempo de Retención (t_R): el tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición de la respuesta máxima. ⁽¹⁴⁾

- Volumen de retención (V_R): Es el volumen de fase móvil requerido para la elución de un componente. ⁽¹⁴⁾

$$vR = tR \times F$$

- Resolución (Rs): La resolución es la separación de dos componentes en una mezcla. ⁽¹⁴⁾

$$R_s = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_1 + W_2)}$$

3.7.2 Aptitud del Sistema. ⁽¹⁴⁾

Las pruebas de aptitud del sistema son una parte integral de los métodos de cromatografía de líquidos y gases. Estas pruebas se usan para verificar que el sistema Cromatográfico sea adecuado para el análisis que se pretende efectuar. Las pruebas se basan en el concepto de que el equipo, los sistemas electrónicos, las operaciones analíticas y las muestras analizadas constituyen un sistema integral que se puede evaluar como tal. ⁽¹⁴⁾

Los factores que pueden afectar el comportamiento Cromatográfico incluyen lo siguiente:

- Composición fuerza iónica, temperatura y pH aparente de la fase móvil.
- Velocidad de flujo, dimensiones de la columna, temperatura de la columna, presión. ⁽¹¹⁾
- Las características de la fase estacionaria, incluyendo el tipo de soporte Cromatográfico (basado en partículas o monolítico), tamaño de partícula, tamaño de poro y área específica. ⁽¹⁴⁾
- En fase reversa y otras modificaciones superficiales de las fases estacionarias, el grado de modificación química (según se expresa mediante recubrimiento exhaustivo (end-capping), carga de carbono, etc.) ⁽¹⁴⁾

Las inyecciones de una preparación estándar u otras soluciones estándar se comparan entre sí para determinar si se cumplen los requisitos de precisión. A

menos que se especifique de otro modo en la monografía individual, se usan los datos de cinco inyecciones repetidas del analito para calcular la desviación estándar relativa, %RSD, si el requisito es 2,0% o menos; se usan los datos de seis inyecciones repetidas si la desviación estándar relativa es más de 2,0%. ⁽¹⁴⁾

El factor de asimetría, A_s , una medición de la simetría del pico, la unidad es el valor que adquiere para picos perfectamente simétricos; y su valor se incrementa conforme la asimetría se vuelve más pronunciada. En algunos casos, pueden observarse valores menores a la unidad. A medida que la simetría se aleja de valores de 1, la integración y por tanto la precisión se torna menos confiables. ⁽¹⁴⁾

La relación señal-ruido (S/N) es un parámetro útil de aptitud del sistema. La S/N se calcula según se indica a continuación:

$$S/N=2H/h$$

donde H es la altura del pico medido a partir del ápice del pico hasta la línea base extrapolada sobre una distancia ≥ 5 veces el ancho del pico a su altura media; y h es la diferencia entre el valor de ruido más grande y más pequeño observados sobre una distancia ≥ 5 veces el ancho del pico a su altura media y, si fuera posible, igualmente distribuida a ambos lados del pico de interés. ⁽¹⁴⁾

Estas pruebas de aptitud del sistema se realizan recolectando datos a partir de inyecciones repetidas del estándar u otras soluciones según se especifica en la monografía individual. ⁽¹⁴⁾

La especificación de parámetros definidos en una monografía no excluye el uso de otras condiciones de operación aptas. Se permiten ajustes únicamente cuando:

- a) Se encuentran disponibles estándares adecuados (incluyendo Estándares de Referencia) para los compuestos usados en la prueba de aptitud; y

- b) Esos estándares muestran que los ajustes mejoraron la calidad de la cromatografía con respecto a los requisitos de aptitud del sistema. ⁽¹⁴⁾

No se deben realizar ajustes a los sistemas Cromatográficos a fin de cumplir con los requisitos de aptitud del sistema para compensar fallas en la columna o mal funcionamiento del sistema. ⁽¹⁴⁾

Si es necesario realizar ajustes a las condiciones operativas para cumplir con los requisitos de aptitud del sistema, cada uno de los parámetros en la lista siguiente es la variación máxima que se puede considerar, a menos que se indique algo distinto en la monografía; estos cambios pueden requerir datos de validación adicionales. Para verificar la aptitud del método en estas nuevas condiciones, evaluar las características de desempeño pertinentes que sean potencialmente afectadas por el cambio. Múltiples ajustes pueden tener un efecto acumulativo en el desempeño del sistema y deben considerarse cuidadosamente antes de implementarlos. No se recomienda realizar ajustes a la composición de la fase móvil en la elución en gradiente. Si es necesario realizar ajustes, únicamente se recomiendan cambios en la columna (mismo material de relleno) o ajustes en volumen muerto. ⁽¹⁴⁾

-pH de la fase móvil (HPLC): El pH de la solución amortiguadora acuosa usada en la preparación de la fase móvil se puede ajustar dentro de ± 0.2 unidades del valor o intervalo especificado. ⁽¹⁴⁾

-Concentración de sales en la solución amortiguadora (HPLC): la concentración de las sales usadas en la preparación de la solución amortiguadora acuosa empleada en la fase móvil se puede ajustar dentro de $\pm 10\%$ siempre que se cumpla con la variación del pH permitida. ⁽¹⁴⁾

-Relación de los componentes en la fase móvil (HPLC): los siguientes límites de ajuste aplican a componentes minoritarios de la fase móvil (especificados a 50% o menos). La cantidad de estos componentes se puede ajustar en un $\pm 30\%$ relativo. Sin embargo, el cambio en cualquier componente no puede exceder de $\pm 10\%$ absoluto (es decir, en relación a la fase móvil total). Se puede ajustar un componente minoritario en una mezcla ternaria. A continuación, se presentan ejemplos de ajustes para mezclas binarias y ternarias. ⁽¹⁴⁾

-Mezclas binarias y ternarias: cambio máximo permitido $\pm 10\%$ absoluto en cada componente.

-Longitud de onda del detector UV-Visible (HPLC): no están permitidas las desviaciones de las longitudes de onda especificadas en el procedimiento. Se usa el procedimiento especificado por el fabricante del detector, u otro procedimiento validado, para verificar el error en la longitud de onda del detector sea, como máximo, ± 3 nm. ⁽¹⁴⁾

-Velocidad de Flujo (HPLC): se puede ajustar en $\pm 50\%$ ⁽¹⁴⁾

-Volumen de inyección (HPLC): El volumen de inyección se puede reducir hasta tanto lo permitan los límites de detección y precisión aceptados; no se permiten aumentos. ⁽¹⁴⁾

-Temperatura de la columna (HPLC): la columna de la temperatura se puede ajustar tanto como $\pm 10^\circ$. Se recomienda la termostatación de la columna p mejorar el control y la reproducibilidad del tiempo de retención. ⁽¹⁴⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

-Experimental: Porque se cuantifican los preservantes químicos: Metilparabeno y Propilparabeno que se utilizan en las formas farmacéuticas líquidas Soluciones y Suspensiones, fabricados por los Laboratorios que comercializan en el Área Metropolitana de San Salvador, llevándose a cabo el análisis, en las instalaciones de un Laboratorio Nacional Privado.

-Exploratorio: Porque nos permitió conocer los Laboratorios que fabrican formas farmacéuticas Líquidas (Soluciones y Suspensiones) para la toma de muestra.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA:

Se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- Junta de Vigilancia de la Profesión Químico Farmacéutico.
- Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO:

Universo: 20 Laboratorios Farmacéuticos Nacionales inscritos, según el listado brindado por la Dirección Nacional de Medicamentos.

Muestra: Laboratorios que fabrican y comercializan Formas Farmacéuticas Líquidas (Soluciones y Suspensiones) comercializadas en el Área Metropolitana de San Salvador.

Muestreo:

El tipo de muestreo que se utilizó para la selección de los Laboratorios Farmacéuticos es **Muestreo Aleatorio Simple** el cual se usa cuando una muestra es seleccionada de modo que cada uno de los Laboratorios Farmacéuticos tenga la misma probabilidad de ser seleccionados en el estudio.

Para calcular la muestra se utilizó la siguiente ecuación: ⁽⁶⁾

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2 pq}$$

Donde:

n= Tamaño de la muestra a obtener

p= variabilidad positiva (se usa el valor de 0.5 porque no se conoce este valor con exactitud)

q= variabilidad negativa (se usa el valor de 0.5 porque no se conoce este valor con exactitud)

e= Grado de error (se tomó el valor al 10% porque la variable es poco conocida)

Z= Nivel de confianza (se usa al 95%, obteniendo un valor de tabla $Z = 1.96$) ⁽⁶⁾

N= Universo poblacional

Del total de 20 se reduce a 18 fabricantes autorizados de productos farmacéuticos en el área Metropolitana de San Salvador, dos laboratorios no son tomados en cuenta por no realizar fabricación de formas farmacéuticas líquidas y/ o solo acondiciona medicamentos. Esta selección se realizó introduciendo los 18 nombres de Laboratorios farmacéuticos nacionales autorizados para la fabricación y comercialización en el Área Metropolitana de San Salvador, en una tómbola en la cual se tomó uno a uno hasta obtener los 8 laboratorios farmacéuticos participantes que se sometieron al análisis, considerando que una

de las muestras debe ser del Laboratorio Farmacéutico Nacional Privado donde se realizó el estudio. (ver anexo N° 2)

Cálculo de tamaño de muestra Laboratorios Farmacéuticos:

$$n = \frac{(18)(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.1)^2(18 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)} = 8$$

Al momento de seleccionar los 8 laboratorios se considera como el primer laboratorio seleccionado el Laboratorio Nacional Privado donde se llevó a cabo la parte experimental, ya que este debía formar parte de la investigación, tomando al azar los 7 laboratorios restantes, se tomó una muestra de Solución (Jarabe) y una muestra de Suspensión de cada laboratorio, siendo en total 8 muestras de Solución (Jarabe) y 8 Suspensiones a las que se les realizó la cuantificación de los Preservantes (Metilparabeno y Propilparabeno).

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

El presente trabajo se realizó en cuatro etapas principales:

- **Etapa I:** se realizó la estandarización de las materias primas Metilparabeno y Propilparabeno las cuales se utilizaron como estándar de trabajo o estándar secundario, se trazaron contra estándar USP o estándar de referencia, utilizando la monografía de la USP 40, NF 35. (ver anexo N° 3)
- **Etapa II:** comprendió la Validación de la metodología para las Materias Primas Metilparabeno y Propilparabeno. Dichos métodos se validaron de

acuerdo con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano de la versión 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos (ver anexos N° 5 y N° 7)

- **Etapa III:** comprendió la Validación de la metodología de Metilparabeno y Propilparabeno en producto terminado Solución y Suspensión (muestras placebo proporcionadas por el Laboratorio Nacional privado donde se llevó a cabo la parte experimental).
- **Etapa IV:** consistió en la ejecución de la Cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno en las muestras de los Laboratorios en estudio. Los cuales fueron analizados e interpretados para concluir si la cantidad de preservantes no han sido utilizados con la finalidad de encubrir una mala práctica de manufactura.

4.4.1 ETAPA I: Estandarización de Materias Primas. (ver anexo N° 3)

Monografía de Metilparabeno según Farmacopea de los Estados Unidos Americanos USP 40 NF 35. ⁽¹⁴⁾

El Metilparabeno contiene no menos de 98.0% y no más de 102.0% de $C_8H_8O_3$.

SUSTANCIAS DE REFERENCIA: Estándar USP de Metilparabeno, manejar de acuerdo con las instrucciones de uso. ⁽¹⁴⁾

VALORACION:

Fase móvil: Metanol HPLC: Solución de fosfato diácido de potasio (65:35)

Condiciones del equipo: Detector de luz UV a una longitud de onda de 272 nm; columna de 125.0 mm x 4.0mm x 5µm, empacada con L1; flujo de 1.3 mL/ min, volumen de inyección 10µL, temperatura de 30°C.

Preparación de estándar de referencia (USP): Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de fase móvil y agitar por 10 min en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con fase móvil. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con fase móvil y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Preparación de muestra: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Materia prima), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de fase móvil y agitar por 10 min en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con fase móvil. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con fase móvil y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por triplicado e inyectar 2 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones estándar y 2 veces las muestras previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada

solución y medir las áreas de los picos correspondientes. Calcular la cantidad de $C_8H_8O_3$ por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Ensayo} = \frac{A_{mx}}{A_{st}} * Cst (\%)$$

Concentración de estándar corregida:

$$Cst (\%) = \frac{Pst * (\% \text{pureza} - \% \text{humedad})}{Pst \text{ teórico}}$$

Dónde:

A_{mx} : Área obtenida de solución Muestra.

A_{st} : Área obtenida de la solución Estándar.

Cst (%): Concentración del Estándar corregido en %.

Pst: Peso de Estándar real.

Pst teórico: Peso de Estándar indicado por metodología.

% Ensayo: Contenido de $C_8H_8O_3$ en la muestra.

Monografía de Propilparabeno según Farmacopea de los Estados Unidos Americanos USP 40 NF 35. ⁽¹⁴⁾

El Propilparabeno contiene no menos de 98.0% y no más de 102.0% de $C_{10}H_{12}O_3$.

SUSTANCIAS DE REFERENCIA: Estándar USP de Propilparabeno, manejar de acuerdo con las instrucciones de uso. ⁽¹⁴⁾

VALORACION:

Fase móvil: Metanol HPLC: Solución de fosfato diácido de potasio (65:35)

Condiciones del equipo: Detector de luz UV a una longitud de onda de 272 nm; columna de 125.0 mm x 4.0mm x 5µm, empacada con L1; flujo de 1.3 mL/ min, volumen de inyección 10µL, temperatura de 30°C.

Preparación de estándar de referencia (USP): Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de fase móvil y agitar por 10 min en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con fase móvil. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con fase móvil y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Preparación de muestra: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Materia prima), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de fase móvil y agitar por 10 min en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con fase móvil. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con fase móvil y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por triplicado e inyectar 2 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones estándar y 2 veces las muestras previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada

solución y medir las áreas de los picos correspondientes. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{12}O_3$ por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Ensayo} = \frac{A_{mx}}{A_{st}} * C_{st} (\%)$$

Concentración de estándar corregida:

$$C_{st} (\%) = \frac{P_{st} * (\% \text{pureza} - \% \text{humedad})}{P_{st} \text{ teórico}}$$

Dónde:

A_{mx} : Área obtenida de solución Muestra.

A_{st} : Área obtenida de la solución Estándar.

$C_{st} (\%)$: Concentración del Estándar corregido en %.

P_{st} : Peso de Estándar real.

$P_{st} \text{ teórico}$: Peso de Estándar indicado por metodología.

$\% \text{ Ensayo}$: Contenido de $C_{10}H_{12}O_3$ en la muestra.

4.4.2 ETAPA II: Validación del método de ensayo para las Materias Primas. (ver anexos N°7, N°8 y N°9)

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Metilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Cuantificar Metilparabeno materia prima en el procedimiento de Ensayo.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Exactitud, Precisión y Precisión intermedia.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.
- Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

- Agitador Ultrasonido, Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar USP de Metilparabeno	K1H071	0.999mg = 99.9%
Materia prima de Metilparabeno	20161019	99.5%
Placebo	N/A	N/A
Muestra	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución diluyente aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 3 inyecciones consecutivas de cada una de las soluciones diluyente preparadas al 100.0%.

Preparación de Solución diluyente: Medir 65 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de vidrio con capacidad para contener 150 mL, luego adicionar 35 mL de Solución Fosfato Diácido de Potasio y homogenizar. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.45µm descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC.

Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 3 inyecciones consecutivas de cada una de las Soluciones preparadas al 100.0%.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

Preparación de solución Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) Soluciones Estándar USP de Propilparabeno 60.0%, 80.0%, 100.0%, 140.0% y 150.0% de concentración en base al valor declarado.

Preparación de solución Estándar USP al 60.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 18.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 80.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 140.0%: Pesar 10.50 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 100mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 150.0%: Pesar 15.0 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 45.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de tres (3) Soluciones de la Materia Prima de Metilparabeno al 80.0%,100.0% y 140.0% de concentración en base al valor declarado de la Materia Prima.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL,

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este procedimiento por triplicado.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este procedimiento por triplicado.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0%: Pesar 10.50 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este procedimiento por triplicado.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración. Y dos análisis completos de Estándar USP al 100% y realizar 6 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por duplicado e inyectar seis veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este pasó por sextuplicado e inyectar dos veces cada uno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con materia prima, preparando por triplicado las series de Soluciones de materia prima a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 140.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 32.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 13
Validación N°: 01		
MATERIA PRIMA: METILPARABENO		

con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0 %: Pesar 10.50 mg de Metilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Metilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Propilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Cuantificar Propilparabeno materia prima en el procedimiento de Ensayo.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Adecuabilidad del Sistema, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Precisión y Precisión intermedia, Exactitud.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.
- Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

- Agitador ultrasonido, Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar USP de Propilparabeno	R002F0	0.999mg = 99.9%
Materia prima de Propilparabeno	20150726	100.1%
Placebo	N/A	N/A
Muestra	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua desmineralizada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución diluyente aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 3 inyecciones consecutivas de cada una de las soluciones diluyente preparadas al 100.0%.

Preparación de Solución diluyente: Medir 65 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de vidrio con capacidad para contener 150 mL, luego adicionar 35 mL de Solución Fosfato Diácido de Potasio y homogenizar. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.45µm descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC.

Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 3 inyecciones consecutivas de cada una de las Soluciones preparadas al 100.0%.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

Preparación de solución Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) Soluciones Estándar USP de Propilparabeno 60.0%, 80.0%, 100.0%, 140.0% y 150.0% de concentración en base al valor declarado.

Preparación de solución Estándar USP al 60.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

con el diluyente. Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 18.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 80.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 140.0%: Pesar 10.50 mg de Propiilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 100mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

de 10mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de Estándar USP al 150.0%: Pesar 15.0 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 45.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de tres (3) Soluciones de la Materia Prima de Metilparabeno al 80.0%,100.0% y 140.0% de concentración en base al valor declarado de la Materia Prima.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este procedimiento por triplicado.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este procedimiento por triplicado.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0%: Pesar 10.50 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este procedimiento por triplicado.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración. Y dos análisis completos de Estándar USP al 100% y realizar 6 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0%: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. *Realizar este pasó por duplicado e inyectar seis veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. Realizar este pasó por sextuplicado e inyectar dos veces cada uno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con materia prima, preparando por triplicado las series de Soluciones de materia prima a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 140.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 32.00 µg/mL de Propilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 13
Validación N°: 02		
MATERIA PRIMA: PROPILPARABENO		

con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0 %: Pesar 10.50 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno. Realizar este pasó por triplicado e inyectar dos veces cada uno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

4.4.3 ETAPA III: Validación del método de ensayo para Producto. (ver anexo N°10, N°11, N°12 y N°13)

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Metilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC para la forma farmacéutica SOLUCION, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Aplica para la cuantificación del preservante Metilparabeno en la forma farmacéutica SOLUCION fabricado por el Laboratorio Nacional privado.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Adecuabilidad del Sistema, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Precisión y Precisión intermedia, Exactitud y Estabilidad de la muestra.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.
- Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.
- Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC.

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar Secundario de Metilparabeno	20161019	99.5%
Placebo de SOLUCION	N/A	N/A
Muestra de SOLUCION (Jarabe) del Laboratorio Farmacéutico Nacional privado.	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución diluyente aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 6 inyecciones consecutivas de cada una de las soluciones placebo preparadas al 100.0%.

Preparación de la solución placebo al 100.0%: *Tomar 25.0mL de Placebo de la Solución Oral \equiv 16.25 mg de Metilparabeno y transferir a un balón volumétrico de 50.0mL, luego adicionar 25mL diluyente y ultrasonificar por 10 minutos o hasta completamente homogenización, y aforar con diluyente. Tomar una alícuota 2.0mL y transferir a balón volumétrico de 10.0 mL y llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 65.0 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC.

Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en cinco inyecciones consecutivas del estándar al 100% de la concentración de trabajo.

Preparación de solución Estándar USP al 100.0%: *Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC.

Nota: Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) soluciones Estándar de Metilparabeno al 40.0%, 80.0% 100%, 120.0% y 160.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución Estándar USP al 40.0%: Pesar 13.0 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 1.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 26.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de estándar secundario al 80.0 %: Pesar 13.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 52.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de estándar secundario al 120.0 %: Pesar 19.50 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 78.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Preparación de solución de estándar secundario al 160.0 %: Pesar 26.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 104.00 µg/mL de Metilparabeno. *Realizar este pasó por triplicado.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado, de tres soluciones Estándar de Metilparabeno al 80.0%,100.0% y 120.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 13.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0mL, luego adicionar 10.0mL de diluyente, adicionar 20.0 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 52.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 10 mL de diluyente, adicionar 25.0 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 19.50 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 30.0 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 78.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración. Y dos análisis completos de Estándar USP al 100% y realizar 6 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: *Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado Solución Oral (Equivalente a 3.25 mg de Metilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente,

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con patrón adicionado, preparando por triplicado (3) las series de Soluciones de estándar secundario más placebo (muestra sin estándar añadido) a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 120.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 13.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 20.0 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 52.00 µg/mL de Metilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 25.0 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 19.50 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 30 mL de Solución Placebo y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 78.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Estabilidad de la muestra

Realizar esta prueba preparando seis soluciones muestras al 100.0 % (producto en análisis), se deberán inyectar las muestras “DEPENDIENTES” el día de su preparación y 24 horas después de preparadas como tiempo mínimo.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 13 de 14
Validación N°: 03		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 16.25 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: *Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado Solución Oral (Equivalente a 3.25 mg de Metilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Propilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC para la forma farmacéutica SOLUCION, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Aplica para la cuantificación del preservante Propilparabeno en la forma farmacéutica SOLUCION fabricado por el Laboratorio Nacional privado.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Adecuabilidad del Sistema, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Precisión y Precisión intermedia, Exactitud y Estabilidad de la muestra.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

- Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.
- Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC.

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar Secundario de Propilparabeno	20150726	100.1%
Placebo de SOLUCION	N/A	N/A
Muestra de SOLUCION (Jarabe) del Laboratorio Farmacéutico Nacional privado.	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 6 inyecciones consecutivas de cada una de las Soluciones placebo preparadas al 100.0%.

Preparación de la solución de placebo al 100.0%: *Tomar 50.0mL de Placebo Solución Oral \approx 21.5 mg de Propilparabeno y transferir a un balón volumétrico de 100.0mL, luego adicionar 25mL diluyente y ultrasonificar por 10 minutos o hasta completamente homogenización, y aforar con diluyente. Tomar una alícuota 2.0mL y transferir a balón volumétrico de 10.0 mL y llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 43.00 μ g/mL de Propilparabeno. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20 μ m descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC. Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10 μ L) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

mismo. Consiste en cinco inyecciones consecutivas del estándar al 100% de la concentración de trabajo.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno. Filtrar la solución utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 5mL del filtrado, continuar filtrando y transferir a viales HPLC. *Nota:* Realizar este pasó por duplicado e inyectar 6 veces cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) soluciones Estándar de Metilparabeno al 40.0%, 80.0% 100%, 120.0% y 160.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución de estándar secundario al 40.0 %: Pesar 17.20 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 1.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 17.20 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 80.0 %: Pesar 17.20 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 34.40 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 120.0 %: Pesar 25.80 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 160.0 %: Pesar 34.40 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 68.80 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado, de tres soluciones Estándar de Propilparabeno al 80.0%, 100.0% y 120.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 17.20 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 40.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 34.40 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10 mL de diluyente, adicionar 50.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 25.80 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 60.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración de trabajo. Y dos análisis completos de Estándar secundario al 100% y realizar 5 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: *Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado de Solución Oral (Equivalente a 2.15 mg de

Propilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

(10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con patrón adicionado, preparando por triplicado (3) las series de Soluciones de estándar secundario más placebo (muestra sin estándar añadido) a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 120.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 17.20 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 40.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 34.40 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 50.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 25.80 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 60 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Estabilidad de la muestra

Realizar esta prueba preparando seis soluciones muestras al 100.0 % (producto en análisis), se deberán inyectar las muestras “DEPENDIENTES” el día de su preparación y 24 horas después de preparadas como tiempo mínimo.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 13 de 13
Validación N°: 04		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SOLUCION (JARABE)		

ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: Tomar una alícuota de 5.0 mL (equivalente a 3.25 mg de Propilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 65.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Metilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC para la forma farmacéutica SUSPENSION, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Aplica para la cuantificación del preservante Metilparabeno en la forma farmacéutica SUSPENSION fabricado por el Laboratorio Nacional privado.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Adecuabilidad del Sistema, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Precisión y Precisión intermedia, Exactitud y Estabilidad de la muestra.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.
- Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.
- Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC.

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar Secundario de Metilparabeno	20161019	99.5%
Placebo de SOLUCION	N/A	N/A
Muestra de SOLUCION (Jarabe) del Laboratorio Farmacéutico Nacional privado.	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 6 inyecciones consecutivas de cada una de las Soluciones placebo preparadas al 100.0%.

Preparación de la solución de placebo al 100.0%: *Tomar 25.0mL de Placebo de Suspensión Oral \equiv 15.0 mg de Metilparabeno y transferir a un balón volumétrico de 50.0mL, luego adicionar 25mL diluyente y ultrasonificar por 10 minutos o hasta completamente homogenización, y aforar con diluyente. Tomar una alícuota 4.0mL y transferir a balón volumétrico de 20.0 mL y llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.0 μ g/mL de Metilparabeno. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20 μ m descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC. Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10 μ L) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

mismo. Consiste en cinco inyecciones consecutivas del estándar al 100% de la concentración de trabajo.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) soluciones Estándar de Metilparabeno al 40.0%, 80.0% 100%, 120.0% y 160.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución de estándar secundario al 40.0 %: Pesar 12.0 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 1.0 mL y transferir a un balón volumétrico de

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

10.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 24.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 80.0 %: Pesar 12.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 48.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de estándar secundario al 120.0 %: Pesar 18.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 72.00 µg/mL de Metilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

Preparación de solución de estándar secundario al 160.0 %: Pesar 24.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0 mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 96.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado, de tres soluciones Estándar de Metilparabeno al 80.0%,100.0% y 120.0% de concentración en base al valor declarado del producto terminado.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 12.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0mL de diluyente, adicionar 20.0 mL de Solución Placebo de Suspensión Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 48.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10 mL de diluyente, adicionar 25.0 mL de Solución Placebo de Suspensión Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 18.0 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 30.0 mL de Solución Placebo de Suspensión Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 72.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración de trabajo. Y dos análisis completos de Estándar secundario al 100% y realizar 5 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: *Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado de Suspensión Oral (Equivalente a 3.0 mg de Metilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con patrón adicionado, preparando por triplicado (3) las series de Soluciones de estándar secundario más placebo (muestra sin estándar añadido) a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 120.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de patrón adicionado al 80.0 %: Pesar 12.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 20.0 mL de Solución Placebo Suspensión Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 48.00 µg/mL de Metilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 25.0 mL de Solución Placebo de Suspensión Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 18.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 30 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 72.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Estabilidad de la muestra

Realizar esta prueba preparando seis soluciones muestras al 100.0 % (producto en análisis), se deberán inyectar las muestras “DEPENDIENTES” el día de su preparación y 24 horas después de preparadas como tiempo mínimo.

Preparación de solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 13 de 13
Validación N°: 05		
PRODUCTO TERMINADO: METILPARABENO EN SUSPENSION		

Preparación de la solución muestra al 100.0%: Tomar una alícuota de 5.0 mL (equivalente a 3.0 mg de Metilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 1 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

1.0 OBJETIVO

Validar el método de ensayo para la determinación del contenido de Propilparabeno, mediante la técnica de Cromatografía Líquida HPLC para la forma farmacéutica SUSPENSION, de acuerdo a los requisitos analíticos establecidos.

2.0 ALCANCE

Aplica para la cuantificación del preservante Propilparabeno en la forma farmacéutica SUSPENSION fabricado por el Laboratorio Nacional privado.

3.0 RESPONSABLES

Químicos Analistas: Ejecutar la validación del procedimiento analítico.

Coordinador de Validación: Garantizar que la validación se realice.

Jefe de Control de Calidad: Velar el cumplimiento de la validación.

4.0 PARAMETROS A EVALUAR

Se evaluarán los parámetros de Especificidad, Adecuabilidad del Sistema, Linealidad del Sistema, Linealidad del Método, Precisión y Precisión intermedia, Exactitud y Estabilidad de la muestra.

5.0 EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 2 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

- pH metro, Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.
- Agitador ultrasonido, Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

5.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 1.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC.

6.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 3 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

- Acetonitrilo HPLC
- Alcohol isopropílico.

7.0 ESTANDARES, MUESTRAS Y PLACEBO.

NOMBRE	LOTE	POTENCIA
Estándar Secundario de Propilparabeno	20150726	100.1%
Placebo de SUSPENSION del Laboratorio Farmacéutico Nacional privado.	N/A	N/A
Muestra de SUSPENSION del Laboratorio Farmacéutico Nacional privado.	N/A	N/A

8.0 CONDICIONES DE AMBIENTALES

Todas las pruebas de la validación se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

9.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 4 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

10.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

11.0 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 5 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

12.0 DESCRIPCION DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en realizar 6 inyecciones consecutivas de cada una de las Soluciones placebo preparadas al 100.0%.

Preparación de la solución de placebo al 100.0%: *Tomar 25.0mL de Placebo de Suspensión Oral \approx 20.0 mg de Propilparabeno y transferir a un balón volumétrico de 100.0mL, luego adicionar 25mL diluyente y ultrasonificar por 10 minutos o hasta completamente homogenización, y aforar con diluyente. Tomar una alícuota 4.0mL y transferir a balón volumétrico de 20.0 mL y llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 40.0 µg/mL de Propilparabeno. Filtrar la mezcla utilizando filtro jeringa de nylon de 0.20µm descartar los primeros 10mL del filtrado, continuar filtrando y *transferir a viales HPLC. Nota: *Realizar este paso por sextuplicado e inyectar una vez cada vial.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 6 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 6 veces por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Adecuabilidad del Sistema.

Consiste en identificar las respuestas de la solución placebo aplicando el procedimiento analítico y respetando las concentraciones finales indicadas en el mismo. Consiste en cinco inyecciones consecutivas del estándar al 100% de la concentración de trabajo.

Preparación de solución Estándar USP al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado las soluciones previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 7 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Linealidad del Sistema.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de cinco (5) Soluciones Estándar USP de Propilparabeno 60.0%, 80.0%, 100.0%, 140.0% y 150.0% de concentración en base al valor declarado.

Preparación de solución de Estándar USP al 60.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL. *Tomar una alícuota de 2.0 mL, y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 18.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Estándar USP al 80.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 8 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Estándar USP al 140.0 %: Pesar 10.50 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Estándar USP al 150.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 3.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 45.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 9 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Linealidad del Método.

Consiste en realizar mediciones por triplicado de tres (3) Soluciones de la Materia Prima de Propilparabeno al 80.0%,100.0% y 140.0% de concentración en base al valor declarado de la Materia Prima.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0 %: Pesar 10.50 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 10 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) 2 veces por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Precisión y precisión Intermedia.

- I. Consiste en realizar, seis análisis completos de seis alícuotas de una muestra homogénea al 100 % de la concentración de trabajo. Y dos análisis completos de Estándar secundario al 100% y realizar 5 inyecciones de cada uno.
- II. Consiste en evaluar los resultados obtenidos para el parámetro de precisión determinado en dos series de experimentos realizados por dos analistas, en días diferentes, diferentes equipos.

Preparación de solución de Estándar USP al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno (Estándar USP), transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 11 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Exactitud.

Consiste en el análisis de Soluciones con materia prima, preparando por triplicado las series de Soluciones de materia prima a las concentraciones 80.0%, 100.0% y 140.0% del analito en base al valor declarado. Los resultados son evaluados mediante el Porcentaje de analito recuperado por el procedimiento.

Preparación de solución de Materia Prima al 80.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 12 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

de 25 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Materia Prima al 100.0 %: Pesar 15.00 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar aproximadamente 25 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 20 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de Materia Prima al 140.0 %: Pesar 10.50 mg de Propilparabeno Materia Prima, transferir a un balón volumétrico de 100 mL, adicionar aproximadamente 50 mL de diluyente y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con diluyente y homogenizar. Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de solución de patrón adicionado al 100.0 %: Pesar 21.50 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 50.0 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno.

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 13 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

Preparación de solución de patrón adicionado al 120.0 %: Pesar 25.80 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL, luego adicionar 10.0 mL de diluyente, adicionar 60 mL de Solución Placebo de Solución Oral y agitar por 10 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que completa homogenización, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de 10.0 mL, y aforar con diluyente. Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo liquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado cada solución previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Estabilidad de la muestra

Realizar esta prueba preparando seis soluciones muestras al 100.0 % (producto en análisis), se deberán inyectar las muestras “DEPENDIENTES” el día de su preparación y 24 horas después de preparadas como tiempo mínimo.

Solución de estándar secundario al 100.0 %: *Pesar 20.00 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con el diluyente. *Tomar una alícuota de 2.0 mL y transferir a un balón volumétrico de

LOGO	PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODO ANALITICO	Página 14 de 14
Validación N°: 06		
PRODUCTO TERMINADO: PROPILPARABENO EN SUSPENSION		

20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 40.00 µg/mL de Propilparabeno.

Preparación de la solución muestra al 100.0%: *Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado Suspensión Oral (Equivalente a 2.0 mg de Propilparabeno) y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 40.00 µg/mL de Propilparabeno.

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones cromatográficas*. Inyectar (10µL) por separado la solución diluyente previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

13.0 BIBLIOGRAFIA.

- Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40, NF 35
- Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 de Validación de Métodos Analíticos.
- Guía de validación de Métodos Analíticos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

4.4.4 ETAPA IV: Cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno en Solución y Suspensión. (ver anexo N°14)

LOGO	INFORME DE ANALISIS	Página 1 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO		
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06		

1.0 DEFINICION

Producto en forma farmacéutica Solución (Jarabe) y Suspensión contiene:

Una cantidad de Metilparabeno y Propilparabeno no menos de 80.0% y no más de 120.0% de la cantidad declarada.

2.0 IDENTIFICACION

El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la preparación de la muestra se corresponde con el de la preparación estándar según se obtiene en el ensayo.

3.0 EQUIPOS Y MATERIALES

3.1 EQUIPOS

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución: Modelo PRIMAIDE, Marca: MERCK HITACHI.
- Balanza analítica electrónica: Marca: METTLER TOLEDO, Modelo MS105DU, Capacidad 120.0g.
- pH metro Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo: ORION STAR A211.
- Bomba de vacío: Marca EMERSON, Modelo 5A55N X 6TC – 4143.
- Agitador Ultrasonido Marca: BRANSON. Modelo M8800H.

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 2 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

3.2 MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable.
- Balones volumétricos clase A de 10.0mL, 25.0mL, 50.0mL
- Pipeta volumétrica clase A de 2.0mL
- Beaker de 100.0mL, 1000mL, 2000mL
- Bureta de 10.0mL
- Agitador de vidrio
- Probetas
- Jeringas de 10mL
- Filtros jeringas de nylon 0.20 µm
- Filtros membrana de nylon de 0.45 µm
- Viales HPLC.
- Reservorios para HPLC

4.0 REACTIVOS

- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Fosfato de diácido de Potasio.
- Metanol HPLC
- Metanol ACS
- Acetonitrilo HPLC

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 3 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

- Alcohol isopropílico.

5.0 ESTANDARES.

- Estándar secundario Metilparabeno
- Estándar secundario Propilparabeno

6.0 CONDICIONES AMBIENTALES

Todas las pruebas del ensayo se efectuarán en las condiciones controladas de temperatura y humedad del laboratorio.

7.0 MEDIDAS DE SEGURIDAD

Revisar las hojas de seguridad de los reactivos a utilizar.

- Gabacha
- Mascarilla para gases
- Guantes
- Lentes de protección personal

8.0 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Destilada.

Solución de Fosfato Diácido de Potasio: Disolver 6.8 g de Fosfato Diácido de Potasio con 500mL de Agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL, y aforar con Agua Desmineralizada.

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 4 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

Fase Móvil: Metanol HPLC: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol HPLC y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar. Filtrar utilizando membrana de nylon de 0.45 mcm. Colocar en los reservorios HPLC e identificar.

Diluyente: Metanol ACS: Solución de Fosfato diácido de potasio (65:35). Medir 650 mL de Metanol ACS y transferir a un beaker de 1000mL, luego adicionar 350 mL de Solución Fosfato diácido de potasio mezclar y homogenizar.

9.0 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Aparato:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia
Detector:	Ultravioleta
Longitud de onda:	272 nm
Columna:	Lichrospher® RP-18 (Empaque L1) (4.0mm x 125.0mm) *(5µm)
Temperatura:	30°C
Flujo de fase móvil:	1.3 mL/min
Volumen a inyectar:	10 µL
Tiempo de retención:	minutos ± 10% de Metilparabeno minutos ± 10% de Propilparabeno
Tiempo de estabilización:	60 minutos, o el tiempo necesario para que cumpla prueba de ruido

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 5 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

10.0 ENSAYO

Preparación de solución estándar secundario: Pesar 20.00 mg de Propilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con él diluyente. Pesar 15.00 mg de Metilparabeno (Estándar Secundario), transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL, luego adicionar 25.0mL de diluyente y agitar por 5 minutos en el ultrasonido o el tiempo necesario hasta que se disuelva completamente, y aforar con él diluyente. Tomar una alícuota de 2.0 mL de la solución madre de Propilparabeno y 4.0 mL de la solución madre Metilparabeno, y transferir cada una de las alícuotas a un balón volumétrico de 20.0 mL, llevar a aforo con diluyente. Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno y 40.00 µg/mL de Propilparabeno. *Nota:* Realizar este pasó por duplicado e inyectar 5 veces cada vial.

Identificación de muestras: La codificación de las muestras, se realiza de la forma siguiente: las primeras 3 letras (Lab), es la abreviación de Laboratorio, la cuarta letra (A-H), es creciente, de acuerdo a la sucesión, en la cual fueron sustraídos cada uno en los Laboratorios participantes, y la cantidad de "S" expresadas en la codificación es para diferenciar entre una Solución y una Suspensión. Por Ejemplo, para el caso de una Solución, será LabAS, y para una Suspensión LabASS.

Donde:

Lab: Laboratorio

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 6 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

A: primer laboratorio seleccionado, al momento de realizar el muestreo aleatorio simple, el cual aumentara sucesivamente, según orden alfabético.

S: Solución (Incluye Jarabe)

SS: Suspensión

Preparación de muestra: Tomar una alícuota de 5.0 mL del producto terminado Suspensión o Solución Oral y transferir a un balón volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de diluyente, ultrasonificar por 10 minutos o el tiempo necesario para su completa homogenización, y aforar con el diluyente. Concentración final: 40.00 µg/mL de Propilparabeno, 65.00 µg/mL de Metilparabeno. *Nota:* Realizar este pasó por triplicado e inyectar 2 veces cada vial.

Laboratorio	Correlativo	Solución (Jarabe)	Código	Suspensión	Código
Lab	A	S	LabAS	SS	LabASS
Lab	B	S	LabBS	SS	LabBSS
Lab	C	S	LabCS	SS	LabCSS
Lab	D	S	LabDS	SS	LabDSS
Lab	E	S	LabES	SS	LabESS
Lab	F	S	LabFS	SS	LabFSS
Lab	G	S	LabGS	SS	LabGSS
Lab	H	S	LabHS	SS	LabHSS

LOGO	INFORME DE ANALISIS		Página 7 de 7
METILPARABENO Y PROPILPARABENO			
Método N°: MA-01	Vigencia: Septiembre-2018	Referencia Bibliográfica: USP, NF	
Validación N°: VM-01, VM-02, VM-03, VM-04, VM-05, VM-06			

Procedimiento: Adecuar las condiciones del Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificaciones de *Condiciones del equipo*. Inyectar (10µL) 5 veces por separado las soluciones estándar y 2 veces las muestras previamente filtradas, graficar los cromatogramas correspondientes a cada solución y medir las áreas de los picos correspondientes.

Calcular la cantidad de C₈H₈O₃ y C₁₀H₁₂O₃ por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ensayo} = \frac{A_{mx}}{A_{st}} * Cst (\%)$$

Concentración de estándar corregida:

$$Cst (\%) = \frac{Pst * (\% \text{pureza} - \% \text{humedad})}{Pst \text{ teórico}}$$

Dónde:

A_{mx}: Área obtenida de solución Muestra.

A_{st}: Área obtenida de la solución Estándar.

Cst (%): Concentración del Estándar corregido en %.

Pst: Peso de Estándar real.

Pst teórico: Peso de Estándar indicado por metodología.

% Ensayo: Contenido de C₈H₈O₃ y C₁₀H₁₂O₃ en la muestra.

	Elaborado por:	Revisado por:	Autorizado por:
Nombre:			
Firma:			
Fecha			

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE REULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 ETAPA I: Estandarización de Materias Primas.

Tabla N° 5. Resultados de Estandarización Metilparabeno.

Estándar USP			Muestra			% Pureza
Peso (mg)	Inyección	Área	Peso (mg)	Inyección	Área	
15.00	1	788362	15.00	1	793690	99.8%
				2	803150	100.9%
	2	796943	15.00	1	786209	98.8%
				2	795249	99.9%
	3	789739	15.01	1	782222	98.3%
				2	789459	99.2%
	4	797103	15.00	1	784071	98.5%
				2	797018	100.2%
	5	796500	15.00	1	786921	98.9%
				2	797057	100.2%
	6	800383	15.00	1	785063	98.7%
				2	799913	100.5%
Promedio		794838	Promedio		805256	99.5%
S		4711.88	S		3142.2	
CV (%)		0.59	CV (%)		0.39	

Tabla N° 6. Resultados de Estandarización Propilparabeno.

Estándar USP			Muestra			% Pureza
Peso (mg)	Inyección	Área	Peso (mg)	Inyección	Área	
15.00	1	679160	15.00	1	679539	99.0%
				2	679822	99.1%
	2	687328		1	688858	100.4%
				2	697725	101.7%
	3	691822		1	673995	98.2%
				2	689254	99.5%
	4	690788		1	683036	99.5%
				2	691400	100.7%
	5	682596		1	679445	99.0%
				2	690196	100.6%
	6	681581		1	696784	101.5%
				2	696950	101.6%

Tabla N° 6. "continuación"

Promedio		685546	Promedio		687250	100.1%
S		5200.9	S		4875.39	
CV (%)		0.76	CV (%)		0.71	

5.2 ETAPA II: Validación del método de ensayo para Materias Primas.

Tabla N° 7. Resultados de la prueba de Especificidad en Metilparabeno.

N° de inyección	Diluyente (Áreas)
1	135
2	152
3	184
4	206
5	146
6	178

Tabla N° 8. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Metilparabeno.

N° de inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$
1	788362	41938576	804492	583696
2	796943	4431025	810797	30702681
3	789739	25999801	805569	97969
4	797103	5130225	805529	74529
5	796500	2762244	803898	1844164
6	800383	30747025	801248	16064064
Promedio	794838	111008896	805256	49367103
%CV	0.59	0.8	0.39	0.85
S		4711.88		3142.19

Tabla N° 9. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
60%	473824	473854
	471735	
	476002	
80%	627491	626715
	626244	
	626409	
100%	781358	782808
	783820	
	783247	
140%	1095119	1095188
	1095960	
	1094486	
150%	1173758	1174876
	1169242	
	1181629	

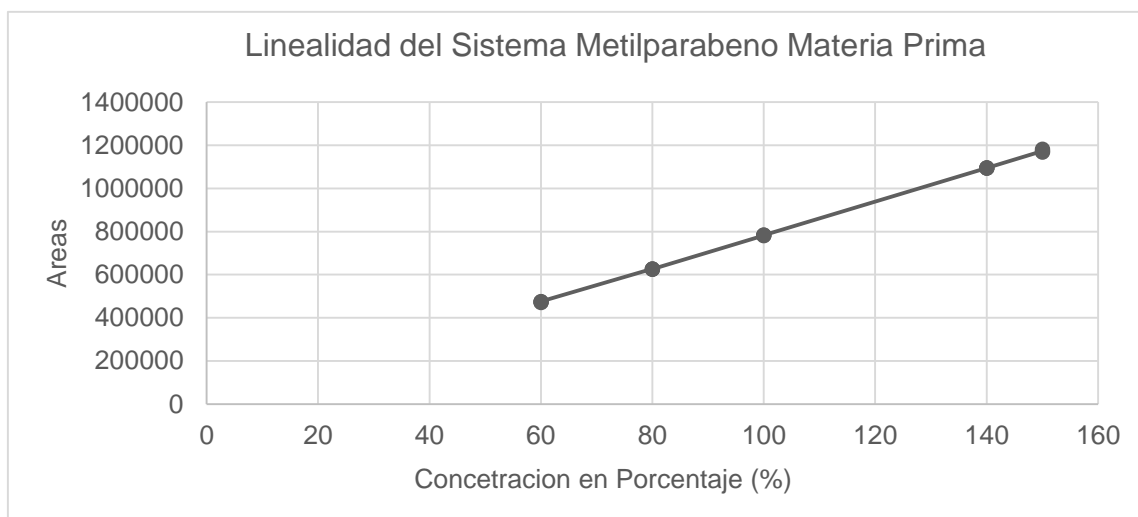


Figura N° 1. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del sistema en Metilparabeno.

Tabla N° 10. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
80%	620715	621258
	620490	
	622569	
100%	774340	774412
	774118	
	774779	
140%	1164169	1160722
	1152140	
	1165857	

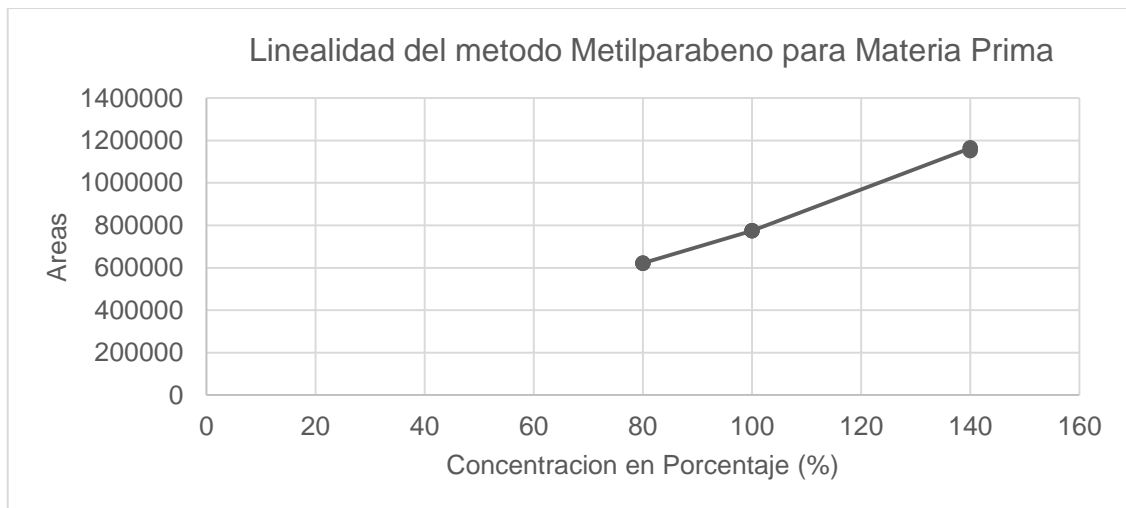


Figura N° 2. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno.

Tabla N° 11. Resultados de la prueba de Precisión en Metilparabeno.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 1 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Peso (mg)	Área	%
1	788362	804492	15.00	803150	100.40
2	796943	810797	15.00	795249	100.30
3	789739	805569	15.10	789459	99.60
4	797103	805529	15.00	797018	100.50
5	796500	803898	15.00	797057	100.50
6	800383	801248	15.00	799913	100.90
Promedio	794838	805256			
CV%	0.59	0.39			

Tabla N° 12. Resultados de la prueba de Precisión Intermedia en Metilparabeno.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 2 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Peso (mg)	Área	%
1	781641	782024	15.00	783084	99.00
2	791761	789817	15.00	793039	100.20
3	795118	796700	15.00	781687	98.80
4	799008	793169	15.00	794352	100.40
5	796568	800704	15.00	785401	100.70
6	797223	797717	15.00	789425	100.80
Promedio	793553	797717			
CV%	0.8	0.85			

Tabla N° 13. Resultados de la prueba de Exactitud en Metilparabeno.

Estándar USP Metilparabeno		
Nivel	Áreas	% Recuperación (Especificación 98.0% - 102.0%)
80%	620715	99.0%
	620490	99.0%
	622569	99.3%
100%	774340	98.9%
	774118	98.9%
	774779	99.0%
150%	1164169	99.1%
	1152140	98.1%
	1165857	99.2%

Tabla N° 14. Resultados de la prueba de Especificidad en Propilparabeno.

N°	Respuesta de Diluyente (Áreas)
1	7
2	12
3	39
4	4
5	2
6	62

Tabla N° 15. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno.

N° de Inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$
1	679160	40780996	677812	53231616
2	687328	3175524	687858	7562500
3	691822	39388176	682270	8054244
4	690788	27478564	683465	2699449
5	682596	8702500	691432	39992976
6	6815581	15721225	687811	7306209
Promedio	685546	135246985	685108	118846994
%CV	0.76	0.76	0.71	0.71
S		5200.9		4875.38

Tabla N° 16. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
60%	408467	408571
	407301	
	409946	
80%	545035	543164
	541659	
	542799	
100%	680702	680134
	679325	
	680376	
140%	979887	980780
	980406	
	982048	
150%	1012361	1015099
	1015520	
	1017416	

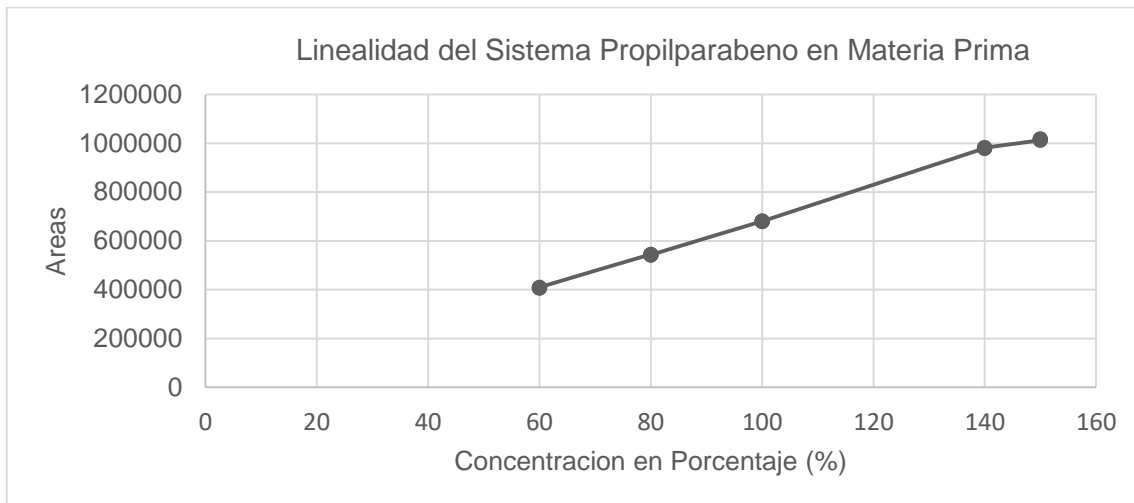


Figura N° 3. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del sistema en Propilparabeno.

Tabla N° 17. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
80%	548320	549080
	549710	
	549211	
100%	687002	689386
	690195	
	690961	
140%	962001	961467
	960441	
	961960	

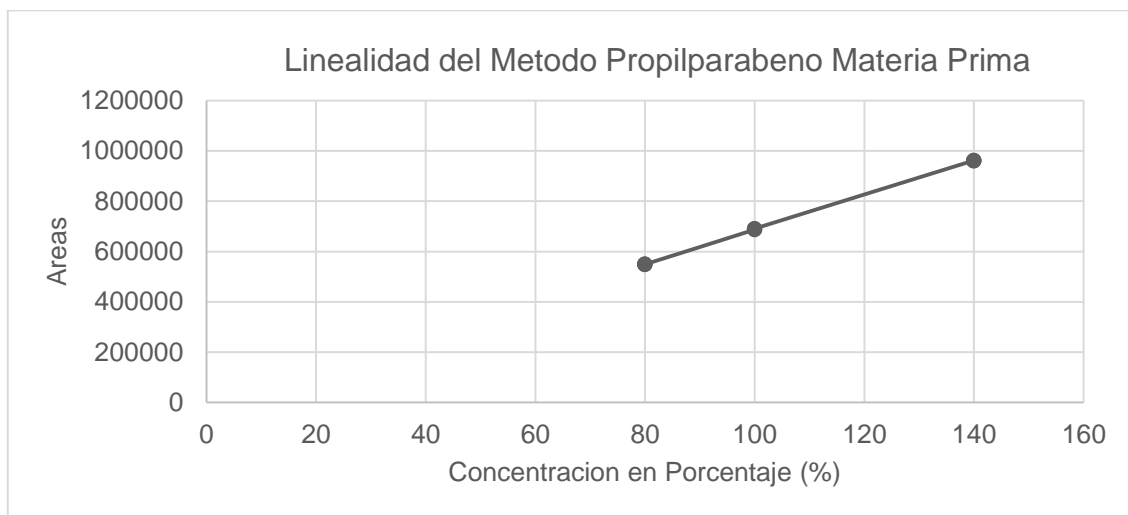


Figura N° 4. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno.

Tabla N° 18. Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 1 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Peso (mg)	Área	%
1	679160	677812	15.00	679822	98.86
2	687328	687858	15.00	697725	101.47
3	691822	682270	15.01	682954	99.32
4	690788	683465	15.00	691400	100.55
5	682596	691432	15.00	690196	100.37
6	6815581	687811	15.01	696950	101.35
Promedio	685546	685108			
CV%	0.76	0.71			

Tabla N° 19. Resultados de la prueba de Precisión Intermedia en Propilparabeno.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 2 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Peso (mg)	Área	%
1	685346	675272	15.00	693075	100.10
2	689869	684707	15.00	694405	100.20
3	693050	687488	15.00	698400	100.80
4	687580	690944	15.00	691999	99.90
5	695974	687428	15.00	699355	101.00
6	691934	687957	15.00	685488	99.00
Promedio	690625	685633			
CV%	0.56	0.79			

Tabla N°.20 Resultados de la prueba de Exactitud en Propilparabeno.

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	% Recuperación (Especificación 98.0% – 102.0%)
80%	548320	100.9
	549710	101.2
	549211	101.1
100%	687002	101.0
	690195	101.4
	690961	101.5
140%	962001	98.1
	960441	98.1
	961960	98.0

5.3 ETAPA III: Validación del método de ensayo en producto

Tabla N° 21. Resultados de la prueba Especificidad en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N°	Respuesta de Placebo (Áreas)
1	10780
2	10768
3	10820
4	10886
5	10741
6	11170

Tabla N° 22. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - \bar{X})^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - \bar{X})^2$
1	1653367	23814400	1661853	201601
2	1662945	22071204	1656909	20205025
3	1658807	313600	1658489	8497225
4	1656146	4414201	1870461	82029249
5	1659971	2972176	1659306	4401604
Promedio	1658247	53585581	1661404	115334704
%CV	0.11	0.22	0.32	0.32
S		3660.1		5369.7

Tabla N° 23. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
40%	664670	668287
	671093	
	669097	
80%	1322513	1326642
	1325048	
	1332364	
100%	1662945	1663223
	1658807	
	1667916	
120%	2000040	1994348
	1986663	
	1996341	
160%	2621837	2622024
	2621744	
	2622492	

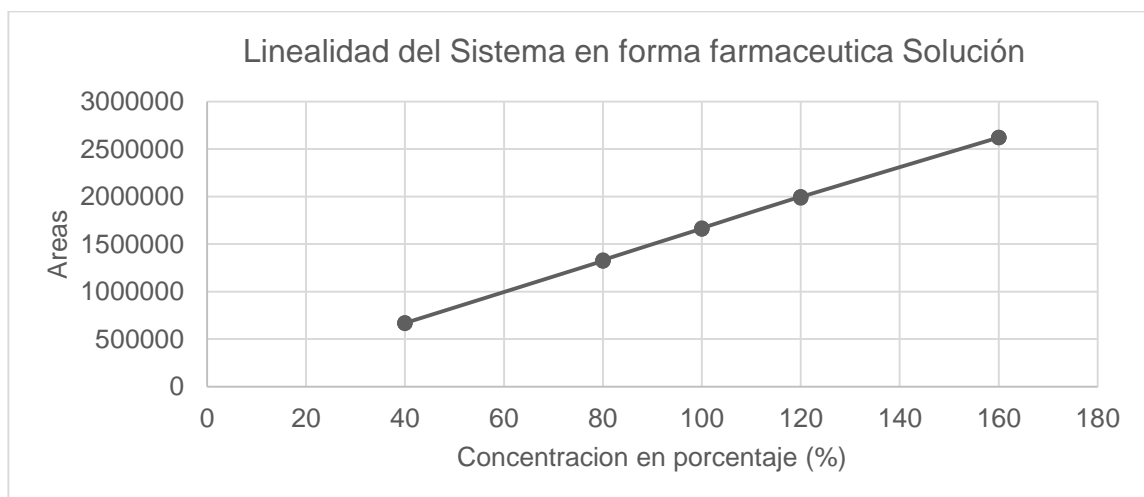


Figura N° 5. Cumplimiento de la prueba Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Tabla N° 24. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
80%	1301910	1312437
	1308294	
	1327106	
100%	1667396	1665179
	1656794	
	1671346	
120%	1987843	1978508
	1959575	
	1988106	

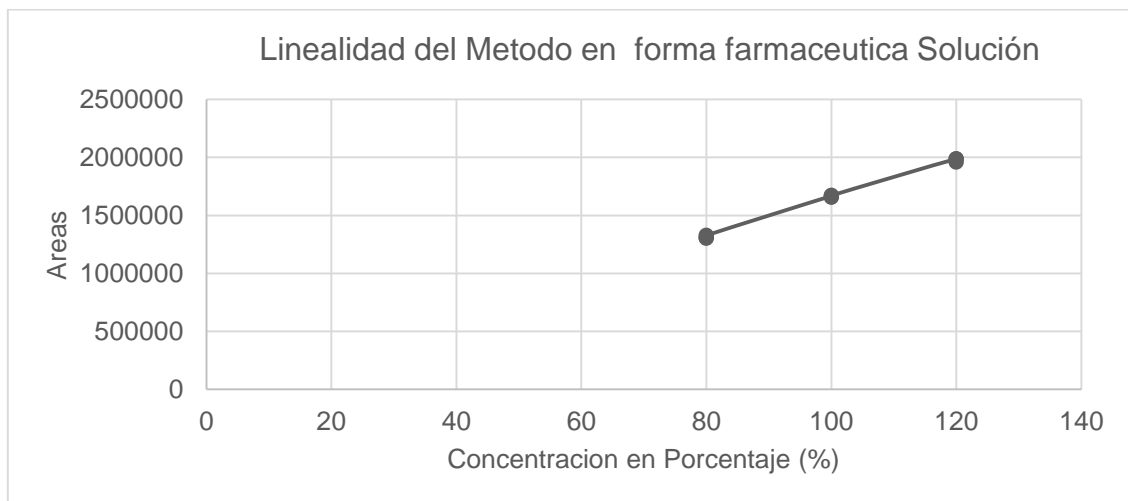


Figura N° 6. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Tabla N° 25. Resultados de la prueba de Precisión en Metilparabeno para forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 1 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	1653367	1661853	3.25	1426716	2.8
2	1662945	1656909	3.25	1439124	2.82
3	1658807	1658489	3.25	1371917	2.69
4	1656146	1870461	3.25	1377419	2.7
5	1659971	1659306	3.25	1410529	2.76
Promedio	1658247	1661404	3.25	1397064	2.74
CV%	0.11	0.32			

Tabla N° 26. Resultados de la prueba Precisión Intermedia en Metilparabeno para forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	ANALISTA 2 (Materia prima 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	1728521	1720993	3.25	1465652	2.74
2	1742338	1739304	3.25	1463852	2.73
3	1738797	1733806	3.25	1465458	2.74
4	1741640	1741664	3.25	1469034	2.75
5	1738160	1740370	3.25	1472148	2.75
Promedio	1737891	1735277	3.25	1480508	2.77
CV%	0.32	0.49			

Tabla N° 27. Resultados de la prueba de Exactitud en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP Metilparabeno		
Nivel	Área	% Recuperación (Especificación 98.0% – 102.0%)
80%	1301910	98.1
	1308294	98.6
	1327106	100.0
100%	1667396	100.2
	1656794	99.6
	1671346	100.5
120%	1987843	99.7
	1959575	98.3
	1988106	99.7

Tabla N° 28. Resultados de la prueba de Estabilidad de la Muestra en Metilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Alícuota (mg/ 5mL)	Muestra inicial		Muestra después de 24 horas	
	Área	Área		Área	%	Área	%
1	1688750	1698839	3.25	1465652	84.38	1482462	85.33
2	1695442	1716187	3.25	1463852	84.27	1491657	85.86
3	1694250	1720328	3.25	1465458	84.36	1481888	85.30
4	1711831	1723295	3.25	1469034	84.57	1461489	84.12
5	1709714	1718104	3.25	1472148	84.75	1457124	83.87
6			3.25	1480508	85.23	1475475	84.92

Tabla N° 29. Resultados de la prueba de Especificidad en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N°	Respuesta de Placebo (Áreas)
1	273
2	448
3	54
4	329
5	47
6	305

Tabla N° 30. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$
1	935228	126652516	942049	29289744
2	938457	64400625	943824	12227769
3	940423	36711481	946639	675684
4	956129	93064609	952647	26894596
5	962174	246238864	952145	21939856
Promedio	946482	567068095	947461	15337941
CV%	1.26	1.26	0.51	0.51
S		11906.6		4796.6

Tabla N° 31. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
40%	377638	31836
40%	372559	
40%	377630	
80%	747776	63350
80%	748484	
80%	748473	
100%	948173	80180
100%	952287	
100%	941461	
120%	1136140	95937
120%	1134275	
120%	1133689	
160%	1527852	128775
160%	1520183	
160%	1528188	

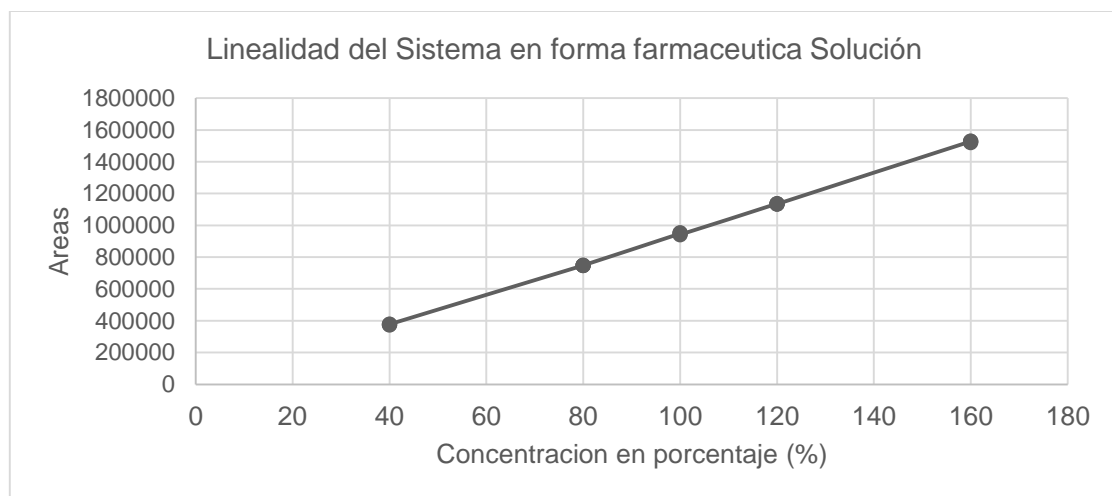


Figura N° 7. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Tabla N° 32. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
80%	813152	815158
80%	819064	
80%	813258	
100%	1004116	1011700
100%	1010254	
100%	1020730	
120%	1207550	1209165
120%	1212395	
120%	1207550	

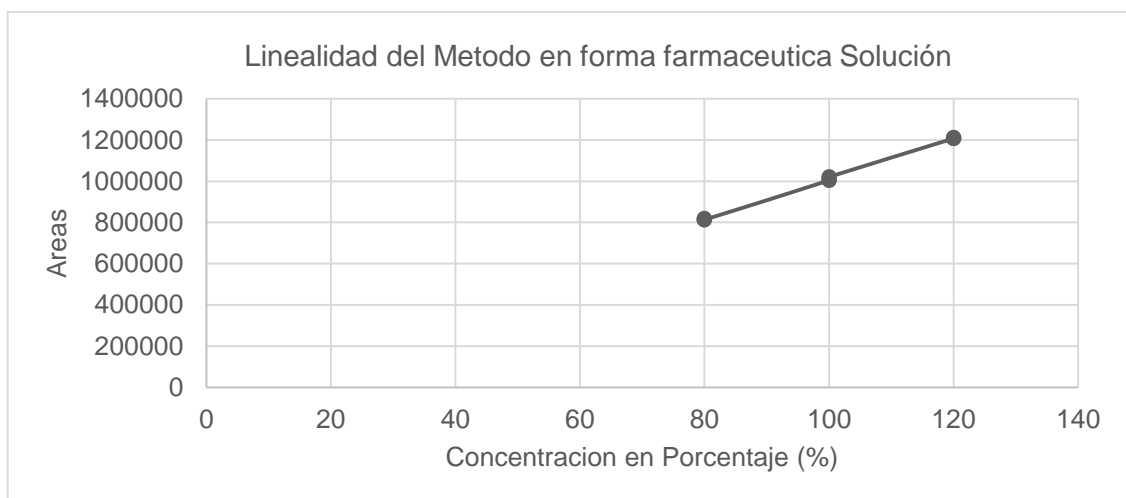


Figura N° 8. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Tabla N° 33. Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno en la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 1 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	935228	942049	2.15	926929	2.1
2	938457	943824	2.15	922487	2.09
3	940423	946639	2.15	900039	2.04
4	956129	952647	2.15	900094	2.04
5	962174	952145	2.15	916005	2.08
Promedio	946482	947461	2.15	913336	2.07
CV%	1.26	0.51			

Tabla N° 34. Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 2 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	975670	978669	3.25	949777	2.07
2	989953	988628	3.25	947968	2.07
3	988764	988247	3.25	950152	2.07
4	986635	989904	3.25	946521	2.07
5	980015	990086	3.25	946327	2.07
Promedio	984207	987107	3.25	956310	2.09
CV%	0.62	0.48			

Tabla N° 35. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	% Recuperación (Especificación 98.0% – 102.0%)
80%	813152	100.73
	819064	100.00
	813258	100.73
100%	1004116	99.79
	1010254	100.39
	1020730	98.78
120%	1207550	101.09
	1212395	100.68
	1207550	99.34

Tabla N° 36. Resultados de la prueba de Estabilidad de Muestra en Propilparabeno para la forma farmacéutica Solución (Jarabe).

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Alícuota (mg/ 5mL)	Muestra inicial		Muestra después de 24 horas	
	Área	Área		Área	%	Área	%
1	975670	978669	2.15	949777	96.55	935679	95.10
2	989953	988628	2.15	947968	96.36	938928	95.40
3	988764	988247	2.15	950152	96.58	939898	95.50
4	986635	989904	2.15	946521	96.21	941790	95.70
5	980015	990086	2.15	946327	96.20	943580	95.90
Porcentaje de Estándar	100.05	100.5	2.15	956310	97.21	943481	95.90

Tabla N° 37. Resultados de la prueba de Especificidad en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N°	Respuesta de Placebo (Áreas)
1	144
2	161
3	128
4	131
5	151
6	126

Tabla N° 38. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - X)^2$
1	1573210	243328801	1555579	38551681
2	1594787	35736484	1557366	19554084
3	1596326	56505289	1556551	27426169
4	1591680	8242641	1559658	4536900
5	1588044	585225	1579786	323928004
Promedio	1588809	344398440	1561788	413996838
CV%	0.58	0.58	0.65	0.65
S		9278.98		10173.45

Tabla N° 39. Resultados de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
40%	634218	630124
40%	621072	
40%	635083	
80%	1190329	1228583
80%	1235736	
80%	1259685	
100%	1561760	1561504
100%	1543512	
100%	1579239	
120%	1854878	1880685
120%	1874536	
120%	1912642	
160%	2449822	2487286
160%	2489968	
160%	2522067	

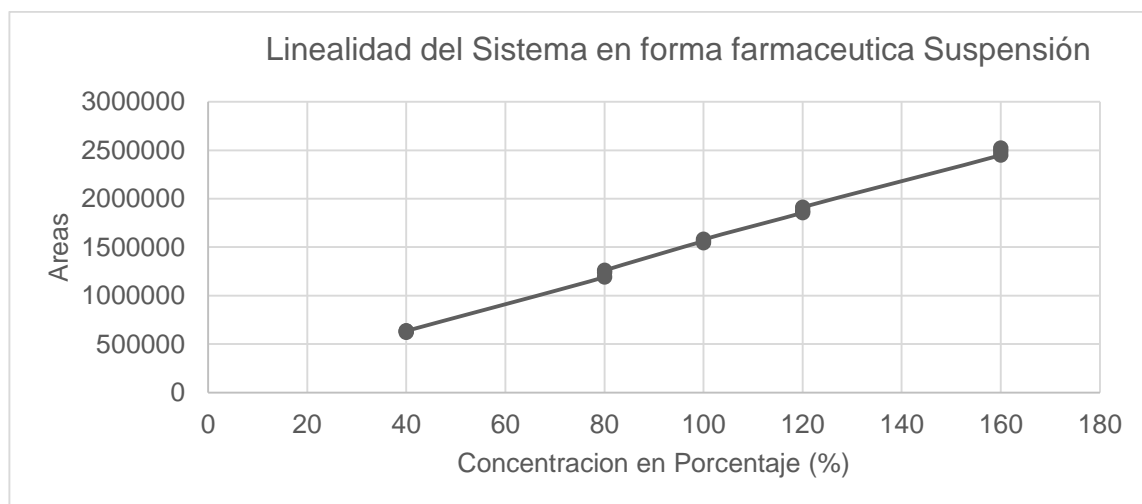


Figura N° 9. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Tabla N° 40. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP		
Nivel	Área	Promedio
80%	1211358	1211526
80%	1206186	
80%	1217034	
100%	1533310	1542231.33
100%	1539465	
100%	1553919	
120%	1854231	1859758
120%	1875524	
120%	1849519	

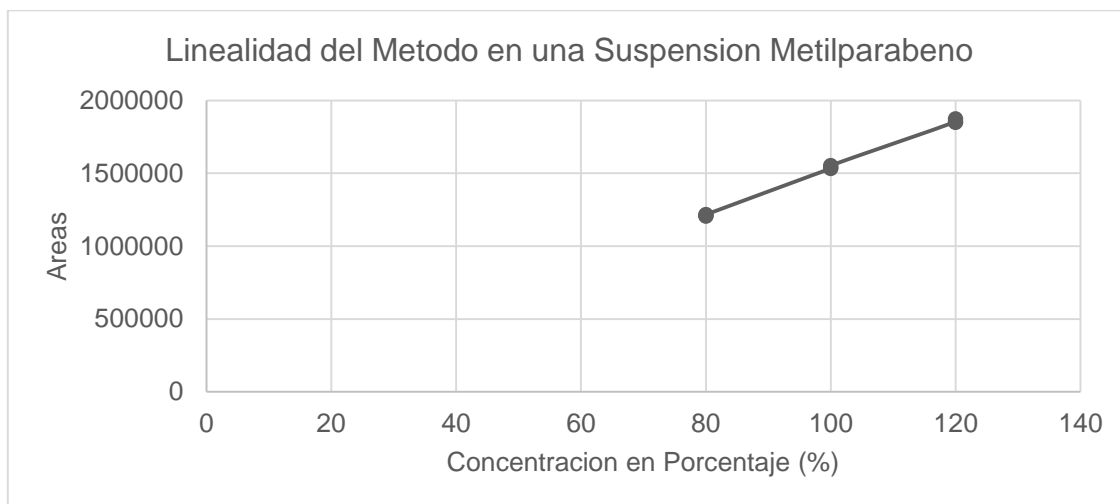


Figura N° 10. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Tabla N° 41. Resultados de la prueba de Precisión en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 1 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	1573210	1555579	3.0	1364556	2.79
2	1594787	1557366	3.0	1340696	2.74
3	1596326	1556551	3.0	1381219	2.83
4	1591680	1559658	3.0	1354527	2.77
5	1588044	1579786	3.0	1362455	2.78
Promedio	1588809	1561788	3.0	1350696	2.76
CV%	0.58	0.65			

Tabla N° 42. Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 2 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	1604463	1580252	3.0	1306488	2.62
2	1616149	1602244	3.0	1305732	2.62
3	1624615	1591435	3.0	1325554	2.66
4	1623087	1621685	3.0	1308910	2.62
5	1626956	1623811	3.0	1307479	2.62
Promedio	1619054	1603885	3.0	1301635	2.61
CV%	0.56	1.18			

Tabla N° 43. Resultados de la prueba de Exactitud en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	% Recuperación (Especificación 98.0% – 102.0%)
80%	1211358	98.59
	1206186	98.15
	1217034	99.04
100%	1533310	98.19
	1539465	98.59
	1553919	99.5
120%	1854231	98.59
	1875524	99.72
	1849519	98.34

Tabla N° 44. Resultados de la prueba de Estabilidad de la Muestra en Metilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Alícuota (mg/ 5mL)	Muestra inicial		Muestra después de 24 horas	
	Área	Área		Área	%	Área	%
1	1590937	1591416	3.0	1340096	83.52	1267986	79.02
2	1606088	1580248	3.0	1350790	84.18	1267471	78.99
3	1611376	1590652	3.0	1354110	84.39	1264171	78.78
4	1608735	1598263	3.0	1346254	83.9	1238549	77.19
5	1610574	1599665	3.0	1370307	85.39	1244690	77.57
Porcentaje de Estándar	100.06	100.06	3.0	1361666	84.86	1247185	77.73

Tabla N° 45. Resultados de la prueba de Especificidad en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N°	Respuesta de Placebo (Áreas)
1	122
2	43
3	10
4	37
5	42
6	416

Tabla N° 46. Resultados de la prueba de Adecuabilidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar-1 100%		Estándar-2 100%	
	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - \bar{X})^2$	Área (Xi)	$\Sigma(Xi - \bar{X})^2$
1	924397	12215025	932437	152028900
2	927897	25	952360	57653649
3	926401	2223081	950152	28998225
4	927013	772641	938062	44957025
5	932162	18232900	950823	3667136
Promedio	927892	33443672	944767	320312935
CV%	0.31	0.31	0.95	0.95
S		2891		8948.64

Tabla N° 47. Resultados de la prueba de Linealidad del sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	Promedio
40%	348345	348373
40%	348685	
40%	348090	
80%	726076	726077
80%	729731	
80%	722425	
100%	901952	901327
100%	898199	
100%	903830	
120%	1079983	1081375
120%	1080263	
120%	1083880	
160%	1436675	1435756
160%	1435987	
160%	1434606	

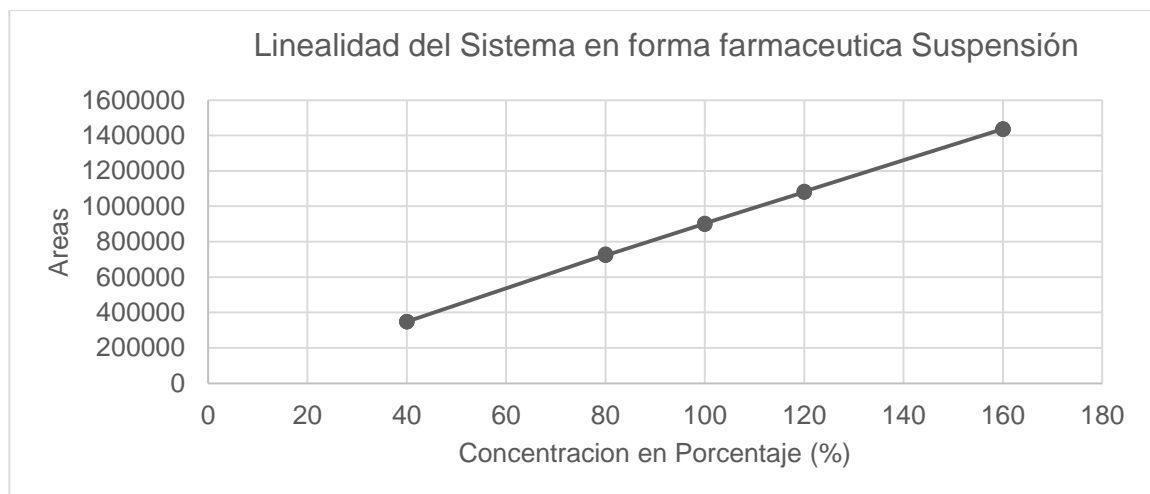


Figura N° 11. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Sistema en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Tabla N° 48. Resultados de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	Promedio
80%	725646	724269
80%	724083	
80%	723078	
100%	884598	895620
100%	900583	
100%	901678	
120%	1085479	1078939
120%	1066406	
120%	1084931	

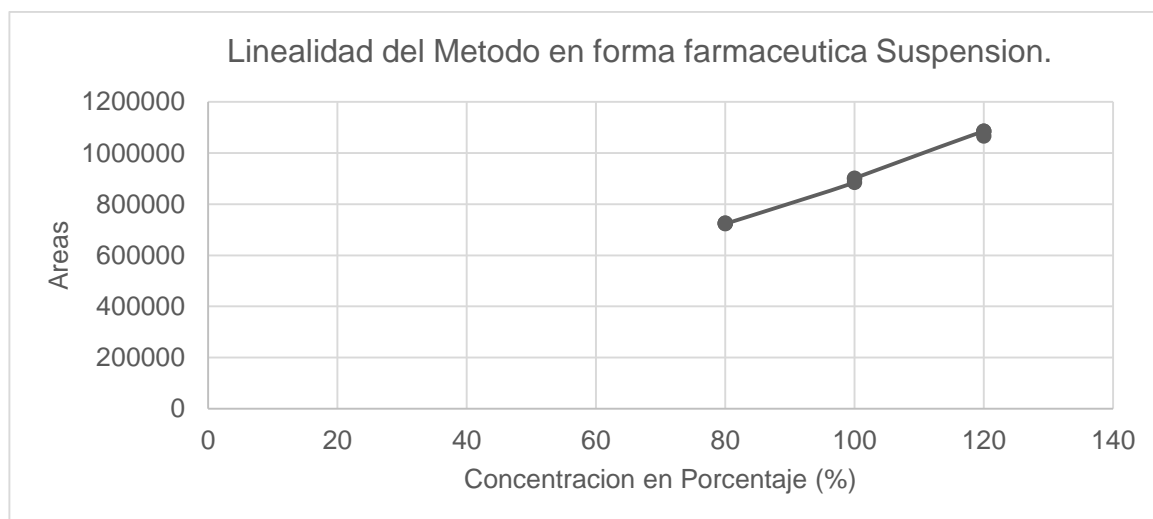


Figura N° 12. Cumplimiento de la prueba de Linealidad del Método en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Tabla N° 49. Resultados de la prueba de Precisión en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 1 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	924397	932437	2.0	865826	1.86
2	927897	952360	2.0	862264	1.86
3	926401	950152	2.0	871817	1.88
4	927013	938062	2.0	867327	1.87
5	932162	950823	2.0	867330	1.87
Promedio	927892	944767	2.0	867984	1.87
CV%	0.31	1.31			

Tabla N° 50. Resultados de la prueba de Precisión intermedia en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Analista 2 (Muestra al 100%)		
	Área	Área	Alícuota (mg/ 5mL)	Área	mg/ 5mL
1	923503	916935	2.0	848277	1.82
2	930248	929583	2.0	855883	1.84
3	930922	928319	2.0	869776	1.87
4	930404	921033	2.0	857326	1.84
5	930403	921896	2.0	855306	1.84
Promedio	929096	923553	2.0	858551	1.85
CV%	0.34	0.57			

Tabla N° 51. Resultados de la prueba de Exactitud en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

Estándar USP Propilparabeno		
Nivel	Área	% Recuperación (Especificación 98.0% – 102.0%)
80%	725646	100.2
	724083	99.97
	723078	99.81
100%	884598	99.87
	900583	101.00
	901678	100.67
120%	1085479	100.6
	1066406	98.38
	1084931	100.54

Tabla N° 52. Resultados de la prueba de Estabilidad de la muestra en Propilparabeno para la forma farmacéutica Suspensión.

N° de inyección	Estándar 1 100%	Estándar 2 100%	Alícuota (mg/ 5mL)	Muestra inicial		Muestra después de 24 horas	
	Área	Área		Área	%	Área	%
1	923503	916935	2.0	848277	91.39	971672	104.68
2	930248	929583	2.0	855883	92.21	967351	104.22
3	930922	928319	2.0	869776	93.70	956118	103.01
4	930404	921033	2.0	857326	92.36	960229	103.45
5	930403	921896	2.0	855306	92.15	943580	101.66
Porcentaje de Estándar	100.1	100.1	2.0	858551	92.5	958817	103.3

Tabla N° 53. Resumen de resultados de la Validación de metodología para ensayo de Preservantes. (ver anexo N°16)

Parámetro	Criterio	Resultado
Especificidad	El diluyente no interfiere en la cuantificación del activo, la respuesta es debida únicamente al analito.	Conforme
Adecuabilidad del Sistema	El valor del Porcentaje de Desviación Estándar Relativa (%CV) de las seis inyecciones debe ser menor o igual que 0.85% [%CV ≤ 0.85%].	Conforme
Linealidad del Sistema	El factor de correlación entre la concentración real de las soluciones estándares y la señal del equipo para cada una de ellas debe ser mayor que 0.995, el intervalo de confianza para la pendiente no incluye cero.	Conforme
Linealidad del Método	El coeficiente de determinación debe ser mayor o igual a 0.98 el intervalo de confianza para la pendiente no incluye cero.	Conforme
Precisión y precisión Intermedia	El valor del porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) de los resultados de las seis determinaciones, debe ser menor o igual que 2.0%	Conforme
Exactitud	El valor del porcentaje de recuperación debe estar comprendido entre 98.0 – 102.0 %	Conforme

Tabla N° 54. Resumen de resultados de la Validación de metodología para ensayo de Preservantes en producto. (ver anexo N°16)

Parámetro	Criterio	Resultado
Especificidad	El Placebo no interfiere en la cuantificación del activo, la respuesta es debida únicamente al analito.	Conforme
Adecuabilidad del Sistema	El valor del Porcentaje de Desviación Estándar Relativa (%CV) de las cinco inyecciones debe ser menor o igual que 2.0% [%CV ≤ 2.0%].	Conforme
Linealidad del sistema	El factor de correlación entre la concentración real de las soluciones estándares y la señal del equipo para cada una de ellas debe ser mayor que 0.995, el intervalo de confianza para la pendiente no incluye cero.	Conforme
Linealidad del Método	El coeficiente de determinación debe ser mayor o igual a 0.98. el intervalo de confianza para la pendiente no incluye cero.	Conforme

Tabla N° 54. “continuación”

Precisión y Precisión Intermedia	El valor del porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) de los resultados de las seis determinaciones, debe ser menor o igual que 2.0%	Conforme
Exactitud	El valor del porcentaje de recuperación debe estar comprendido entre 98.0 – 102.0 %	Conforme
Estabilidad de la muestra	El valor del porcentaje de recuperación debe estar comprendido entre 98.0 – 102.0 %	No Conforme
		Conforme

5.4 ETAPA IV: Cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno en Solución (Jarabe) y Suspensión de los Laboratorios Farmacéuticos en el estudio.

Tabla N° 55. Resultados de Estándar al 100% de Metilparabeno y Propilparabeno.

Estándar 100%		
N° de inyección	Metilparabeno	Propilparabeno
	Área	Área
1	1146262	684270
2	1147808	685339
3	1148495	685742
4	1148429	686282
5	1149372	686530
Promedio	1148073	685633
Porcentaje de Estándar	102.4	101.4

Tabla N° 56. Resultados Cuantificación de agentes conservadores en las diferentes muestras de laboratorios participantes en el estudio para la Forma Farmacéutica Solución (Jarabe)

Codificación	% Metilparabeno	% Propilparabeno
LabAS	91.7	95.5
LabBS	86.2	90.2
LabCS	87.8	90.4
LabDS	31.8	74.1
LabES	21.0	72.4
LabFS	86.3	105.5
LabGS	39.2	82.6
LabHS	19.0	71.8

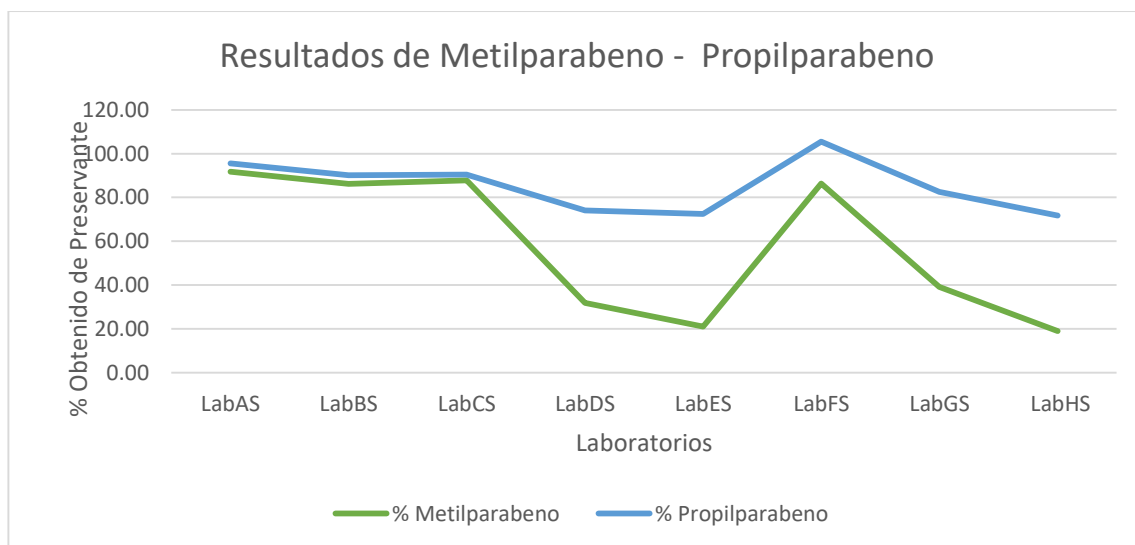


Figura N° 13. Resultados obtenidos de la cuantificación de agentes preservantes para la forma farmacéutica Solución (Jarabe) sobre el cumplimiento de especificación de agentes Preservantes 80.0%-120.0% según USP 40, NF 35 año 2017.

Interpretación de resultado: Hay en totalidad cuatro muestras conforme y 4 muestras no conforme. Para que dichos preservantes logren su actividad y exista

el sinergismo de los preservantes deben cumplir su especificación, la cual es de 80.0% - 120.0%, por lo que son 4 muestras las que cumplen dicha especificación.

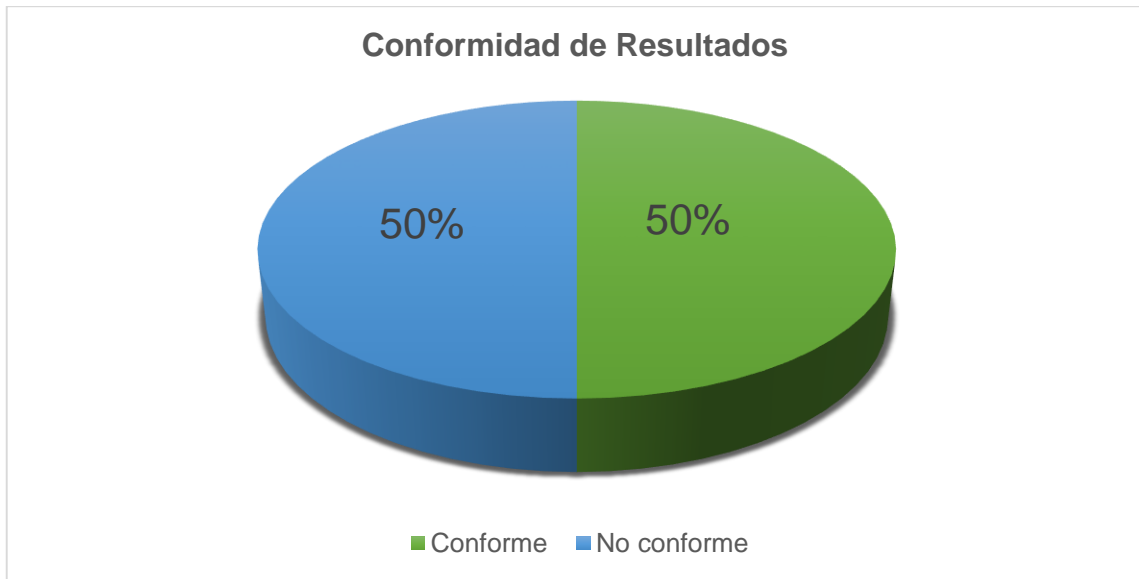


Figura N° 14 Resultados obtenidos para la forma farmacéutica Solución (Jarabe) sobre el cumplimiento de Especificación de agentes conservadores 80.0%-120.0% USP 40, NF 35 año 2017.

Tabla N° 57. Resultados Cuantificación de agentes conservadores en las diferentes muestras de laboratorios participantes en el estudio para la Forma Farmacéutica Suspensión.

Muestra	% Metilparabeno	% Propilparabeno
LabASS	92.3	112.8
LabBSS	87.4	102.9
LabCSS	18.6	72.7
LabDSS	17.7	69.9
LabESS	18.4	72.3
LabFSS	88.4	108.0
LabGSS	93.1	113.8
LabHSS	90.3	93.9

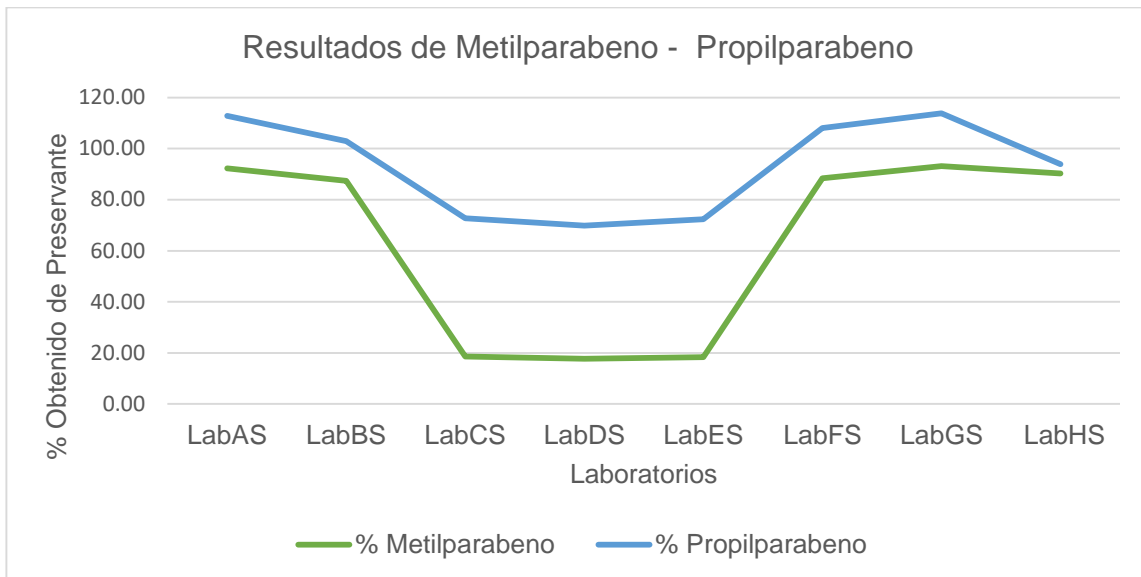


Figura N° 15. Resultados obtenidos de la cuantificación de agentes preservantes para la forma farmacéutica Suspensión sobre el cumplimiento de especificación de agentes Preservantes 80.0%-120.0% según USP 40, NF 35 año 2017.

Interpretación de resultado: Hay en totalidad tres muestras conforme y 5 muestras no conforme. Para que dichos preservantes logren su actividad y exista el sinergismo de los preservantes deben cumplir especificación, la cual es de 80.0% - 120.0%, por lo que son 5 muestras las que cumplen dicha especificación.

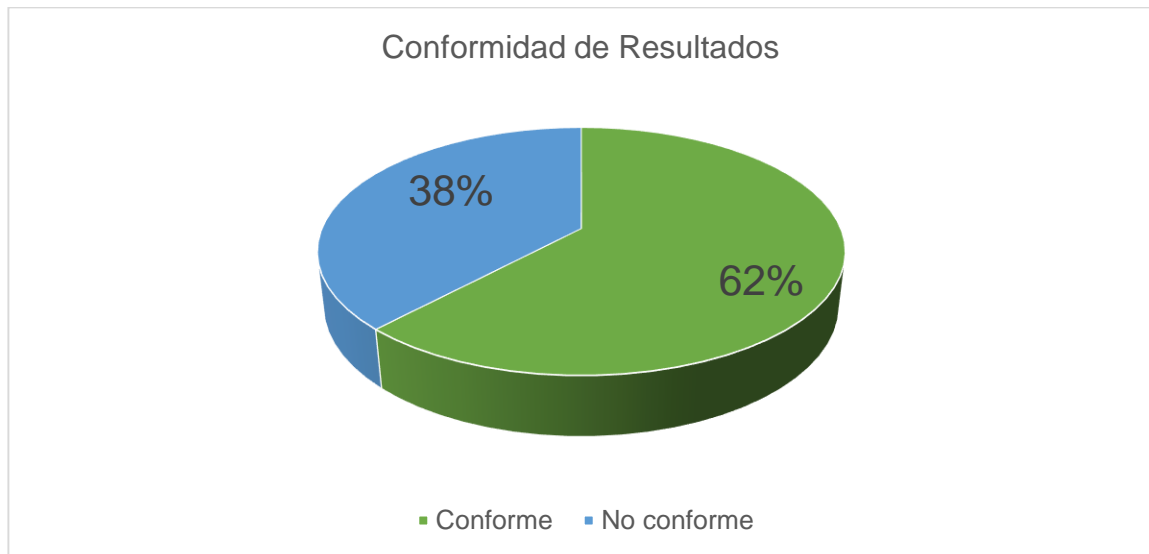


Figura N° 16 Conformidad de resultados para la forma farmacéutica Suspensión sobre el cumplimiento de Especificación de agentes conservadores 80.0%-120.0% USP 40, NF 35 año 2017.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. El método para la cuantificación de Metilparabeno y Propilparabeno aplicado en los productos seleccionados cumple con el objetivo para el cual se ha diseñado, es decir son métodos válidos.
2. La metodología validada permite realizar la cuantificación de Preservantes Químicos utilizados en la Industria Farmacéutica Nacional, asegurando la calidad de los productos.
3. De acuerdo a la conformidad de Metilparabeno y Propilparabeno, ambos forman sinergismo para ejercer la acción preservante, la cantidad determinada en estos preparados no estériles, el 50% de las muestras analizadas para la forma farmacéutica Solución se encuentran dentro del porcentaje permitido; y el 50% se encuentra por debajo del rango especificado para mantener el producto libre de contaminación microbiana de acuerdo a Farmacopea de los Estados Unidos Americanos USP 40 y NF 35, año 2017.
4. La cantidad de Preservantes químicos determinados en los preparados no estériles, el 63% de las muestras analizadas, para la forma farmacéutica Suspensiones, se encuentran dentro del porcentaje permitido y el 37% se encuentra por debajo del rango especificado para mantener el producto libre de contaminación microbiana de acuerdo a Farmacopea de los Estados Unidos Americanos USP 40 y NF 35, año 2017.
5. Las empresas Farmacéuticas de la Zona Metropolitana de San Salvador en estudio no utilizan agentes preservantes en cantidades fuera de especificación con el fin de encubrir una mala práctica de manufactura ya

que el contenido no excede el límite superior de la especificación establecida.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

1. Que los fabricantes declaren en el etiquetado la cantidad de Preservantes utilizados en las formulaciones.
2. Que los Laboratorios farmacéuticos que utilicen preservantes en los productos farmacéuticos, sean sometidos a auditorías internas, con el fin de respaldar la eficacia y calidad de los productos fabricados en cada Laboratorio.
3. Que en futuros trabajos de graduación se evalúen los aspectos microbiológicos, como la Efectividad Antimicrobiana de los productos evaluados en el presente trabajo, que contengan parabenos, para asegurar que el contenido bajo de los agentes preservantes no afecte la integridad antimicrobiana del producto durante su uso, ya que estos se utilizan juntos debido a que ambos forman sinergismo para realizar la acción Preservante.
4. Que como requisito para formas farmacéuticas Soluciones y Suspensiones, se realice la prueba de Efectividad Antimicrobiana para respaldar la cuantificación de los Preservantes en los preparados.
5. Que los laboratorios Farmacéuticos validen el método de cuantificación de Preservantes Químicos (Metilparabeno y Propilparabeno), para cada producto debido a la diversidad de matrices en el diseño de las formulaciones no estériles para obtener resultados confiables.
6. Que en estudios de Estabilidad de medicamentos que contengan Preservantes (Metilparabeno y Propilparabeno) se realice la cuantificación al inicio y final del estudio.

7. Hacer estudio a otros productos que se fabriquen en Laboratorios Farmacéuticos nacionales que puedan contener Parabenos como agentes Preservantes.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Benítez Hechavarría, E, Labrada Estrada C, Martínez Martínez E, Tamayo Fuentes O, Díaz Pérez E. (2006). Validación de un método analítico para determinación cuantitativa de parabenos en el gel de hidróxido de aluminio.
[On line]. Disponible en:
http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol40_2_06/far04206.htm. Consultado en: Noviembre 2014.
2. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C., Comité de Validación de Métodos Analíticos. (2002). Validación de Métodos Analíticos.
3. Gennaro A. R. (2003). Remington Farmacia 20° edición Buenos Aires Medica Panamericana.
4. Guía de Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos. (2010). del Organismos Salvadoreño de Acreditación (OSA) versión 1 revisión 0.
5. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use. (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1).
6. Miller J. N, Miller J. C. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica, cuarta edición, editorial Pearson educación.
7. Organización Mundial de la Salud, [On line]. Disponible en:
http://www.who.int/topics/essential_medicines/es/. Consultado: Noviembre 2014.

8. Ortiz Gómez, D. S. (2008). Validación e Implementación de una Metodología para el Análisis microbiológico de un producto líquido preservado elaborado en una industria farmacéutica.
[On line]: Disponible en:
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis109.pdf>.
Consultado en: Noviembre 2014.
9. Peligros de los parabenos. [On line]: Disponible en: <http://blowver.com/queson-los-parabenos-y/>. Consultado en: Noviembre 2014.
10. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.04:10, Productos Farmacéuticos. Estudio de Estabilidad de Medicamentos para uso Humano.
11. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06, Productos Farmacéuticos. Validación de Métodos Analíticos.
12. Rowe R.C, Sheskey P.J, Quinn M.E. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition.
13. United States Pharmacopeial Convention; Inc. The United States Pharmacopeia thirty-six. USP 36. The National Formulary NF 31
14. United States Pharmacopeial convention; Inc. The United States Pharmacopeia, forty. USP 40. The National Formulary NF 35

GLOSARIO

GLOSARIO ⁽²⁾

Estabilidad: capacidad que tiene un producto o principio activo de mantener por determinado tiempo sus propiedades originales dentro de las especificaciones de calidad establecidas.

Especificidad: Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Estabilidad de la muestra: Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Laboratorio Farmacéutico: establecimiento donde se efectúa: producción, control de calidad, importación, exportación, comercialización, investigación, desarrollo, tenencia y almacenamiento de los medicamentos.

Linealidad: La Linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

Intervalo: El intervalo de un método analítico está definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles de concentración superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), en el cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

Precisión: La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica

repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de Desviación estándar o del Coeficiente de Variación. La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

Repetibilidad: Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.).

Reproducibilidad: Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.).

Tolerancia: La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fase estacionaria, etc.), condiciones ambientales, etc.

ANEXOS

ANEXO N° 1
DIAGRAMA DE DESARROLLO DEL PROCESO DE INVESTIGACIÓN
DE CAMPO Y PARTE EXPERIMENTAL.

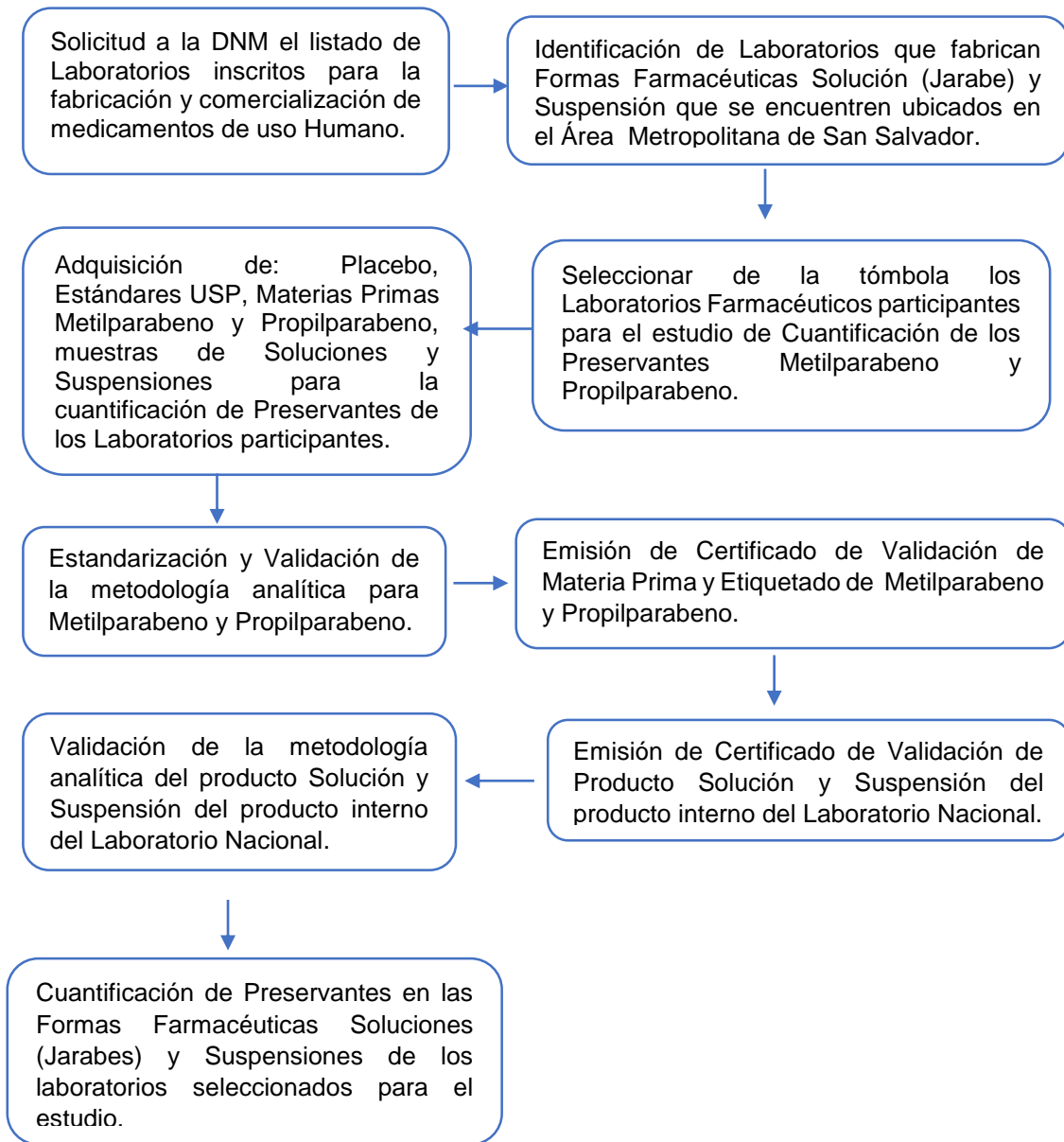


Figura N° 17. Diagrama de desarrollo del proceso de investigación de campo y parte experimental.

ANEXO N° 2
ESTABLECIMIENTOS INSCRITOS ANTE LA DIRECCIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE SAN
SALVADOR. (ACTUALIZADO A ABRIL 2018)

Tabla N° 58. Laboratorios Farmacéuticos de la Zona Metropolitana de San Salvador.

Nombre del Laboratorito	Formas Farmacéuticas Certificadas	Municipio
Laboratorio Arsal	Sólidos, líquidos, semisólidos e inyectables	San Salvador
Laboratorio Meditech	Semisólidos y líquidos	San Salvador
Laboratorio Biokemical	Acondicionado de FF sólidas, líquidas e inyectables	San Salvador
Laboratorio Paill	Sólidos, líquidos, semisólidos e inyectables	San Salvador
Laboratorio Falmar	Sólidos, líquidos y semisólidos	San Salvador
Laboratorio Butterpharma	Líquidos	San Salvador
Laboratorio Combisa	Sólidos, líquidos, semisólidos y Betalactámicos	San Salvador
Laboratorio Razel	Sólidos, líquidos y semisólidos	San Salvador
Laboratorio Vides	Sólidos y líquidos	San Salvador
Laboratorio Fardel	Sólidos, líquidos y semisólidos	San Salvador
Laboratorio Tecnofarma	Sólidos, líquidos y semisólidos	San Salvador
Laboratorio Mediken	Sólidos y líquidos	San Salvador
Laboratorio Superquimia	Sólidos	San Salvador
Laboratorio S y M	Líquidos	San Salvador
Laboratorio Pharmedic	Sólidos, líquidos, semisólidos y sólidos hormonales	San Salvador
Laboratorio Farm. Bayer	Sólidos, líquidos, semisólidos e inyectables	San Salvador
Corporación Bonima	Sólidos, líquidos, semisólidos e inyectables	San Salvador
Laboratorio Lafar	Semisólidos, líquidos, Liq. y semisólido oftálmicos	San Salvador
Laboratorio López	Sólidos, líquidos, semisólidos y Betalactámicos	San Salvador
Laboratorio Biogalenic	Líquidos e inyectables	San Salvador

ANEXO N° 3
MONOGRAFÍAS DE METILPARABENO Y PROPILPARABENO ⁽¹⁴⁾

- **SUSTANCIAS FÁCILMENTE OXIDABLES**

Muestra: 20 mL de Alcohol Metílico
Análisis: Enfriar la *Muestra* a 15°, agregar 0,1 mL de permanganato de potasio 0,1 N, y dejar en reposo a 15°.

Criterios de aceptación: El color rosado no desaparece por completo dentro de los 5 minutos.

- **PRUEBAS ESPECÍFICAS**

- **ACIDEZ**

Solución muestra: Mezclar 25 mL de agua con 10 mL de alcohol y 0,5 mL de fenoltaleína SR, y agregar hidróxido de sodio 0,02 N hasta que persista un leve color rosado después de agitar durante 30 segundos. Tomando precauciones para evitar la absorción de dióxido de carbono, agregar 19 mL (15 g) de Alcohol Metílico.

Análisis: Valorar la *Solución muestra* con hidróxido de sodio 0,020 N.

Criterios de aceptación: Se requiere no más de 0,45 mL de hidróxido de sodio 0,020 N para producir un color rosado.

- **ALCALINIDAD** (como amoniaco)

Muestra: 28,6 mL (22,6 g) de Alcohol Metílico
Análisis: Mezclar la *Muestra* con 25 mL de agua, agregar 1 gota de rojo de metilo SR, y valorar con ácido sulfúrico 0,020 N.

Criterios de aceptación: Se requiere no más de 0,20 mL de ácido sulfúrico 0,020 N para producir un color rosado (3 ppm).

- **DETERMINACIÓN DE AGUA, Método I (921):** No más de 0,1%

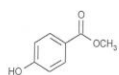
- **REQUISITOS ADICIONALES**

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases impermeables, alejados del calor, de las chispas y de las llamas abiertas.

- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**

ER Acetona USP
 ER Alcohol Metílico USP

Metilparabeno



C₈H₈O₃ 152,15
 Benzoic acid, 4-hydroxy-, methyl ester;
 Metil *p*-hidroxibenzoato [99-76-3].

- **DEFINICIÓN**

El Metilparabeno contiene no menos de 98,0% y no más de 102,0% de C₈H₈O₃.

- **IDENTIFICACIÓN**

- **A. ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO (197M)**
- **B. INTERVALO O TEMPERATURA DE FUSIÓN (741):** 125°–128°

- **VALORACIÓN**

- **PROCEDIMIENTO**

Fase móvil, Solución muestra, Solución estándar B y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en el procedimiento de *Sustancias Relacionadas*.

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar B*

Requisitos de aptitud

Desviación estándar relativa: No más de 0,85% en 6 inyecciones

Análisis

Muestras: *Solución muestra* y *Solución estándar B*
 Calcular el porcentaje de Metilparabeno en la *Solución muestra*:

$$\text{Resultado} = P \times (r_u \times C_s) / (r_s \times C_u)$$

P = pureza declarada de ER Metilparabeno USP expresada como porcentaje

r_u = área del pico de metilparabeno de la *Solución muestra*

C_s = concentración de metilparabeno en la *Solución estándar B*

r_s = área del pico de metilparabeno de la *Solución estándar B*

C_u = concentración de Metilparabeno en la *Solución muestra*

Criterios de aceptación: 98,0%–102,0%

- **IMPUREZAS**

- **Impurezas Inorgánicas**

- **RESIDUO DE INCINERACIÓN (281):** No más de 0,1%, determinado en 1,0 g

- **Impurezas Orgánicas**

- **PROCEDIMIENTO: SUSTANCIAS RELACIONADAS**

Fase móvil: Metanol y una solución de 6,8 g/L de fosfato diácido de potasio (65:35 v/v)

Solución muestra: Disolver 50,0 mg de Metilparabeno en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.

Solución estándar A: 5,0 µg/mL de ácido *p*-hidroxibenzoico y de ER Metilparabeno USP en *Fase móvil*

Solución estándar B: Disolver 50,0 mg de ER Metilparabeno USP en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.

Solución estándar C: Diluir 1,0 mL de *Solución muestra* con *Fase móvil* hasta 20,0 mL. Diluir 1,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 10,0 mL.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía (621)*, *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 272 nm

Columna: 4,6 mm × 15 cm; relleno L1 de 5 µm

Velocidad de flujo: 1,3 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Tiempo de corrida: Aproximadamente 5 veces el tiempo de retención de metilparabeno

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar A*

[NOTA—El tiempo de retención de metilparabeno es aproximadamente 2,3 minutos; el tiempo de retención relativo para ácido *p*-hidroxibenzoico es aproximadamente 0,6.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2,0 entre los picos de ácido *p*-hidroxibenzoico y metilparabeno

Análisis

Muestras: *Solución muestra* y *Solución estándar C*

[NOTA—No tomar en cuenta los límites que sean 0,2 veces el área del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,1%).]

Criterios de aceptación

Ácido *p*-hidroxibenzoico: El área del pico de la *Solución muestra*, multiplicado por 1,4 para corregir el cálculo de contenido, es no mayor que el área del pico principal de la *Solución estándar C* (0,5%).

Impurezas no especificadas: El área del pico de cada impureza de la *Solución muestra* es no mayor que el área del pico principal de la *Solución estándar C* (0,5%).

Impurezas totales: La suma de las áreas de los picos de todas las impurezas de la *Solución muestra* es no

mayor que el doble del área del pico principal de la *Solución estándar C* (1,0%).

PRUEBAS ESPECÍFICAS

• COLOR DE LA SOLUCIÓN

Solución muestra: 100 mg/mL en alcohol

Solución de comparación: Mezclar 2,4 mL de cloruro férrico SC, 1,0 mL de cloruro cobaltoso SC y 0,4 mL de sulfato cúprico SC con ácido clorhídrico 0,3 N para obtener 10 mL. Diluir 5 mL de esta solución con ácido clorhídrico 0,3 N hasta obtener 100 mL. [NOTA—Preparar y usar esta solución de inmediato.]

Análisis

Muestras: Alcohol, *Solución muestra* y *Solución de comparación*

Realizar la comparación observando las soluciones hacia abajo en tubos idénticos para comparación de color contra una superficie blanca (ver *Color y Acromatismo* (631)).

Criterios de aceptación: La *Solución muestra* es transparente y no tiene un color más intenso que el del alcohol o de la *Solución de comparación*.

• ACIDEZ

Solución muestra: Agregar 3 mL de alcohol, 5 mL de agua exenta de dióxido de carbono y 0,1 mL de verde de bromocresol SR a 2 mL de *Solución muestra* preparada en la prueba de *Color de la Solución*.

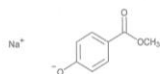
Análisis: Valorar con hidróxido de sodio 0,10 N.

Criterios de aceptación: Se requiere no más de 0,1 mL para producir un color azul.

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
ER Metilparabeno USP

Metilparabeno Sódico



$C_8H_7NaO_3$ 174,13
Benzoic acid, 4-hydroxy-, methyl ester, sodium salt;
Sal sódica de *p*-hidroxibenzoato de metilo;
4-Metoxicarbonilfenolato de sodio [5026-62-0].

DEFINICIÓN

El Metilparabeno Sódico contiene no menos de 95,0% y no más de 102,0% de metilparabeno sódico ($C_8H_7NaO_3$), calculado con respecto a la sustancia anhidra.

IDENTIFICACIÓN

• A.

Estándar: 0,5 g de ER Metilparabeno USP

Muestra: 0,5 g

Análisis: Disolver la *Muestra* en 5 mL de agua. Acidificar con ácido clorhídrico y filtrar el precipitado resultante. Lavar el precipitado con agua y secar sobre gel de sílice durante 5 horas. Repetir el procedimiento con el *Estándar*.

Criterios de aceptación: El espectro de absorción IR de una dispersión de la *Muestra* en aceite mineral presenta máximos sólo a las mismas longitudes de onda que las de una preparación similar del *Estándar*.

• B.

Solución muestra: Incinerar 0,3 g de Metilparabeno Sódico, enfriar y disolver el residuo en aproximadamente 3 mL de ácido clorhídrico 3 N.

Criterios de aceptación: Un alambre de platino sumergido en la *Solución muestra* imparte un color amarillo intenso y persistente a una llama no luminosa.

VALORACIÓN

• PROCEDIMIENTO

Fase móvil: Metanol y una solución de fosfato monobásico de potasio de 6,8 g/L (65:35, v/v)

Solución de aptitud del sistema: 5,0 µg/mL de ácido *p*-hidroxibenzoico y de ER Metilparabeno USP en *Fase móvil*

Solución estándar: Disolver 50,0 mg de ER Metilparabeno USP en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.

Solución muestra: Disolver 50,0 mg de Metilparabeno Sódico en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 272 nm

Columna: 4,6 mm × 15 cm; relleno L1 de 5 µm

Velocidad de flujo: 1,3 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Tiempo de corrida: Aproximadamente 5 veces el tiempo de retención del pico de metilparabeno

Aptitud del sistema

Muestras: *Solución de aptitud del sistema* y *Solución estándar*

[NOTA—El tiempo de retención de metilparabeno es aproximadamente 2,2 minutos; los tiempos de retención relativos para ácido *p*-hidroxibenzoico y metilparabeno son aproximadamente 0,7 y 1,0, respectivamente.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2,0 entre los picos de ácido *p*-hidroxibenzoico y metilparabeno, *Solución de aptitud del sistema*

Desviación estándar relativa: No más de 0,85% en seis inyecciones, *Solución estándar*

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de metilparabeno sódico ($C_8H_7NaO_3$) en la porción de Metilparabeno Sódico tomada:

$$\text{Resultado} = P \times (r_u/r_s) \times (C_s/C_u) \times (M_{r1}/M_{r2})$$

P = pureza declarada de ER Metilparabeno USP expresada como porcentaje

r_u = área del pico de metilparabeno de la *Solución muestra*

r_s = área del pico de metilparabeno de la *Solución estándar*

C_s = concentración de metilparabeno en la *Solución estándar*

C_u = concentración de Metilparabeno Sódico en la *Solución muestra*

M_{r1} = peso molecular de metilparabeno sódico, 174,13

M_{r2} = peso molecular de metilparabeno, 152,15

Criterios de aceptación: 95,0%–102,0% con respecto a la sustancia anhidra

IMPUREZAS

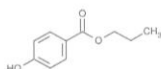
• COMPUESTOS RELACIONADOS

Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Solución muestra y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en la *Valoración*.

Solución estándar: Diluir 1,0 mL de *Solución muestra* con *Fase móvil* hasta 20,0 mL. Diluir 1,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 10,0 mL.

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases impermeables. Proteger de la luz y evitar el contacto con metales.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
ER Galato de Propilo USP

Propilparabeno

$C_{10}H_{12}O_3$ 180,20
Benzoic acid, 4-hydroxy-, propyl ester;
p-Hidroxibenzoato de propilo [94-13-3].

DEFINICIÓN

El Propilparabeno contiene no menos de 98,0% y no más de 102,0% de $C_{10}H_{12}O_3$.

IDENTIFICACIÓN

- **A. ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO (197M)**
- **B. INTERVALO O TEMPERATURA DE FUSIÓN (741):** 96°–99°

VALORACIÓN**• PROCEDIMIENTO**

Fase móvil, Solución muestra, Solución estándar B y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en el procedimiento de *Sustancias Relacionadas*.

Aptitud del sistema

Muestra: Solución estándar B

Requisitos de aptitud

Desviación estándar relativa: No más de 0,85% en 6 inyecciones

Análisis

Muestras: Solución muestra y Solución estándar B
Calcular el porcentaje de Propilparabeno en la Solución muestra:

$$\text{Resultado} = P \times (r_u \times C_s) / (r_s \times C_u)$$

P = pureza declarada de ER Propilparabeno USP expresada como porcentaje

r_u = área del pico de propilparabeno de la Solución muestra

C_s = concentración de propilparabeno en la Solución estándar B

r_s = área del pico de propilparabeno de la Solución estándar B

C_u = concentración de Propilparabeno en la Solución muestra

Criterios de aceptación: 98,0%–102,0%

IMPUREZAS**Impurezas Inorgánicas**

- **RESIDUO DE INCINERACIÓN (281):** No más de 0,1%, determinado en 1,0 g

Impurezas Orgánicas**• PROCEDIMIENTO: SUSTANCIAS RELACIONADAS**

Fase móvil: Metanol y una solución de 6,8 g/L de fosfato diácido de potasio (65:35 v/v)

Solución muestra: Disolver 50,0 mg de Propilparabeno en 2,5 mL de metanol y diluir con Fase móvil hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con Fase móvil hasta 100,0 mL.

Solución estándar A: 5,0 µg/mL de ácido *p*-hidroxibenzoico, de ER Etilparabeno USP y de ER Propilparabeno USP en Fase móvil

Solución estándar B: Disolver 50,0 mg de ER Propilparabeno USP en 2,5 mL de metanol y diluir con Fase

móvil hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con Fase móvil hasta 100,0 mL.

Solución estándar C: Diluir 1,0 mL de la Solución muestra con Fase móvil hasta 20,0 mL. Diluir 1,0 mL de esta solución con Fase móvil hasta 10,0 mL.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía (621)*, *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 272 nm

Columna: 4,6 mm × 15 cm; relleno L1 de 5 µm

Velocidad de flujo: 1,3 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Tiempo de corrida: Aproximadamente 2,5 veces el tiempo de retención de propilparabeno

Aptitud del sistema

Muestra: Solución estándar A

[NOTA—El tiempo de retención de propilparabeno es aproximadamente 4,5 minutos; los tiempos de retención relativos para ácido *p*-hidroxibenzoico y etilparabeno son aproximadamente 0,3 y 0,7, respectivamente.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 3,0 entre los picos de etilparabeno y propilparabeno

Análisis

Muestras: Solución muestra y Solución estándar C

[NOTA—No tomar en cuenta los límites que sean 0,2 veces el área del pico principal en el cromatograma obtenido con Solución estándar C (0,1%).]

Criterios de aceptación

Ácido *p*-hidroxibenzoico: El área del pico de la Solución muestra, multiplicado por 1,4 para corregir el cálculo de contenido, es no mayor que el área del pico principal de la Solución estándar C (0,5%).

Impurezas no especificadas: El área del pico de cada impureza de la Solución muestra es no mayor que el área del pico principal de la Solución estándar C (0,5%).

Impurezas totales: La suma de las áreas de los picos de todas las impurezas de la Solución muestra es no mayor que el doble del área del pico principal de la Solución estándar C (1,0%).

PRUEBAS ESPECÍFICAS**• COLOR DE LA SOLUCIÓN**

Solución muestra: 100 mg/mL en alcohol

Solución de comparación: Mezclar 2,4 mL de cloruro férrico SC, 1,0 mL de cloruro cobaltoso SC y 0,4 mL de sulfato cúprico SC con ácido clorhídrico 0,3 N para obtener 10 mL. Diluir 5 mL de esta solución con ácido clorhídrico 0,3 N para obtener 100 mL. [NOTA—Preparar y usar esta solución de inmediato.]

Análisis

Muestras: Alcohol, Solución muestra y Solución de comparación

Realizar la comparación observando las soluciones hacia abajo en tubos idénticos para comparación de color contra una superficie blanca (ver *Color y Acromatismo (631)*).

Criterios de aceptación: La Solución muestra es transparente y no tiene un color más intenso que el del alcohol o de la Solución de comparación.

• ACIDEZ

Solución muestra: Agregar 3 mL de alcohol, 5 mL de agua exenta de dióxido de carbono y 0,1 mL de verde de bromocresol SR a 2 mL de Solución muestra preparada en la prueba de *Color de la Solución*.

Análisis: Valorar con hidróxido de sodio 0,10 N.

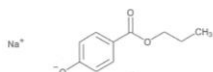
Criterios de aceptación: Se requiere no más de 0,1 mL para producir un color azul.

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados.

- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
ER Etilparabeno USP
ER Propilparabeno USP

Propilparabeno Sódico



$C_{10}H_{11}NaO_3$ 202,20
Benzoic acid, 4-hydroxy-, propyl ester, sodium salt;
Sal sódica de *p*-hidroxibenzoato de propilo;
4-Propoxicarbonilfenolato de sodio [35285-69-9].

DEFINICIÓN

El Propilparabeno Sódico contiene no menos de 94,0% y no más de 102,0% de propilparabeno sódico ($C_{10}H_{11}NaO_3$), calculado con respecto a la sustancia anhidra.

IDENTIFICACIÓN

- **A.**
Estándar: 0,5 g de ER Propilparabeno USP
Muestra: 0,5 g
Análisis: Disolver la *Muestra* en 5 mL de agua. Acidificar con ácido clorhídrico y filtrar el precipitado resultante. Lavar el precipitado con agua y secar sobre gel de sílice durante 5 horas. Repetir con el *Estándar*.
Criterios de aceptación: El espectro de absorción IR de una dispersión de la *Muestra* en aceite mineral presenta máximos sólo a las mismas longitudes de onda que los de una dispersión en aceite mineral del *Estándar*.
- **B.**
Solución muestra: Incinerar 0,3 g de Propilparabeno Sódico, enfriar y disolver el residuo en 3 mL de ácido clorhídrico 3 N.
Criterios de aceptación: Un alambre de platino sumergido en la *Solución muestra* imparte un color amarillo intenso y persistente a una llama no luminosa.

VALORACIÓN

- **PROCEDIMIENTO**
Fase móvil: Metanol y una solución de fosfato monobásico de potasio de 6,8 g/L (65:35, v/v)
Solución de aptitud del sistema: 5,0 µg/mL de ácido *p*-hidroxibenzoico, de ER Etilparabeno USP y de ER Propilparabeno USP en *Fase móvil*
Solución estándar: Disolver 50,0 mg de ER Propilparabeno USP en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.
Solución muestra: Disolver 50,0 mg de Propilparabeno Sódico en 2,5 mL de metanol y diluir con *Fase móvil* hasta 50,0 mL. Diluir 10,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 100,0 mL.
Sistema cromatográfico
(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)
Modo: HPLC
Detector: UV 272 nm
Columna: 4,6 mm × 15 cm; relleno L1 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1,3 mL/min
Volumen de inyección: 10 µL
Tiempo de corrida: Aproximadamente 2,5 veces el tiempo de retención del pico de propilparabeno
Aptitud del sistema
Muestras: *Solución de aptitud del sistema* y *Solución estándar*
[NOTA—El tiempo de retención de propilparabeno es aproximadamente 4,0 minutos; los tiempos de retención relativos para ácido *p*-hidroxibenzoico, etilpara-

beno y propilparabeno son aproximadamente 0,4; 0,7 y 1,0, respectivamente.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 3,0 entre los picos de etilparabeno y propilparabeno, *Solución de aptitud del sistema*

Desviación estándar relativa: No más de 0,85% en seis inyecciones, *Solución estándar*

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de propilparabeno sódico ($C_{10}H_{11}NaO_3$) en la porción de Propilparabeno Sódico tomada:

$$\text{Resultado} = P \times (r_U \times C_S) / (r_S \times C_U) \times (M_{r1} / M_{r2})$$

- P = pureza declarada de ER Propilparabeno USP expresada como porcentaje
 r_U = área del pico de propilparabeno de la *Solución muestra*
 C_S = concentración de propilparabeno en la *Solución estándar*
 r_S = área del pico de propilparabeno de la *Solución estándar*
 C_U = concentración de Propilparabeno Sódico en la *Solución muestra*
 M_{r1} = peso molecular de propilparabeno sódico, 202,20
 M_{r2} = peso molecular de propilparabeno, 180,20
Criterios de aceptación: 94,0%–102,0% con respecto a la sustancia anhidra

IMPUREZAS

• COMPUESTOS RELACIONADOS

Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Solución muestra y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en la *Valoración*.

Solución estándar: Diluir 1,0 mL de *Solución muestra* con *Fase móvil* hasta 20,0 mL. Diluir 1,0 mL de esta solución con *Fase móvil* hasta 10,0 mL.

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución de aptitud del sistema*

[NOTA—El tiempo de retención de propilparabeno es aproximadamente 4,0 minutos; los tiempos de retención relativos para ácido *p*-hidroxibenzoico, etilparabeno y propilparabeno son aproximadamente 0,4; 0,7 y 1,0, respectivamente.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 3,0 entre los picos de etilparabeno y propilparabeno

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Criterios de aceptación

Ácido *p*-hidroxibenzoico: No más de 4,0%; el área del pico de la *Solución muestra*, multiplicada por 1,4 para corregir el cálculo de contenido, es no más de 8 veces el área del pico principal de la *Solución estándar*.

Impurezas no especificadas: No más de 0,5%; el área del pico de cada impureza de la *Solución muestra* es no mayor que el área del pico principal de la *Solución estándar*.

Impurezas totales: No más de 1,0%; la suma de las áreas de los picos de todas las impurezas no especificadas de la *Solución muestra* es no mayor que el doble del área del pico principal de la *Solución estándar*.

• CLORUROS Y SULFATOS, *Cloruros* (221)

Solución estándar: 0,10 mL de ácido clorhídrico 0,020 N

Muestra: 0,2 g

Análisis: Proceder según se indica en el capítulo.

Criterios de aceptación: 0,035%; la *Muestra* no presenta más cloruro que la *Solución estándar*.

ANEXO N° 4

REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RTCA 11.01.04:10
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DE
MEDICAMENTOS PARA USO HUMANO.

**REGLAMENTO TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.01.04:10

Primera Actualización

**PRODUCTOS FARMACEUTICOS. ESTUDIOS DE
ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS PARA USO
HUMANO**

CORRESPONDENCIA: Este reglamento no tiene correspondencia con ninguna norma internacional.

ICS 11.120.1

RTCA 11.01.04:10

Reglamento Técnico Centroamericano, editado por:

- Ministerio de Economía, MINECO
 - Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT
 - Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC
 - Secretaría de Industria y Comercio, SIC
 - Ministerio de Economía Industria y Comercio, MEIC
-

ANEXO N° 5

REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RTCA 11.03.39:06
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. VALIDACIÓN DE MÉTODOS
ANALÍTICOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
MEDICAMENTOS.

ANEXO DE LA RESOLUCIÓN No. 188-2006 (COMIECO-XL)

**REGLAMENTO
TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.03.39: 06

**PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. VALIDACIÓN DE
MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA
EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
MEDICAMENTOS**

**Correspondencia: No hay correspondencia con ninguna norma
internacional**

ICS 11.120.01

RTCA 11.03.39:06

Reglamento Técnico Centroamericano editado por:

- **Ministerio de Economía, MINECO**
- **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT**
- **Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC**
- **Secretaría de Industria y Comercio, SIC**
- **Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC**

ANEXO N° 6
GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
DEL ORGANISMO SALVADOREÑO DE ACREDITACIÓN VERSIÓN 1
REVISIÓN 0

1. Introducción.

La validación ha sido objeto de atención por ser requerida en normas sobre sistemas de gestión de la calidad, sobre software y particularmente en la norma ISO/IEC 17025 sobre requisitos generales para laboratorios de calibración y ensayo.

La aplicabilidad del requisito sobre validación de métodos, particularmente en la norma ISO/IEC 17025, ha sido frecuentemente materia de controversia dado que cabe la interpretación de que cuando se menciona o se describe un método en una norma, entonces denominado método normalizado, no es ya necesaria la validación del mismo.

El propósito de este trabajo es discutir el concepto de validación, los elementos que lo constituyen y los procesos para llevarla a cabo, con el objetivo de reducir las controversias respecto a este tema. Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Así, el desempeño del método debe validarse y debe estimarse la incertidumbre del resultado a un nivel de confianza dado. La incertidumbre deberá ser evaluada y establecida de una forma que sea ampliamente reconocida, consistente de forma interna y fácil de interpretar. La mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método.

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficiente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos o parámetros definidos y para el propósito requerido.

El siguiente documento ha sido elaborado con el apoyo del comité técnico de validación quienes aportaron sus conocimientos en el tema con la finalidad de homologar y facilitar a los usuarios del servicio de acreditación las herramientas necesarias para dicho proceso.

2. Objetivos

Establecer una guía para las actividades de validación de métodos de ensayo no normalizados, desarrollados o diseñados por el laboratorio, métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados y para las verificaciones necesarias para confirmar que el laboratorio puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos. Sistematizar los procedimientos para la realización de la validación de los métodos de ensayo y de calibración. Evitar las discrepancias respecto a cuándo validar y la extensión de la validación según sea el caso.

ANEXO N° 7
PARAMETROS A EVALUAR EN LA VALIDACION DE LA
METODOLOGIA DE ANALISIS PARA ENSAYO.

Tabla N° 59. Parámetros a evaluar en la validación de la metodología de análisis para el ensayo.

Parámetros a evaluar en la Validación	Materias Primas	Producto Terminado
Especificidad	Si	Si
Adecuabilidad del Sistema	Si	Si
Linealidad del Sistema	Si	Si
Linealidad del Método	Si	Si
Precisión y Precisión Intermedia	Si	Si
Exactitud	Si	Si
Estabilidad de la Muestra	No	Si

ANEXO N° 8
ESQUEMA DE DILUCIONES PARA METILPARABENO MATERIA PRIMA POR
PARÁMETROS.

ESPECIFICIDAD METILPARABENO

65mL de Metanol ACS \longrightarrow 100.0mL
+ 35 mL Solución fosfato de potasio diádico

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)
 \downarrow
2.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 $\mu\text{g/mL}$ de Metilparabeno

LINEALIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO

60%

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)
 \downarrow
3.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)
 \downarrow
2.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 18.00 $\mu\text{g/mL}$ de Metilparabeno

80%

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)
 \downarrow
2.0 mL \longrightarrow 25.0 mL (diluyente)
Concentración final: 24.00 $\mu\text{g/mL}$ de Metilparabeno

100%

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno

140%

10.50 mg Estándar USP de Metilparabeno → 100.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 25.0 mL (diluyente)
Concentración final: 36.00 µg/mL de Metilparabeno

150%

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
3.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 45.00 µg/mL de Metilparabeno

EXACTITUD Y LINEALIDAD DEL METODO METILPARABENO

80%

15.00 mg Metilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 25.0 mL (diluyente)
Concentración final: 24.00 µg/mL de Metilparabeno

100%

15.00 mg Metilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno

140%

10.50 mg Metilparabeno Materia Prima → 100.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 42.00 µg/mL de Metilparabeno

PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA METILPARABENO

15.00 mg Estándar USP de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno

15.00 mg Metilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Metilparabeno

ANEXO N° 9
ESQUEMA DE DILUCIONES PARA PROPILPARABENO MATERIA
PRIMA POR PARÁMETRO.

ESPECIFICIDAD PROPILPARABENO

65mL de Metanol ACS \longrightarrow 100.0mL
+ 35 mL Solución fosfato de potasio diádico

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)
 \downarrow
2.0mL \longrightarrow 20.0mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 μ g/mL de Propilparabeno

LA LINEALIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

60%

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)
 \downarrow
3.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)
 \downarrow
2.0mL \longrightarrow 10.0mL (diluyente)
Concentración final: 18.00 μ g/mL de Propilparabeno

80%

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 25.0 mL (diluyente)
Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno

100%

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno

140%

10.50 mg Estándar USP de Propilparabeno → 100.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno

150%

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
3.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 45.00 µg/mL de Propilparabeno

EXACTITUD Y LINEALIDAD DEL METODO PROPILPARABENO

80%

15.00 mg Propilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 25.0 mL (diluyente)
Concentración final: 24.00 µg/mL de Propilparabeno

100%

15.00 mg Propilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno

140%

10.50 mg Propilparabeno Materia Prima → 100.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 42.00 µg/mL de Propilparabeno

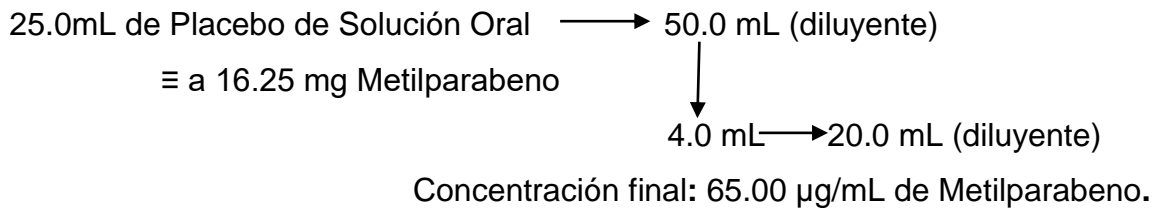
PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA PROPILPARABENO

15.00 mg Estándar USP de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno

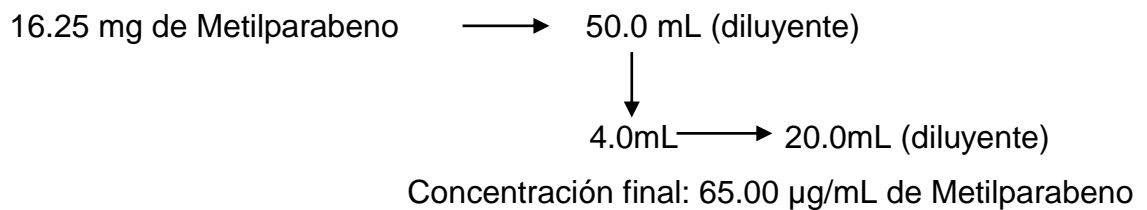
15.00 mg Propilparabeno Materia Prima → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 30.00 µg/mL de Propilparabeno

ANEXO N° 10
ESQUEMA DE DILUCIONES PARA METILPARABENO PARA LA
FORMA FARMACÉUTICA SOLUCIÓN POR PARÁMETRO.

ESPECIFICIDAD METILPARABENO

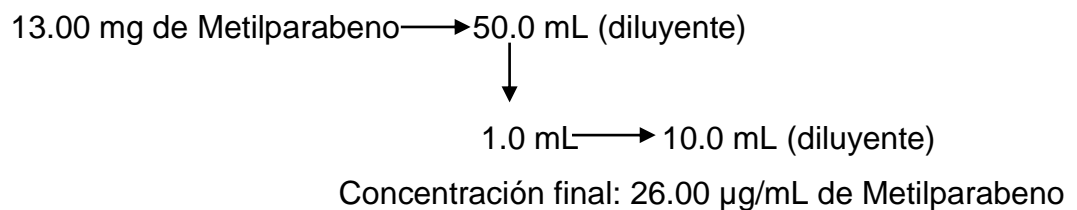


ADECUABILIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO

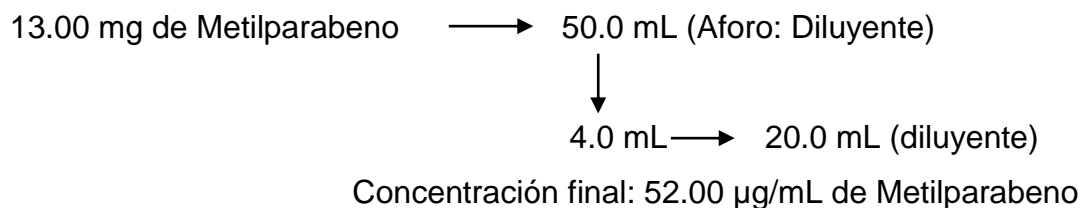


LINEALIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO

40%



80%



100%

16.25 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 20.0 mL (Aforo: Diluyente)
Concentración final: 65.00 µg/mL de Metilparabeno

120%

19.50 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 78.00 µg/mL de Metilparabeno

160%

26.00 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 104.00 µg/mL de Metilparabeno

LINEALIDAD DEL METODO METILPARABENO

80%

20 mL de Placebo Solución Oral

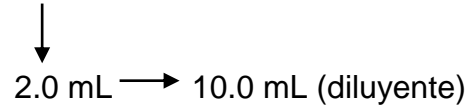
13.00 mg Estándar Secundario de Metilparabeno → 50.0 mL (Aforo: Diluyente)
↓
2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 52.00 µg/mL de Metilparabeno

100%

25.0 mL de Placebo Solución Oral

16.25 mg Estándar Secundario de → 50.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



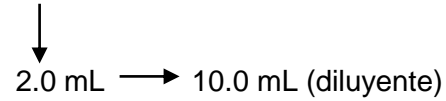
Concentración final: 65.00µg/mL de Metilparabeno

120%

30mL de Placebo Solución Oral

553.19 mg Estándar Secundario de → 50.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



Concentración final: 78.00µg/mL de Metilparabeno

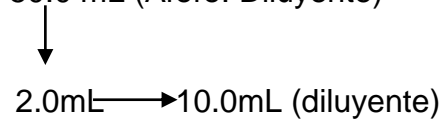
EXACTITUD METILPARABENO

80%

20mL de Placebo Solución Oral

13.00 mg Estándar Secundario de → 50.0 mL (Aforo: Diluyente)

Metilparabeno



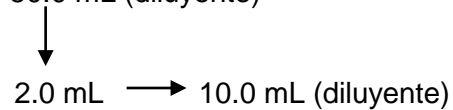
Concentración final: 52.00µg/mL de Metilparabeno

100%

25.0 mL de Placebo Solución Oral

16.25 mg Estándar Secundario de → 50.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



Concentración final: 65.00µg/mL de Metilparabeno

120%

30mL de Placebo Solución Oral

553.19 mg Estándar Secundario de \longrightarrow 50.0 mL (Aforo: Diluyente)

Metilparabeno



2.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 78.00 μ g/mL de Metilparabeno

ESTABILIDAD PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA METILPARABENO

16.25 mg de Metilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)



4.0mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 65.00 μ g/mL de Metilparabeno

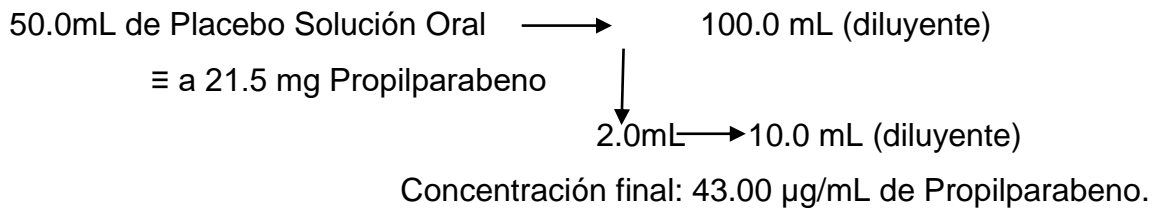
Alícuota de 5.0 mL de la solución muestra \longrightarrow 50.0mL (diluyente)

(Equivalente a 3.25 mg de Metilparabeno)

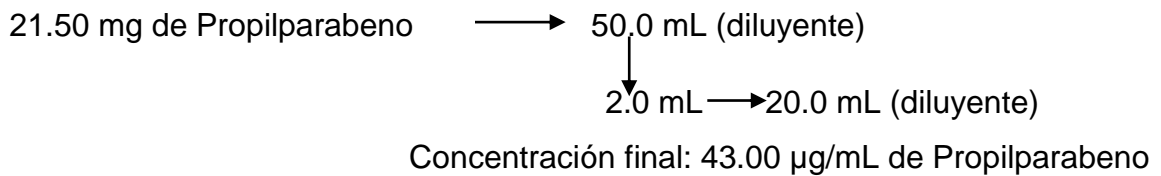
Concentración final: 65.00 μ g/mL de Metilparabeno

ANEXO N° 11
ESQUEMA DE DILUCIONES PARA PROPILPARABENO PARA LA
FORMA FARMACÉUTICA SOLUCIÓN POR PARÁMETRO.

ESPECIFICIDAD

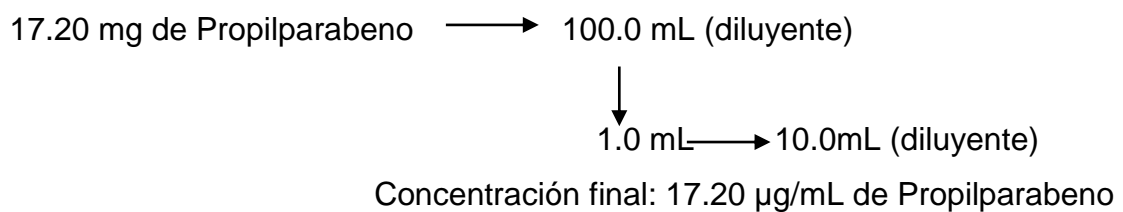


ADECUABILIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

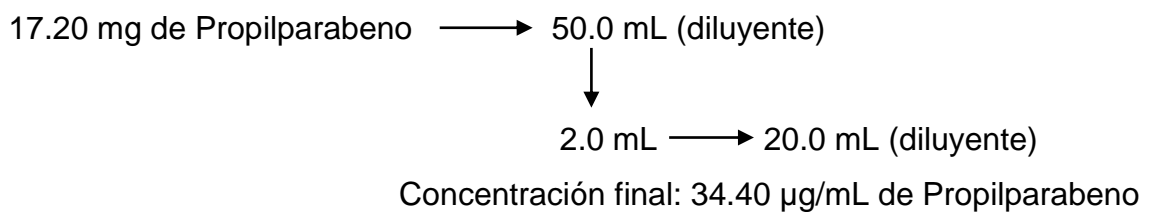


LINEALIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

40%



80%



100%

21.50 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno

120%

25.80 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno

160%

34.40 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 68.80 µg/mL de Propilparabeno

LINEALIDAD DEL METODO PROPILPARABENO

80%

40 mL de Solución Placebo Solución Oral
17.20 mg Estándar Secundario de Propilparabeno → 100.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)
Concentración final: 34.40 µg/mL de Propilparabeno

100%

50.0 mL de Solución Placebo Solución Oral

21.50 mg Estándar Secundario de
Propilparabeno

→ 100.0 mL (diluyente)



2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno

120%

60 mL de Solución Placebo Solución Oral

25.80 mg Estándar Secundario de
Propilparabeno

→ 100.0 mL (diluyente)



2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno

EXACTITUD PROPILPARABENO

80%

40 mL de Solución Placebo Solución Oral

17.20 mg Estándar Secundario de
Propilparabeno

→ 100.0 mL (diluyente)



2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 34.4.00 µg/mL de Propilparabeno

100%

50.0 mL de Solución Placebo Solución Oral

21.50 mg Estándar Secundario de Propilparabeno

→ 100.0 mL (diluyente)



2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno

120%

60 mL de Solución Placebo Solución Oral

25.80 mg Estándar Secundario de Propilparabeno

→ 100.0 mL (diluyente)



2.0 mL → 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 51.60 µg/mL de Propilparabeno

ESTABILIDAD, PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA PROPILPARABENO

21.50 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (Aforo: Diluyente)



2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno

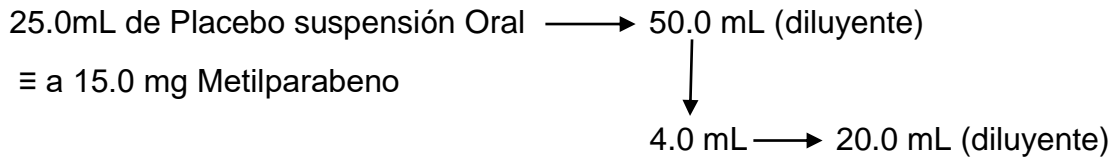
Alícuota de 5.0 mL Solución Oral → 50.0 mL (diluyente)

(Equivalente a 2.15 mg de Propilparabeno)

Concentración final: 43.00 µg/mL de Propilparabeno

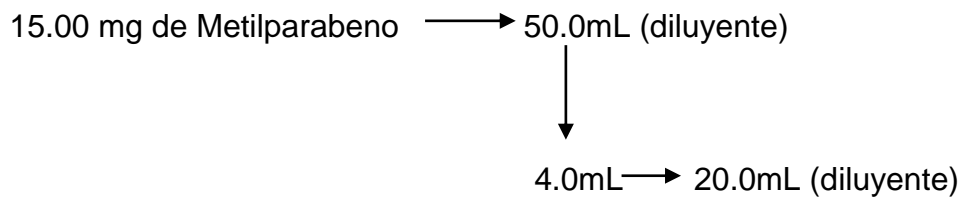
ANEXO N° 12
ESQUEMA DE DILUCIONES PARA METILPARABENO PARA LA FORMA
FARMACÉUTICA SUSPENSIÓN.

ESPECIFICIDAD METILPARABENO



Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno

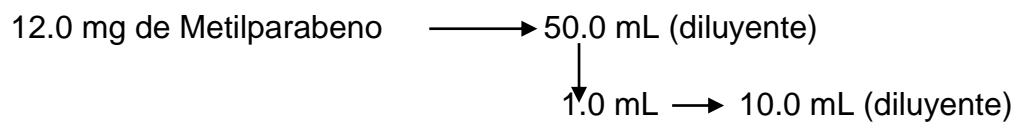
ADECUABILIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO



Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno

LINEALIDAD DEL SISTEMA METILPARABENO

40%



Concentración final: 24.00 µg/mL de Metilparabeno

80%

12.00 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓

4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 48.00 µg/mL de Metilparabeno

100 %

15.00 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓

4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 60.00 µg/mL de Metilparabeno

120%

18.00 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓

4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 72.00 µg/mL de Metilparabeno

160%

24.00 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)



4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 96.00 µg/mL de Metilparabeno

LINEALIDAD DEL METODO METILPARABENO

80%

20mL de Solución Placebo Suspensión Oral

12.00 mg Estándar Secundario de → 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



4.0 mL → 10.0mL (diluyente)

Concentración final: 48.00µg/mL de Metilparabeno

100%

25.0 mL de Solución Placebo Suspensión Oral

15.00 mg Estándar Secundario de → 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



4.0 mL → 10.0mL (diluyente)

Concentración final: 60.00µg/mL de Metilparabeno

120%

30mL de Solución Placebo Suspensión Oral

18.0 mg Estándar Secundario de → 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



4.0mL → 10.0mL (diluyente)

Concentración final: 72.00µg/mL de Metilparabeno

EXACTITUD METILPARABENO

80%

20mL de Solución Placebo Suspensión Oral

12.00 mg Estándar Secundario de → 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



4.0mL → 10.0mL (diluyente)

Concentración final: 48.00µg/mL de Metilparabeno

100%

25.0 mL de Solución Placebo Suspensión Oral

15.00 mg Estándar Secundario de → 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno



4.0 mL → 10.0 mL (Aforo: Diluyente)

Concentración final: 60.00µg/mL de Metilparabeno

120%

30mL de Solución Placebo Suspensión Oral

18.0 mg Estándar Secundario de \longrightarrow 100.0 mL (diluyente)

Metilparabeno

\downarrow
4.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 72.00 μ g/mL de Metilparabeno

ESTABILIDAD, PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA METILPARABENO

15.0 mg de Metilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (Aforo: Diluyente)

\downarrow

4.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 60.00 μ g/mL de Metilparabeno

Alícuota de 5.0 mL de la Suspensión Oral \longrightarrow 50.0mL (diluyente)

(Equivalente a X mg de Metilparabeno)

Concentración final: 60.00 μ g/mL de Metilparabeno

ANEXO N° 13

ESQUEMA DE DILUCIONES PARA PROPILPARABENO PARA LA FORMA
FARMACÉUTICA SUSPENSIÓN POR PARÁMETRO.

ESPECIFICIDAD PROPILPARABENO

25.0 mL de Placebo Suspensión Oral \longrightarrow 100.0 mL (diluyente)
 \equiv a 10.0 mg Propilparabeno

↓
4.0 mL \longrightarrow 10.0 mL (diluyente)

Concentración final: 40.00 μ g/mL de Propilparabeno.

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

20.00 mg de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)

↓
2.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 40.00 μ g/mL de Propilparabeno

LINEALIDAD DEL SISTEMA PROPILPARABENO

40%

16.0 mg de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)

↓
1.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 16.00 μ g/mL de Propilparabeno

80%

16.00 mg de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (diluyente)

↓
2.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

Concentración final: 32.00 μ g/mL de Propilparabeno

100%

20.00 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
2.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 40.00 µg/mL de Propilparabeno

120%

12.00 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 48.00 µg/mL de Propilparabeno

160%

16.00 mg de Propilparabeno → 50.0 mL (diluyente)
↓
4.0 mL → 20.0 mL (diluyente)
Concentración final: 64.00 µg/mL de Propilparabeno

LINEALIDAD DEL METODO PROPILPARABENO

80%

40mL de Solución Placebo Suspensión Oral

16.00 mg Estándar Secundario de \longrightarrow 100.0 mL (diluyente)

Propilparabeno



4.0mL \longrightarrow 20.0mL (diluyente)

Concentración final: 32.00 μ g/mL de Propilparabeno

100%

50.0 mL de Solución Placebo Suspensión Oral

20.00 mg Estándar Secundario de \longrightarrow 100.0 mL (diluyente)

Propilparabeno



4.0 mL \longrightarrow 20.0mL (diluyente)

Concentración final: 40.00 μ g/mL de Propilparabeno

120%

60mL de Solución Placebo Suspensión Oral

24.0 mg Estándar Secundario de \longrightarrow 100.0 mL (diluyente)

Propilparabeno

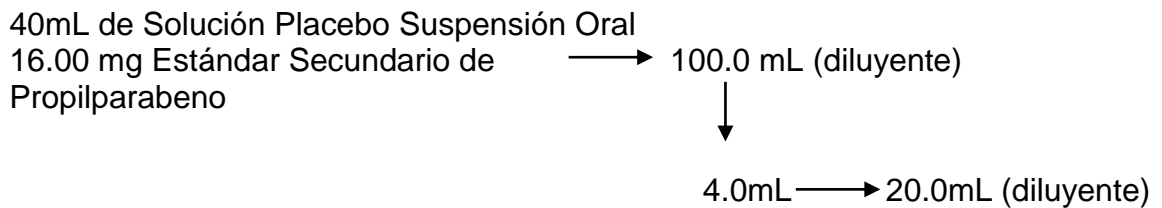


4.0 mL \longrightarrow 20.0mL (diluyente)

Concentración final: 48.00 μ g/mL de Propilparabeno

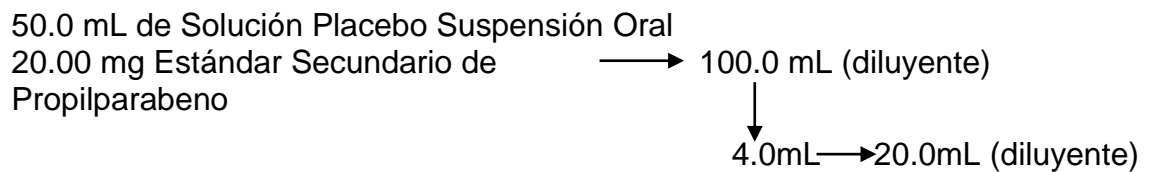
EXACTITUD PROPILPARABENO

80%



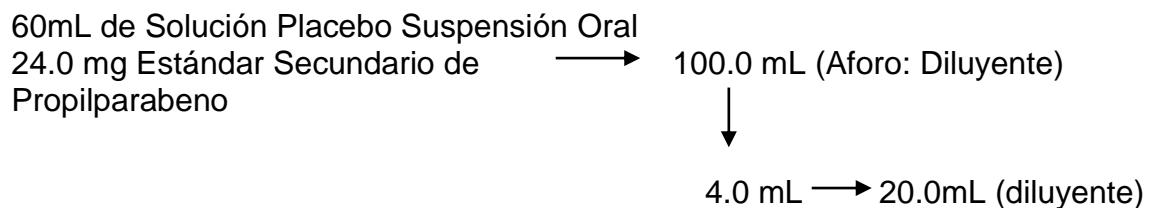
Concentración final: 32.00µg/mL de Propilparabeno

100%



Concentración final: 40.00µg/mL de Propilparabeno

120%



Concentración final: 48.00µg/mL de Propilparabeno

ESTABILIDAD, PRECISION Y PRECISION INTERMEDIA PROPILPARABENO

20.0 mg de Propilparabeno \longrightarrow 50.0 mL (Aforo: Diluyente)



2.0 mL \longrightarrow 20.0 mL (diluyente)

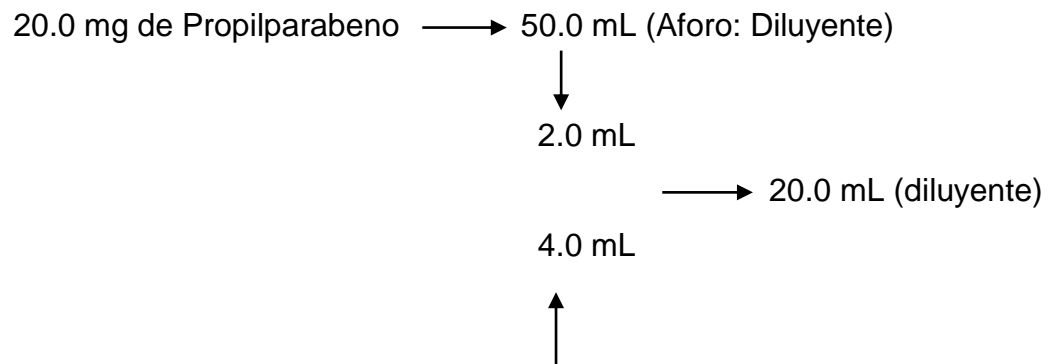
Concentración final: 40.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de Propilparabeno

Alícuota de 5.0 mL Suspensión Oral \longrightarrow 50.0mL (diluyente)
(Equivalente a 2.0mg de Propilparabeno)

Concentración final: 40.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de Propilparabeno

ANEXO N° 14
ESQUEMA GENERAL PARA ANÁLISIS DE PRODUCTOS SELECCIONADOS.

Preparación de Estándar:



15.0 mg de Metilparabeno → 50.0 mL (diluyente)

Concentración final: 40.00 $\mu\text{g/mL}$ de Propilparabeno 60.00 $\mu\text{g/mL}$ de Metilparabeno

Preparación de Muestra (Solución y Suspensión):

Alícuota de 5.0 mL → 50.0 mL (diluyente)

Concentración final: A determinar

ANEXO N° 15
CROMATOGRAMAS

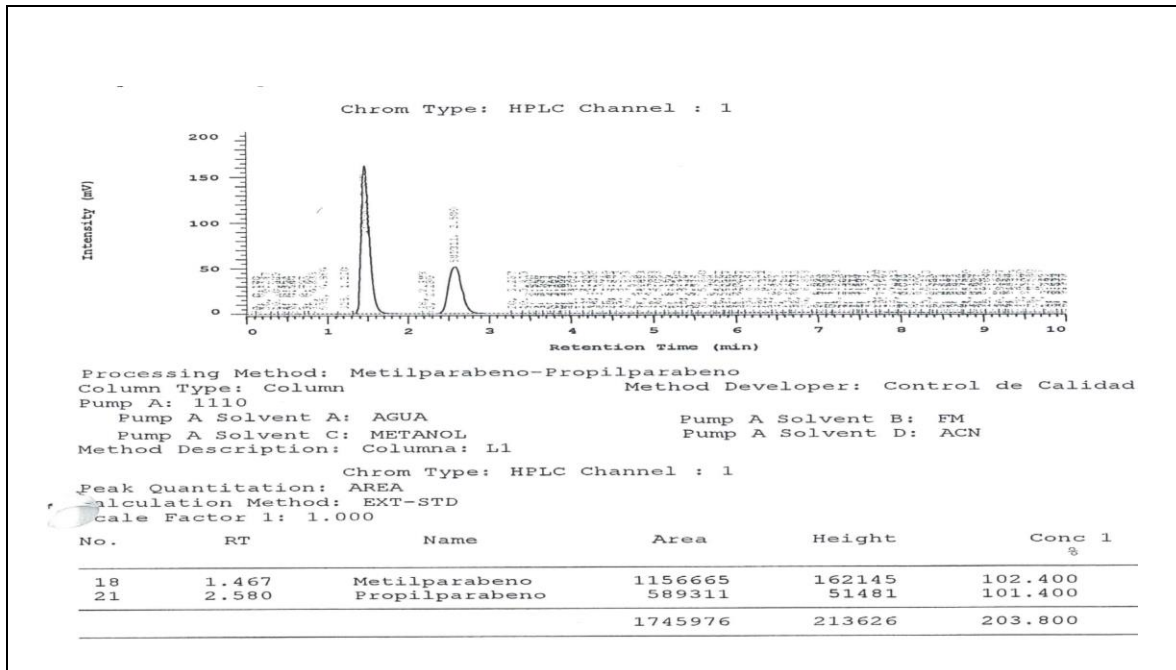


Figura N° 18. Cromatograma de Estándar Metilparabeno-Propilparabeno

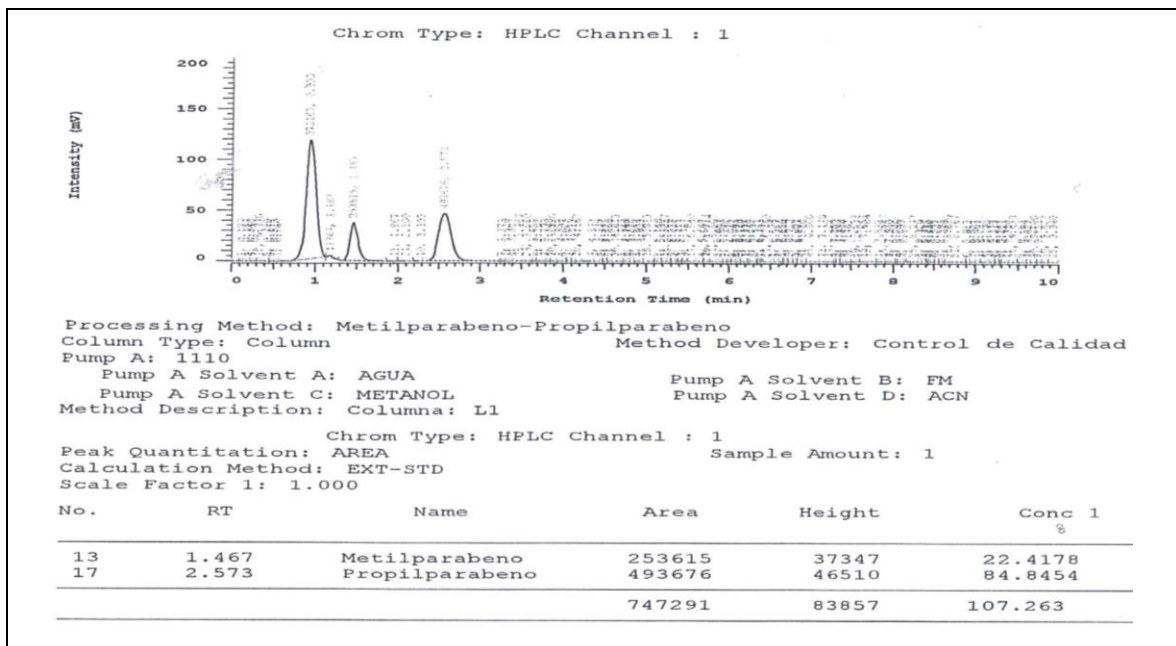


Figura N° 19. Cromatograma de Muestra en la forma farmacéutica Solución

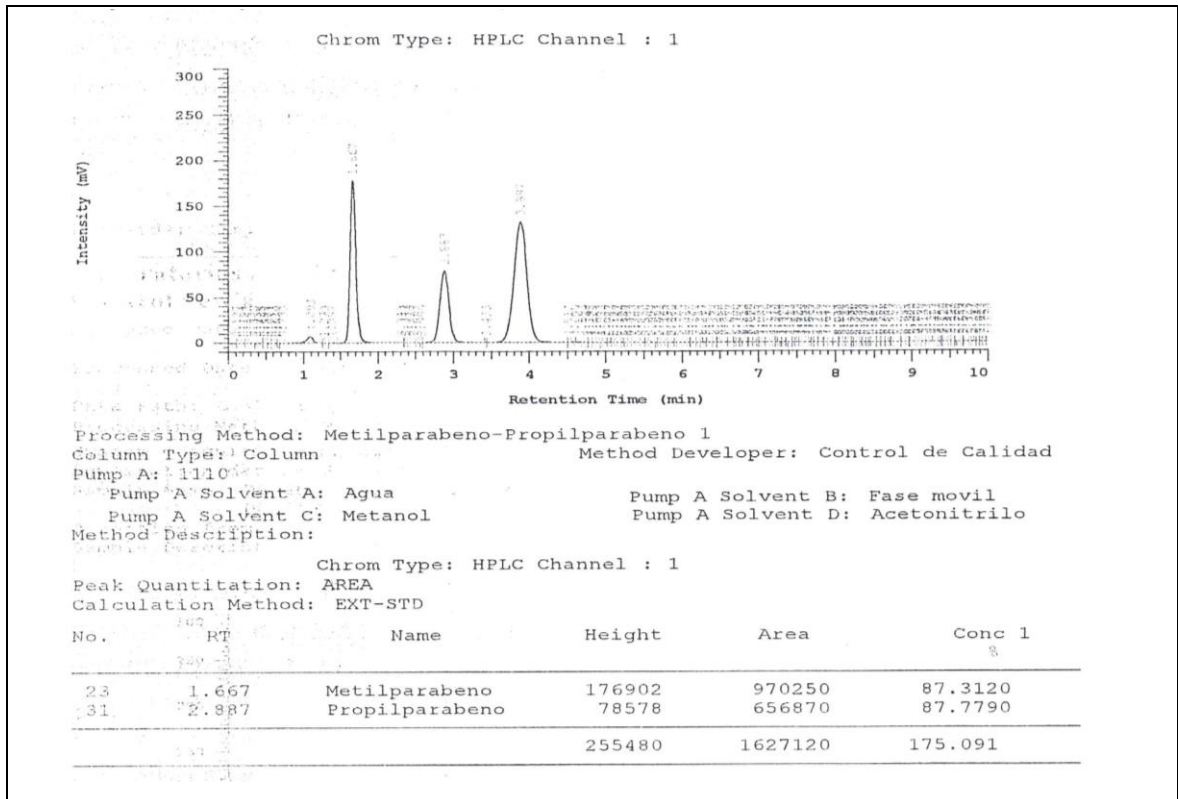


Figura N° 20. Cromatograma de Muestra en la forma farmacéutica Suspensión.

ANEXO N° 16
CERTIFICADOS DE VALIDACION

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno		
CONCENTRACION	N/A		
FORMA FARMACÉUTICA	N/A		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Metilparabeno $C_8H_8O_3$			
Peso molecular: 152.15 g/ mol			
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
ADECUABILIDAD DEL SISTEMA			
Parámetro	Criterio de Aceptación	Resultado	
Coefficiente de Variación (CV%)	No más de 0.85% en 6 inyecciones.	0.59%	
CONDICIONES DE CROMATOGRÁFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5µm)		
Pre-Columna:	N/A		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 µL		
Tiempo de retención:	1.41 minutos±10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol ACs: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	30.00 µg/mL de Metilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	1.00	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta (y = bx+a)	y =26007x + 4492	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente IC(b)	26169; 25845	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0 -102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.5	< 2.0%	
Intervalo de Confianza del intercepto IC(a)	0.778; - 0.233	Debe incluir cero	
PRECISIÓN (REPETIBILIDAD, Y PRECISIÓN INTERMEDIA)			
Coeficiente de variación Repetibilidad	0.6	≤ 2.0 %	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	0.8	≤ 4.0 %	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno	
CONCENTRACION	N/A	
FORMA FARMACÉUTICA	N/A	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Metilparabeno $C_8H_8O_3$		
Peso molecular: 152.15 g/ mol		
Técnica: Cromatografía Liquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
OBSERVACIONES: La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.		
<p>DICTAMEN:</p> <p>CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.</p>		
<p>ELABORADO POR:</p> <p>ANALISTA 1 _____ FIRMA _____ FECHA _____</p> <p>ANALISTA 2 _____ FIRMA _____ FECHA _____</p> <p>REVISADO POR: COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS</p> <p>NOMBRE _____ FIRMA _____ FECHA _____</p> <p>AUTORIZADO POR: JEFE DE CONTROL DE CALIDAD</p> <p>NOMBRE _____ FIRMA _____ FECHA _____</p> <p style="text-align: center;">SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD</p>		

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno		
CONCENTRACION	N/A		
FORMA FARMACÉUTICA	N/A		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Propilparabeno C ₁₀ H ₁₂ NO ₃			
Peso molecular: 180.20 g/ mol			
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
ADECUABILIDAD DEL SISTEMA			
Parámetro	Criterio de Aceptación	Resultado	
Coefficiente de Variación (CV%)	No más de 0.85% en 6 inyecciones.	0.76%	
CONDICIONES DE CROMATOGRÁFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5µm)		
Pre-Columna:	N/A		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 µL		
Tiempo de retención:	2.5 minutos±10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol ACS: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	30.00 µg/mL de Metilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	1.00	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta (y = bx+a)	y =22625x + 1675	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente IC(b)	22813; 22436	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0 -102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.3	< 2.0%	
Intervalo de Confianza del intercepto IC(a)	0.349 ; - 0.341	Debe incluir cero	
PRECISIÓN (REPETIBILIDAD, Y PRECISIÓN INTERMEDIA)			
Coeficiente de variación Repetibilidad	1.1	≤ 2.0 %	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	0.9	≤ 4.0 %	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno	
CONCENTRACION	N/A	
FORMA FARMACÉUTICA	N/A	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Propilparabeno $C_{10}H_{12}NO_3$		
Peso molecular: 180.20 g/ mol		
Técnica: Cromatografía Liquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
OBSERVACIONES: La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.		
DICTAMEN: CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.		
 ELABORADO POR:		
ANALISTA 1 _____	FIRMA _____	SELLO _____
ANALISTA 2 _____	FIRMA _____	SELLO _____
 REVISADO POR: COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
 AUTORIZADO POR: JEFE DE CONTROL DE CALIDAD		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
 SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD		

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno		
CONCENTRACION	3.25mg/5mL		
FORMA FARMACÉUTICA	Líquidos		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Metilparabeno $C_8H_8O_3$			
Peso molecular: 152.15 g/ mol			
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
CONDICIONES DE CROMATOGRÁFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5 μ m)		
Pre-Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 4.0 mm) * (5 μ m)		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 μ L		
Tiempo de retención:	1.4 minutos \pm 10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol ACs: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	65.00 μ g/mL de Metilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	1.000	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r^2)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta ($y = bx+a$)	$y = 21683x + 25114$	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente $IC(b)$	25351.95 ; 24875.36	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r^2)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0 -102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.9	$< 2.0\%$	
Intervalo de Confianza del intercepto $IC(a)$	2.86 ; -2.88	Debe incluir cero	
Coeficiente de variación Repetibilidad	1.9	$\leq 2.0\%$	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	1.3	$\leq 4.0\%$	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno	
CONCENTRACION	3.25mg/5mL	
FORMA FARMACÉUTICA	Líquidos	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Metilparabeno $C_8H_8O_3$		
Peso molecular: 152.15 g/ mol		
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA		
Diferencia absoluta de media aritmética de la condición de almacenaje idii	0.3	$\leq 2.0 \%$
OBSERVACIONES: La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.		
DICTAMEN: CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.		
ELABORADO POR:		
ANALISTA 1 _____	FIRMA _____	SELLO _____
ANALISTA 2 _____	FIRMA _____	SELLO _____
REVISADO POR: COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
AUTORIZADO POR: JEFE DE CONTROL DE CALIDAD		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD		

LOGO	CERTIFICADO VALIDACION DE METODO ANALITICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno		
CONCENTRACION	2.15mg/5mL		
FORMA FARMACÉUTICA	Liquido		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Propilparabeno C ₁₀ H ₁₂ O ₃			
Peso molecular: 180.20 g/ mol			
Técnica: Cromatografía Liquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
CONDICIONES DE CROMATOGRAFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5µm)		
Pre-Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 4.0 mm) * (5µm)		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 µL		
Tiempo de retención:	2.5 minutos±10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol ACs: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	43.00 µg/mL de Propilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	1.000	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta (y = bx+a)	y =22833x + 34119	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente IC(b)	23053.94 ; 22612.30	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0-102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.8	< 2.0%	
Intervalo de Confianza del intercepto IC(a)	2.18 ; -1.28	Debe incluir cero	
PRECISIÓN (REPETIBILIDAD, Y PRECISIÓN INTERMEDIA)			
Coeficiente de variación Repetibilidad	0.2	≤ 2.0 %	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	0.9	≤ 4.0 %	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACION DE METODO ANALITICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno	
CONCENTRACION	2.15mg/5mL	
FORMA FARMACÉUTICA	Liquido	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Propilparabeno $C_{10}H_{12}O_3$		
Peso molecular: 180.20 g/ mol		
Técnica: Cromatografía Liquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA		
Diferencia absoluta de media aritmética de la condición de almacenaje idii	0.9	≤ 2.0 %
OBSERVACIONES:		
La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.		
<p>DICTAMEN:</p> <p>CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.</p>		
ELABORADO POR:		
ANALISTA 1 _____	FIRMA _____	SELLO _____
ANALISTA 2 _____	FIRMA _____	SELLO _____
REVISADO POR:		
COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
AUTORIZADO POR:		
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD		

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno		
CONCENTRACION	3mg/5mL		
FORMA FARMACÉUTICA	Suspensión		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Metilparabeno C₈H₈O₃			
Peso molecular: 152.15 g/mol			
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
CONDICIONES DE CROMATOGRÁFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5µm)		
Pre-Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 4.0 mm) * (5µm)		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 µL		
Tiempo de retención:	1.5 minutos±10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	60.00 µg/mL de Metilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	0.999	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta (y = bx+a)	y =25936x -364	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente IC(b)	26557.78 ; 25314.76	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0 -102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.6	< 2.0%	
Intervalo de Confianza del intercepto IC(a)	1.47 ; -2.22	Debe incluir cero	
PRECISIÓN (REPETIBILIDAD, Y PRECISIÓN INTERMEDIA)			
Coeficiente de variación Repetibilidad	1.0	≤ 2.0 %	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	3.0	≤ 4.0 %	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Metilparabeno	
CONCENTRACION	3mg/5mL	
FORMA FARMACÉUTICA	Suspensión	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Metilparabeno C8H8O3		
Peso molecular: 152.15 g/mol		
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA		
Diferencia absoluta de media aritmética de la condición de almacenaje idii	6.5	$\leq 2.0 \%$
<p>OBSERVACIONES: Según los resultados obtenidos en la validación, se determinó que las muestras preparadas en Estabilidad de la Muestra Analítica no conservan la concentración del analito, después de un periodo de tiempo de 24 horas (Condición de almacenaje), ya que se obtuvo un porcentaje de diferencia absoluta entre la condición inicial y condición de almacenaje de 6.5%.</p> <p>Por lo tanto, se concluye que las muestras no son estables, después de un periodo de tiempo de 24 horas de ser preparadas, debido a esto, se recomienda especificar en la metodología de análisis que: "Las muestras deben ser analizadas inmediatamente después de ser preparadas, utilizándose como técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC".</p> <p>La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.</p>		
DICTAMEN: CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.		
ELABORADO POR:		
ANALISTA 1 _____	FIRMA _____	SELLO _____
ANALISTA 2 _____	FIRMA _____	SELLO _____
REVISADO POR: COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
AUTORIZADO POR: JEFE DE CONTROL DE CALIDAD		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD		

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO		1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno		
CONCENTRACION	2mg/5mL		
FORMA FARMACÉUTICA	Suspensión		
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO			
Formula molecular: Propilparabeno C ₁₀ H ₁₂ O ₃			
Peso molecular: 180.20 g/ mol			
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC			
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado			
CONDICIONES DE CROMATOGRÁFICAS			
Equipo:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia		
Detector:	Ultravioleta		
Longitud de onda:	272 nm		
Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 125.0 mm) * (5µm)		
Pre-Columna:	Empaque L1 (RP-18) (4.0 mm x 4.0 mm) * (5µm)		
Temperatura:	30°C		
Flujo fase móvil:	1.3 mL/ min		
Volumen a inyectar:	10 µL		
Tiempo de retención:	2.6 minutos±10.0%		
Fase Móvil:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Diluyente:	Metanol HPLC: Buffer (Fosfato de Diácido de Potasio) (650:350)		
Concentración final:	40.00 µg/mL de Propilparabeno		
PARAMETROS A EVALUAR	RESULTADO	CRITERIOS	
ESPECIFICIDAD	Conforme	Respuesta del método únicamente debida al analito	
LINEALIDAD DEL SISTEMA			
Coeficiente de correlación r	1.000	≥ 0.995	
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
Ecuación de la recta (y = bx+a)	y =22621x -6788	Debe corresponder	
Intervalo de Confianza de la Pendiente IC(b)	22837.99 ; 22403.37	No debe incluir cero	
LINEALIDAD DEL METODO			
Coeficiente de determinación (r ²)	1.00	≥ 0.98	
% de Recuperación en cada punto	Corresponde	(98.0 -102.0) %	
Coeficiente de Variación	0.8	< 2.0%	
Intervalo de Confianza del intercepto IC(a)	1.71 ; -1.79	Debe incluir cero	
PRECISIÓN (REPETIBILIDAD, Y PRECISIÓN INTERMEDIA)			
Coeficiente de variación Repetibilidad	0.4	≤ 2.0 %	
Coeficiente de variación de Precisión Intermedia	0.9	≤ 4.0 %	

LOGO	CERTIFICADO VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO	1 de 2
NOMBRE DEL PRESERVANTE	Propilparabeno	
CONCENTRACION	2mg/5mL	
FORMA FARMACÉUTICA	Suspensión	
DESCRIPCION DEL MÉTODO ANALÍTICO		
Formula molecular: Propilparabeno $C_{10}H_{12}O_3$		
Peso molecular: 180.20 g/ mol		
Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC		
Referencia bibliográfica: USP 40, NF 35- Método Adaptado		
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA		
Diferencia absoluta de media aritmética de la condición de almacenaje idi	0.9	≤ 2.0 %
OBSERVACIONES: La validación del método analítico está conforme con los parámetros evaluados.		
DICTAMEN: CONFORME CON TODOS LOS PARAMETROS EVALUADOS.		
ELABORADO POR:		
ANALISTA 1 _____	FIRMA _____	SELLO _____
ANALISTA 2 _____	FIRMA _____	SELLO _____
REVISADO POR: COORDINADOR DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
AUTORIZADO POR: JEFE DE CONTROL DE CALIDAD		
NOMBRE _____	FIRMA _____	SELLO _____
SELLO APROBADO DE CONTROL DE CALIDAD		

ANEXO N°17
FOTOGRAFÍAS DEL DESARROLLO DE LA PARTE EXPERIMENTAL



Figura N° 21. Fotografías del desarrollo de la parte experimental.