

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DEL
METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE
FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR
ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
ELENA MARCELA MEJIA RIVERA
ANA VERONICA RIVAS GUARDADO**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

OCTUBRE 2008

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTÍNEZ DÍAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS

FARMACEUTICOS, COSMETICOS, Y VETERINARIOS.

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: TOXICOLOGIA Y QUIMICA

LEGAL.

Licda. María Luisa Ortiz de López

DOCENTES DIRECTORES

Licda. Guadalupe del Carmen Abrego Escobar.

MSc. Rocio Ruano de Sandoval.

DEDICATORIAS.

A DIOS que nos permitió culminar este proyecto importante que a cada paso en nuestro recorrido por la universidad estuvo presente enviándonos siempre ángeles y bendiciones para poder llegar hasta donde estamos; para cada una de nosotras es un nuevo comienzo hacia un mundo lleno de oportunidades el cual estamos preparadas para enfrentar los retos que se presente porque contamos y creemos en El, así como también nosotras creemos en nuestro potencial porque lo LOGRAMOS!!!!

A nuestras familias que nos proporcionaron siempre apoyo, cariño, comprensión, y el soporte económico que necesitamos es esos momentos.

a mi papá(Vero) que me inicio en el camino y confió en mi, a él porque esperaba verme terminar pero las circunstancias me llevaron a continuar aun sin su presencia y con todo el esfuerzo de mi mama y mi familia que a pesar de las adversidades de ese momento me permitieron seguir como si todo fuera igual a mi padre el ser que ame y que ya no está gracias papa para ti mi triunfo.

A mi mamá (Marce) que gracias a su esfuerzo estoy aquí terminando este paso tan importante en la vida gracias por todo esto va por usted por ser el motor que me impulsaba para seguir y terminar, también se la dedico a mi papi, mami, y mis hermanos que sin ustedes no hubiese llegado hasta donde estoy gracias.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios todo poderoso y a San Judas Tadeo que por su intercesión estoy aquí agradeciendo por culminar esta etapa de la vida llena de alegrías y tristezas las cuales ayudaron a formar a la profesional en la cual me estoy convirtiendo.

Agradecimientos muy especiales a mi Mamá Irma Elena, Papi Pedro Antonio, Abuelita Irma Lidia, Hermanos María Haydee, Pedro Antoni y Tío José Antonio los cuales se que se sienten muy orgullosos de mi triunfo, que sin el apoyo y la confianza de ellos no me sintiera tan feliz GRACIAS LOS AMO!!

A todos mis amigos que siempre estuvieron allí para dar el apoyo, el cariño respectivo: Jaquelin, Vero, Veritin, Imel, Willy, Menche, Alexander, y a todos los demás que colaboraron en mi formación y en la elaboración de este trabajo GARCIAS POR CONTAR CON USTEDES.

A mis asesoras por el tiempo que nos dedicaron muchas gracias.

Marcela Mejía.

AGRADECIMIENTOS.

Para la realización de esta tesis ha sido necesaria la colaboración de mucha, bueno, muchísima gente, a todos ellos MUCHAS GRACIAS.

Si tuviera que empezar por alguien sería por Dios, por permitirme llegar hasta el final, a mi familia empezando por mi madre que aun sin la presencia de mi padre lucho junto a mí para obtener este triunfo a mis hermanas que con sus consejos, regaños ponía mis pies sobre la tierra y me animaban a continuar a pesar de los malos ratos, a mis amigos que siempre me apoyaron con palabras de soporte y me alentaban a continuar gracias por estar allí Jacki, Imel, Silvita, Anabella, Marce, Tania, Con y muchas otras personas que tal vez en este momento haya olvidado sus nombre pero que estuvieron presentes en todo el proceso y que de alguna forma contribuyeron al trabajo con cosas sencillas pero de gran importancia para poder finalizar y para terminar a mis asesores de área y docentes directores por tomarse el tiempo para revisar las continuas veces que les entregamos las correcciones a todos ellos gracias!!!.

Verónica Rivas.

INDICE

	Pag.
Resumen	
Capitulo I. Introducción	XVII
II. Objetivos	19
2.1 Objetivo General	19
2.2 Objetivo Especifico	19
III. Marco Teórico	21
3.1 Validación de métodos farmacopeicos	21
3.2 Furosemida	57
3.3 Espectrofotometría ultravioleta visible	70
IV. Diseño Metodológico	72
V. Resultados e Interpretación de Resultados	89
VI. Discusión de Resultados	164
VII. Conclusiones	167
VIII. Recomendaciones	170
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Traducción de la monografía Furosemida Tabletas según USP XXI.
- 2 Listado de Reactivos.
- 3 Listado de equipo y cristalería
- 4 Preparación de Reactivos Hidróxido de Sodio 0.1N y 0.02N.
- 5 Tabla Estadística de la distribución t de Student
- 6 Figura N° 1 Grafica de Linealidad y Rango
- 7 Certificados de Calibración del Espectrofotómetro N° 1 (Shimadzu uv-1700).
- 8 Certificados de Calibración del Espectrofotómetro N° 2 (Lambda 2).
- 9 Certificado de Calibración de balanza Analítica.
- 10 Certificado de Análisis de la Materia Prima Furosemida.
- 11 Certificado de Análisis del Estándar de Furosemida.
- 12 Figura N° 2 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Repetibilidad.
- 13 Figura N° 3 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad del analista N° 1.
- 14 Figura N° 4 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad del analista N° 2.

- 15 Figura N°5 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 80%.
- 16 Figura N° 6 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 90%.
- 17 Figura N° 7 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 100%.
- 18 Figura N° 8 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 110%.
- 19 Figura N° 9 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 120%.
- 20 Figura N°10 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Exactitud al 100%.
- 21 Figura N° 11 Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Exactitud al 120%.
- 22 Tabla Military Estándar.
- 23 Tabla para encontrar letra clave para el tamaño de la Muestra.
- 24 Control de existencia de medicamentos.

INDICE DE CUADROS.

Cuadro N°		Pág.
1	Parámetros de desempeño a evaluar y condiciones de trabajo.	88
2	Resultados de la cuantificación de Furosemida presentes en las tabletas para la Repetibilidad.	95
3	Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Reproducibilidad.	102
4	Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Linealidad y Rango.	126
5	Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Exactitud.	138
6	Resultados de los gramos de Furosemida en peso de muestra de 0.2055 g más la carga de 0.0080g en la muestra para la Exactitud	139
7	Resultados del porcentaje de recobro de las muestras cargadas con materia prima de Furosemida para la Exactitud	142

INDICE DE FIGURAS.

Figura N°		Pág.
1.	Fases de la validación	32

INDICE DE TABLAS.

Tabla N°		Pag.
1	Tabla de datos requeridos para la validación de los análisis	56

ABREVIATURAS.

CV	coeficiente de variación o desviación estándar relativa
g	Gramos
GI	Grados de Libertad
IC (β_1)	Intervalo de confianza para la pendiente poblacional
IC (μ)	Intervalo de confianza para la media poblacional.
mg	Miligramos
mL	Mililitros
n	Numero de mediciones o recobros o blancos o muestras.
NF	National Formulary.
p.a	Principio activo
r²	Coeficiente de determinación.
S	desviación estándar
Sb₁	Desviación estándar de la pendiente.
S_{y/x}:	Desviación estándar de regresión.
t_{0.975}	Valor de la distribución t de Student, asociado a una confianza del 95% y a n grados de libertad (gl) establecidos.
Σ	Término estadístico que indica sumatoria.
%	Porcentaje o por ciento.

Resumen

En el presente trabajo se describe el proceso de determinación de los Parámetros de Desempeño: Linealidad, Precisión y Exactitud (con el procesamiento estadístico de los resultados experimentales y criterios de aceptación), incluyendo los requisitos exigidos de acuerdo a la USP 29, así como la presentación de los resultados del informe final de la Validación para la cuantificación de Furosemida tabletas de 40 mg. Además se presenta un resumen de las consideraciones generales para la presentación y redacción del Protocolo de Validación del método analítico utilizado en dicha cuantificación.

Tomando en cuenta que éste es uno de los medicamentos más utilizado a nivel hospitalario del país en pacientes con retención de líquidos asociada a insuficiencias cardiacas crónicas y agudas, insuficiencia renal síndrome nefrótico, entre otros, ya que en estudios clínicos han demostrado que tiene un amplio rango de seguridad, mayor que otros diuréticos.

El objetivo principal fue determinar los parámetros de desempeño del método analítico para la cuantificación de Furosemida tabletas de 40 mg por espectrofotometría ultravioleta; para este trabajo se utilizó el método de

análisis según la USP XXI para cuantificar Furosemida en tabletas de 40 mg. Se han indicado los reactivos y equipos empleados, la preparación de los diferentes estándares de referencia, el procedimiento de preparación de las muestras para las diversas concentraciones y las condiciones de análisis ensayadas para los diferentes parámetros analíticos. La parte práctica fue realizada en un Laboratorio Farmacéutico Nacional en el área de Control de Calidad en el periodo de tiempo de dos meses. Al finalizar esta investigación se puede decir que el método analítico estudiado, fue Preciso (coeficientes de variación menor que 3%), Lineal (coeficiente de determinación mayor que 0,98) en el rango de concentraciones seleccionado. La recuperación fue menor del 100% (77.55%) en la Exactitud.

Se puede concluir que se desarrollo la determinación de parámetros de desempeño de un método analítico de Furosemida tabletas de 40 mg, encontrándose que los parámetros de Validación como Linealidad y Precisión están dentro de las especificaciones y atributos de calidad establecidos; sin embargo el parámetro de la Exactitud no cumplió con las especificaciones establecidas, por lo que se recomienda realizar de nuevo los análisis de este parámetro y completar la validación con los parámetros restantes según la Categoría de Análisis I, tales como: Especificidad e Intervalo, para asegurar la confiabilidad del método analítico.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficientemente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos.

La validación proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico y se realiza con carácter obligatorio cuando se desarrolla un método analítico, ya que permite asegurar que el método propuesto dará resultados confiables para el fin propuesto.

Es necesario señalar que los métodos descritos en farmacopeas u otros textos oficiales se consideran validados. Estos no precisan de validación pero si de la adecuación del sistema, evaluándose la precisión y exactitud que deben ser comprobados antes de su utilización rutinaria con la verificación de la idoneidad en las condiciones de laboratorio, bajo los parámetros que indica la farmacopea. Sin embargo, para el caso de las formas farmacéuticas terminadas, que pueden variar su composición cualitativa o cuantitativa según el fabricante, habrá que proceder en cada caso a la validación del método analítico y evaluar los parámetros correspondientes.

Una vez que se ha desarrollado un método analítico, es conveniente validarlo. La validación del método establece que sus características (Virtudes,

parámetros de desempeño), son adecuados para el uso que se pretende. La validación se realizará llevando a cabo una serie de experimentos en los que se emplean condiciones específicas del método y el mismo tipo de matriz que se espera en las muestras. Ello implica la evaluación de un número de parámetros tales como, selectividad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), relación respuesta detector-concentración, sensibilidad, límites de detección y robustez que son los que manda la Farmacopea para métodos oficiales. El presente trabajo tiene como objetivo la determinación de parámetros de desempeño del método espectrofotométrico ultravioleta para el ensayo de Furosemida tabletas de 40mg según USP XXI, medicamento diurético muy eficaz; en el cual se evaluará la linealidad, exactitud y precisión del método analítico.

Furosemida tabletas de 40mg según USP XXI, medicamento diurético muy eficaz; en el cual se evaluará la linealidad, exactitud y precisión del método analítico.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar los parámetros de desempeño del método analítico para la cuantificación de Furosemida tabletas de 40 mg por espectrofotometría ultravioleta.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- 2.2.1. Aplicar los parámetros de desempeño que se emplean en la validación para un método de cuantificación de un producto terminado farmacopeico.
- 2.2.2 Comprobar que el método de análisis Furosemida Tabletas según USP XXI es adecuado para la cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg a través de los parámetros Linealidad, Exactitud y precisión del método.
- 2.2.3 Elaborar el protocolo para la determinación de los parámetros de desempeño Linealidad, Exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) para cuantificar el contenido de Furosemida tabletas de 40 mg por el método de espectrofotometría ultravioleta.
- 2.2.4. Elaborar el informe técnico y certificado de la validación para la determinación de los parámetros de desempeño antes mencionados.

CAPITULO III
MARCO TEORICO.

3.0 MARCO TEORICO.

3.1 Validación de métodos farmacopeicos. ⁽⁷⁾

Los procedimientos para la evaluación de los niveles de calidad de productos farmacéuticos están sujetos a diversos requisitos. Según el artículo 501 de la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, los análisis y especificaciones de las monografías de la farmacopea de los Estados Unidos y el Formulario Nacional constituyen normas legales.

Los reglamentos sobre principios de Buenas Prácticas de Manufactura Vigentes [21CFR211.194(a)] requiere que estos métodos de prueba, los cuales son usados para evaluar el cumplimiento productos farmacéuticos conforme a especificaciones establecidas cumplan normas adecuadas de exactitud y confiabilidad; sin embargo de acuerdo a esta regulación [21CFR211.194(a) (2)] no se exige que los usuarios de métodos analíticos descritos en la USP y el NF validen la exactitud y confiabilidad de estos métodos, simplemente verifican su adecuada condición actual de uso. Reconociendo la condición legal de los estándares de la USP y el NF, es esencial, que propuestas para la adopción de un nuevo o revisado método analítico farmacopeicos estén respaldados por suficientes datos de laboratorio para documentar su validez.

Presentación a los compendios. ⁽⁷⁾ Las Presentaciones de métodos analíticos para nuevos o revisados métodos a los compendios de la USP deben de

contener suficiente información para permitir a los miembros del comité de revisión de la USP evaluar los meritos relativos de los procedimientos propuestos. En muchos casos las evaluaciones involucran si la descripción del método analítico es entendible y completa, se determina la necesidad de los métodos, y la documentación que ha sido apropiadamente validada. La información puede variar dependiendo el tipo de método involucrado. Sin embargo en muchos casos la documentación presentada consistirá de las siguientes partes.

Justificación: Esta sección debe identificar la necesidad del método y describir la capacidad de la especificación del método propuesto y porque es preferido sobre otros tipos de determinaciones. Para procedimientos revisados debe proporcionar una comparación de limitaciones del actual método farmacopeico y ventajas ofrecidas por el método propuesto.

Procedimiento Analítico Propuesto: Esta sección contiene una descripción completa del método analítico suficientemente detallada para permitir a personas expertas reproducirlo. Lo escrito anteriormente debe incluir todos los parámetros operacionales importantes e instrucciones específicas tal como la preparación de reactivos, ejecución de sistemas apropiados de prueba, descripción de blancos usados, precauciones, y fórmulas explícitas para los cálculos de los resultados.

Datos Elementales: Esta sección debe proveer una exhaustiva y completa validación del método analítico, incluye un resumen de datos y cálculos experimentales confirmando cada ejecución analítica aplicable.

Validación.

Validación ⁽¹⁵⁾:

Confirmación que se da por la recopilación y análisis de la evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico propuesto.

Validación de un procedimiento analítico ⁽¹⁴⁾:

Procedimiento para establecer por medio de estudios laboratorio, una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

Tipos de validación. ^(1, 15)

Validación Retrospectiva: Solo puede ser utilizada en métodos analíticos que hayan sido usados durante bastante tiempo en el análisis de muchos lotes de un producto, ya que se basa en la historia de los análisis realizados, se puede

aplicar a métodos no validados previamente y de los que se tiene una amplia historia suele efectuarse en laboratorios de control.

Validación prospectiva: La validación prospectiva es el caso más frecuente de la validación de métodos de análisis y debe realizarse cada vez que se adopten métodos analíticos nuevos o se hagan revisiones importantes a los ya existentes. Se aplica cuando se desarrolla un nuevo método analítico. Es típico de laboratorios de investigación y desarrollo y se hace de acuerdo a un protocolo perfectamente planificado, comprende el estudio de todos los criterios necesarios para demostrar el buen funcionamiento del método.

Revalidación: Repetición parcial o total de una validación previamente realizada debido a cambios efectuados que puedan afectar a la bondad del método validado. Se aplica cuando un método analítico previamente validado se ha introducido un cambio significativo. Los criterios a estudiar se deciden en función del tipo de los cambios efectuados.

Validación Concurrente: es el estudio que se lleva a cabo para demostrar y establecer una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto basado en resultados obtenidos paralelamente durante la distribución del producto que involucra al proceso en cuestión.

Validación de Transferencia: Es la validación que se da cuando un laboratorio valida el método y quiere pasar su método de análisis a otro laboratorio.

Necesidad de validar. ⁽¹⁾

A menudo cuando se plantea realizar la validación de un método analítico, se piensa en los problemas de tiempo y material que supone realizar su estudio detallado olvidando las ventajas que representa.

Considerando el laboratorio analítico como un eslabón de la cadena productiva la validación es necesaria porque:

- Proporciona un alto grado de confianza y seguridad en el método analítico y en la calidad de los resultados.
- Permite un conocimiento profundo de sus características de funcionamiento.

Este conocimiento y seguridad en el método analítico que ha sido validado se traduce en:

- Disminución del número de fallos y repeticiones en el consiguiente ahorro de los costos asociados.
- Cumplimiento de los plazos previstos de análisis.
- Optimización del método, por ejemplo, mejorando las características de practicabilidad y posibilidades de automatización.

Por otra parte, los métodos analíticos deben validarse para cumplir con las exigencias legales.

Normas de Buenas Prácticas de Manufactura. (1)

Estas indican que deben establecerse y documentarse la exactitud, sensibilidad, especificidad, y reproducibilidad de los métodos analíticos utilizados.

Farmacopeas.

Los métodos descritos en monografías de farmacopeas u otros textos oficiales se consideran validados. Hay que aclarar que ello se refiere solamente a métodos generales y a materia primas.

En cuanto a medicamentos acabados, puesto que los excipientes serán diferentes para cada fabricante, habrá que proceder en cada caso a la validación del método analítico.

Organización.

Para validar un método analítico se requiere, en primer lugar, un entorno de trabajo que garantice la seguridad de los resultados que se obtengan.

La garantía de la calidad de los resultados obtenidos en un laboratorio analítico requiere actuar mediante procedimientos correctos, previamente establecidos como normas correctas de laboratorios analíticos, estas normas incluyen, entre otros, los aspectos siguientes:

- Buena organización funcional.
- Personal suficientemente adiestrado.
- Instalaciones adecuadas y suficientes.
- Métodos escritos, disponibles, actualizados y aprobados.
- Equipos y aparatos apropiados, cualificados y en buen estado de funcionamiento.
- Procedimientos apropiados para la toma de muestra. Utilización de reactivos apropiados y soluciones valoradas idóneas. Utilización de material auxiliar apropiado y en perfectas condiciones para su uso. Utilización de patrones y muestras de referencia correctos.
- Verificación-supervisión de los resultados obtenidos y que los registros de los análisis efectuados sean auditables.
- Adecuada información y comunicación de los resultados obtenidos.
- Higiene y seguridad.
- Auto inspección.

Equipos. ⁽¹⁾El laboratorio de control debe estar totalmente equipado para realizar las pruebas control de calidad y verificaciones requeridas durante y después de la fabricación.

Un laboratorio de control de calidad o investigación y desarrollo debe disponer de equipos e instrumentos adecuados para los análisis a efectuar, en cantidad

suficientemente, situados convenientemente y en buen estado de funcionamiento.

Para que la validación proporcione un alto grado de confianza en los resultados analíticos obtenidos, es absolutamente esencial que los equipos e instrumentos que se utilicen sean del todo fiables, es decir estén cualificados; en consecuencia, deben crearse las condiciones oportunas para el desarrollo de estas actividades que aunque, aparentemente introducen un trabajo extra en el laboratorio, son económicamente rentables.

Se entiende como calificación al conjunto de actividades destinadas a demostrar que un aparato hace efectivamente lo que tiene que hacer. Se puede distinguir una calificación de instalación y una calificación operacional o de uso.

La calificación de un aparato requiere, que sea instalado correctamente e inspección, limpiado, conservado, comprobado y calibrado periódicamente, según procedimientos escritos.

Estos procedimientos Normalizados de Trabajo describirán con suficiente detalle las instrucciones de funcionamiento de los métodos, materiales y programas a realizar en la inspección, limpieza, mantenimiento, comprobación y calibración del aparato. También se indicara la persona responsable de cada operación. Existirá para cada equipo los siguientes documentos de comprobación.

- Registros de las calibraciones y/o comprobaciones efectuadas.
- Historial de mantenimiento y reparaciones.
- Registro del número de horas de funcionamiento, si procede.

Estos registros deberán archivarse durante un periodo de tiempo no inferior a cinco años.

Los diversos procedimientos normalizados de trabajo, los registros de comprobación y una copia del manual de instrucciones original, deberán estar localizados junto al aparato a disposición del operador. El programa de comprobación y/o calibración de instrumentos y su frecuencia depende de varios factores tales como tipo de aparato, modelo, antigüedad, grado de utilización, fiabilidad requerida etc.

Tratamiento de las muestras.

Sin muestras no hay análisis. Las muestras deben ser representativas y extraídas según procedimientos de muestreo escritos aprobados, que deberán incluir los agrupamientos y tratamientos previos al análisis. Los sistemas de recepción, manipulación, registro y adjudicación de las muestras de un análisis deben estar perfectamente establecidos. La identificación debe ser clara e indeleble con indicación del nombre o descripción, lote, fecha, número de envase al que corresponde.

Verificación de los resultados.

Debe existir un procedimiento establecido para la verificación y supervisión de los resultados obtenidos por el analista sobre la muestra; su registro, el supervisor debe revisar, firmar y fechar estos resultados.

Fases en el desarrollo de un método analítico.

El desarrollo de un método analítico transcurre en tres fases:- Definición de las características y requerimientos que debe satisfacer el método analítico. Precisión exigible, sensibilidad deseable, grado de selectividad, tiempo, costo, tipo de instrumentación necesaria.

- Puesta a punto del método analítico, desde los primeros estudios de tanteo con patrones hasta la utilización del método en muestra reales, pasando por la definición de los parámetros de idoneidad que garanticen el buen funcionamiento del sistema en el método de análisis.

- Validación del método analítico. Esta tercera etapa permitirá conocer la fiabilidad del método para su aplicación rutinaria y en combinación con las etapas anteriores, sus características de funcionamiento con consecuencias positivas para su rendimiento

Documentación de la validación.

La documentación es una parte esencial de la validación ya que interviene en todo el proceso. El siguiente esquema resume las fases que consta una validación.

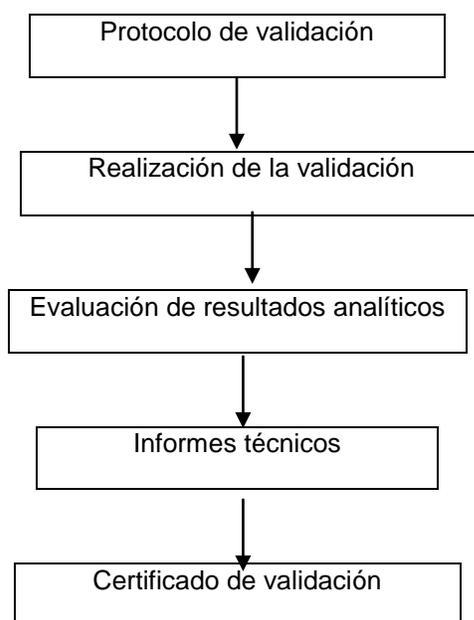


Figura N° 1. (1) Fases de la validación.

Pasos para redactar el protocolo de validación. El primer paso es redactar el “protocolo de validación” que consiste en un plan experimental diseñado para que, cuando se ejecute, sea una prueba evidencial de que el sistema ha sido validado.

En el protocolo se ha de incluir una definición del sistema a validar e identificar los parámetros a validar, así como sus criterios de aceptación. Debe ser específico para cada producto el método y debe ir firmado y fechado por las personas responsables de la validación y de su aprobación.

El esquema de un protocolo de validación incluye los puntos siguientes:

Objetivo: Exposición clara de la finalidad de la validación y propuestas de fechas de inicio y final.

Responsables: Relación de las personas que llevaran a cabo la validación y de las que la aprobaran.

Factores críticos: Es fundamental identificar los factores de mayor influencia sobre las características de funcionamiento del método analítico.

Parámetros a estudiar: Se seleccionan en función de las características de la muestra, tipo de método analítico y rango de concentración del analito.

Muestras: Se realizará de acuerdo a procedimientos escritos del método de preparación.

Aparatos: Se han de identificar los aparatos a utilizar en el proceso de validación y comprobar que estén convenientemente cualificados, incluyendo estos datos en el informe de validación. **Métodos analíticos:** Existirán métodos

escritos provisionalmente describiendo el procedimiento para la determinación de los parámetros a evaluar, con indicación de reactivos, patrones, materiales, técnica y cálculos.

Límite de Aceptación: Se establecerán para cada uno de los parámetros, basándose en las necesidades o finalidad del método y en la información recogida durante la fase de desarrollo del procedimiento analítico.

Realización de la validación y evaluación de los resultados analíticos.

Todos los datos primarios deben ser perfectamente auditables en los diarios de laboratorio.

Una vez realizada la validación, se evaluarán los resultados obtenidos y si difieren de los esperados se añadirá un agregado al protocolo explicando los cambios introducidos respecto al protocolo original y las razones que lo justifican.

Informes técnicos.

Estos deben incluir:

Referencia de la calibración y calificación de los instrumentos utilizados y resultados de la verificación de los parámetros de idoneidad antes de iniciar el estudio de validación.

Métodos escritos definitivos descubriendo el procedimiento para la determinación de cada uno de los parámetros a evaluar.

Resultado de las determinaciones de cada parámetro incluyendo esquemas, copias originales de los espectros, cromatogramas, curvas de calibración etc.

Discusión de los resultados y conclusiones. Se indicara la aceptación o no de la validación del método analítico. También se puede aceptar un método analítico con limitaciones para tipo de muestras concretas.

Certificado de validación.

Por último se entenderá un certificado de validación o documento formal de operación firmado por las personas responsables. Este certificado puede ser independiente, incluyendo un resumen del protocolo de validación y de los resultados obtenidos, o bien anexarse al final del informe.

Archivo

Los documentos se archivarán adecuadamente durante el tiempo de vida del producto.

Características Analíticas de Parámetros de Desempeño usadas en métodos de validación. (7)

Especificidad

Exactitud

Intervalo de Linealidad

Limite de cuantificación

Limite de Detección

Linealidad

Precisión

Robustez

Linealidad. ⁽¹⁾

Dentro de este término se incluye la proporcionalidad entre concentración de analito y respuesta, así como el intervalo o rango de concentraciones del analito para los cuales el método es satisfactorio. La linealidad se relaciona, además, con la sensibilidad de calibrado o cociente diferencial entre la señal medida y la concentración de analito.

Se entiende como linealidad a la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado.

Determinación de la proporcionalidad y de la linealidad

El ensayo de linealidad puede efectuarse tanto para soluciones patrón del analito, como sobre muestras problemas que contengan concentraciones crecientes de analito, efectuándose posteriormente el tratamiento matemático de los resultados obtenidos.

Las fases de este ensayo son las siguientes:

- En primer lugar, conviene cerciorarse de que el intervalo lineal dinámico del sistema instrumental sea más amplio que el intervalo de concentración a estudiar. Para ello puede efectuarse un tanteo previo con unos cuantos patrones que abarquen un rango de concentraciones más amplio que el

– intervalo de concentraciones a establecer.

Si la sensibilidad del sistema instrumental se mantiene constante se puede continuar con el estudio completo de linealidad. Si la sensibilidad es variable, es recomendable efectuar el estudio de linealidad a dos niveles de concentración.

– Preparar una serie de patrones de analito de concentraciones crecientes. El número de soluciones patrón puede estar comprendido entre tres y diez, y el intervalo de concentraciones se selecciona de acuerdo con las cantidades esperadas del analito en la muestra así: Valoración de una materia prima. Analizar de 3-5 soluciones patrón a un intervalo de concentraciones del 80-120% de la teórica.

– Valoración de un principio activo en producto terminado. Analizar de 5-7 soluciones patrón con un intervalo de concentraciones del 50-150% de la teórica.

– Si se supone que la concentración del analito puede variar ampliamente (ensayos de impurezas o productos de descomposición, determinación de un analito en fluidos biológicos, etc.) los patrones deberán abarcar todo el intervalo de concentraciones previsto por Ej. 10-100 ppm para una impureza; 10-200% de la concentración promedio del analito en fluidos biológicos.

– Efectuar el análisis siguiendo exactamente el procedimiento descrito. Cada análisis se efectuara como mínimo por duplicado. En procedimientos cromatográficos se recomienda efectuar las inyecciones por triplicado, a no ser que se utilice un procedimiento con patrón interno. Determinar la curva de

calibración que relaciona respuestas (áreas, alturas, absorbancias, etc.) con concentración o cantidad de analito. Generalmente se haya la recta de regresión por el método de ajuste de los “mínimos cuadrados”. En algunos casos se necesita alguna transformación matemática previa (logaritmos recíprocos) para obtener funciones de calibrado lineales. La recta de calibración es del tipo $y = b x + a$

Siendo “x” la concentración, “y” la respuesta, “b” el valor de la pendiente y “a” el termino independiente.

Tratamiento estadístico de los datos analíticos, a fin de evaluar la linealidad y la proporcionalidad.

Representación grafica de la recta de regresión.

Se puede efectuar en papel milimetrado o preferiblemente mediante un programa grafico que además realice el trazado de las hipérbolas indicativas de los límites de confianza. Conviene presentar los valores experimentales de “y”.

Una grafica realizada de esta forma da una idea inmediata de la relación entre las dos variables “x”, “y”:

Si la recta no pasa por el origen de coordenadas del método a evaluar esta afectado por un error sistemático (sesgo) por defecto o por exceso.

Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta, significa que la linealidad no es muy buena o que el error

experimental es importante y los límites de confianza serán amplios (hipérbolas anchas). Interpretación estadística de la regresión lineal

La representación anterior suele ser suficiente. Sin embargo, conviene efectuar una interpretación estadística de la regresión.

– Coeficiente de correlación r

Refleja el grado de relación o ligazón entre las variables “ x ”, “ y ”.

Su valor máximo es uno.

El cuadrado del coeficiente de correlación se denomina coeficiente de determinación e indica la proporcionalidad de la varianza total de Y que es explicado por el modelo lineal de regresión.

Test de linealidad

Existen varios procedimientos para verificar la linealidad:

Coeficiente de variación de los factores de respuesta: que es la relación entre la lectura y la concentración, se considera que coeficientes de variación superiores al 5% indican falta de linealidad.

Significación estadística de la varianza de la pendiente.

Análisis de la varianza de la regresión.

- Test de proporcionalidad.

El valor de “ a ” intercepción con el eje de ordenadas u ordenada en el origen, indica el error sistemático del método. En el caso ideal debe ser cero.

Comparación de pendientes y términos independientes. Cuando se dispone de dos rectas de calibración surge la necesidad de demostrar que son

estadísticamente idénticas. Dos rectas de calibración efectuadas con el mismo procedimiento analítico, con series de concentraciones similares no deben diferir significativamente en los valores de “a” y “b”.

– Límites de confianza de un valor de “y” en la recta de regresión para un valor determinado de “x”.

Son los valores medios de “y” en la recta de regresión, estos límites definen dos hipérbolas, los puntos más cercanos al centro del intervalo de “x” son los que tienen límites más estrechos, los puntos situados en ambos extremos del intervalo son los que tienen límites más amplios.

– Sensibilidad de calibrado.

La sensibilidad del calibrado o coeficiente diferencial entre la señal medida y la concentración del analito, es igual al valor de la pendiente de la curva de calibrado a una concentración determinada. En el caso de una calibración lineal, la pendiente “b” de la recta de regresión coincide con la sensibilidad del calibrado y con el factor de respuesta.

La sensibilidad indicara la capacidad de respuesta del método analítico a pequeñas variaciones en la concentración del analítico.

Precisión. (Repetibilidad, Reproducibilidad y Robustez.) ⁽¹⁾Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos analíticos efectuados sobre una muestra homogénea o expresado de otra forma, la distribución de los valores analíticos alrededor de su medida. La precisión indica

el mas-menos o grado de reproducibilidad del método analítico bajo condiciones normales de trabajo, es decir la capacidad del método para dar resultados semejantes cuando se aplica repetidamente a una muestra.

La idea de precisión, en general, viene expresada por la medida para el valor central y la desviación estándar para la dispersión de los resultados.

Un estudio de precisión requiere la repetición del análisis sobre una muestra.

La precisión así obtenida se denomina “del método” propuesto que incluye todo el procedimiento analítico, desde la preparación de la muestra hasta la lectura instrumental. También se puede determinar directamente la precisión del “sistema instrumental” hallando la variabilidad de respuesta de una solución patrón.

Dentro del término precisión del método se pueden distinguir tres tipos de estudios:

Repetibilidad: es la medida de la precisión de un método efectuando en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos, reactivos y en el curso de la misma serie de análisis efectuados generalmente en un corto intervalo de tiempo.

Reproducibilidad: es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes (diferente analista, aparatos, días, etc.). Cuando además los laboratorios son distintos se habla de precisión íter laboratorios.

Robustez: el estudio de robustez evalúa los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico.

Aunque en sentido estricto no pueden considerarse equivalentes, la distinción entre reproducibilidad y robustez no deja de ser sutil y que, al fin y al cabo, la robustez es el grado de reproducibilidad del método analítico sometido deliberadamente a pequeñas variaciones en el modus operandis con objeto de conocer su estabilidad frente a ellas y definir las de mayor influencia sobre la variabilidad de los resultados.

Determinación de precisión (7)

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

Los documentos ICH recomiendan que se evalúe la repetibilidad utilizando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el procedimiento (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas

de cada concentración, o un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de prueba).

Expresión de la precisión de un método analítico ⁽¹⁾

Desviación estándar y coeficiente de varianza.

La precisión se expresa matemáticamente por la desviación estándar o preferiblemente por el coeficiente de variación (desviación estándar relativa). El valor aceptable de precisión de un método depende de la concentración del analito y el número de repeticiones de análisis.

Se establece el coeficiente máximo aceptable de un método analítico en función de los límites de aceptación de los resultados y del número de replicas.

Límite de confianza.

Se puede expresar de diferentes maneras:

De los resultados de diferente manera:

- Medida más-menos de la desviación estándar ($\bar{x} \pm s$)
- Medida más-menos la desviación estándar ($\bar{x} \pm 2 s$)
- Medida más-menos de la desviación estándar multiplicada por la t de Student ($\bar{x} \pm ts$)

Estadísticamente esta es la expresión más correcta ya que tiene en cuenta la distribución de Student cuando el número de replicas es inferior a 30. El valor

de t se halla en las tablas de Student para $n - 1$ grados de libertad y una significación generalmente del 95%. (Ver Anexo N°5)

- Determinación de repetibilidad.

El ensayo de repetibilidad del método se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analizan independientemente desde el principio (preparación de la muestra) hasta el final (lectura de resultados por el mismo analista y el mismo instrumento). El número de repeticiones del analista deberían ser superiores a 5 y la concentración del analito en la muestra problema suele ser similar a la nominal o declarada.

Puede ser necesario utilizar dos concentraciones del analito (alta y baja) o más (alta, media, baja) cada uno con sus replicados.

La proporción del analito en la muestra puede oscilar notablemente (rango amplio), el intervalo lineal dinámico del sistema instrumental es pequeño.

- Determinación de la reproducibilidad.

Un ensayo de reproducibilidad debe estudiar las principales condiciones de variabilidad del método analítico: tiempos (diferentes días), analistas e instrumentos.

La reproducibilidad global se determina por el coeficiente de variación. Si se desea estudiar el efecto de cada uno de los tres factores (día, analistas, instrumentos) por separado; deberá realizarse un análisis de varianza.

En ocasiones se considera suficiente efectuar un ensayo de reproducibilidad teniendo en cuenta únicamente la variable tiempo.

- Determinación de la robustez

El estudio de robustez investiga la influencia de pequeños cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método analítico, localizando factores que originan fluctuaciones menores y los que necesitan una atención especial por cuanto son origen de variaciones significativas.

Para ello se introduce deliberadamente variaciones razonables en las condiciones experimentales y se observa su influencia. Por lo general, no se estudia cada variable una a una, sino que se introducen varios cambios a la vez de forma que se puedan investigar los efectos de cada uno de ellos.

Con un programa cuidadosamente planificado se pueden investigar muchas variables con pocas determinaciones.

Aquellos factores que ejerzan un efecto dominante sobre la variación de los resultados deberán ser objeto de un control riguroso en el método analítico. Para los que se expresa numéricamente (temperatura, pH, flujo, tiempos, etc.) se indicara el rango de trabajo. Las variables cualitativas (calidades de material y reactivos) deberán definirse detalladamente.

Uno de los principales factores a tener en cuenta, que muchas veces justifica por sí solo la realización de un estudio de robustez, es la evaluación de la estabilidad del analito en la solución de media, para la determinar el periodo de tiempo que puede conservarse antes de proceder a su análisis sin comprometer la precisión.

Exactitud ⁽¹⁾

La exactitud indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posibles al valor verdadero. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena, una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada y revela la existencia de errores determinados que deberían corregirse.

No debe confundirse exactitud y precisión. La precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da ninguna indicación de lo cerca que está el valor verdadero. Podemos tener mediciones muy precisas pero poco exactas; sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.

La falta de exactitud puede ser por defecto o por exceso.

- Las desviaciones por exceso suelen producirse cuando existen interferencias analíticas y la selectividad del método no es adecuada: los resultados finales son superiores a los verdaderos. En este caso, debería modificarse el método para hacerlo más selectivo.

- Las desviaciones por defecto suelen darse en métodos analíticos muy laboriosos, con varias fases, extracciones, purificaciones, etc., que se traducen, inevitablemente, en una disminución de la recuperación.

Un estudio de la exactitud permite establecer el porcentaje de recuperación promedio. Si el porcentaje es bajo se puede utilizar unos factores de corrección

en los cálculos finales que compensan las pérdidas del analito de vidas a las manipulaciones previas a la medición final.

Otra alternativa consiste en utilizar un método de patrón interno que se añade a las primeras fases de preparación de la muestra. En este caso la concentración del problema se relaciona con el coeficiente de lectura. (Respuestas, áreas, absorbancias) entre la señal del analito y la señal del patrón interno, por lo que la exactitud del método se ve poco afectada; a lo largo del análisis se puede producir pérdidas del analito y patrón interno pero su relación se mantiene constante.

- Expresión de la exactitud.

Matemáticamente la exactitud se expresa en forma de porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra en la muestra, o bien en forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero.

Estadísticamente suele efectuarse un test de t de student para determinar si el valor mediano hallado y el valor considerado verdadero no difieren significativamente para un grado de probabilidad determinado.

- Determinación de la exactitud.

Análisis repetitivo de una muestra de concentración única conocida. La muestra generalmente será un placebo al que se añade una concentración conocida de analito patrón. Se analiza varias veces ($n=6-10$) y se evalúa la exactitud por uno de los dos procedimientos siguientes.

- Los resultados pueden expresarse en forma de porcentaje respecto al teórico (recuperación) y se efectúa con un test t.

- También se puede comparar los resultados del placebo + analito con los del analito solo a la misma concentración.

Análisis repetitivos de varias muestras de concentraciones diferentes conocidas.

Si la proporción del analito en la muestra varía notablemente (rango amplio) o se requiere de un estudio de exactitud rigurosa, deberá evaluarse este parámetro para diferentes concentraciones del analito.

Un diseño habitual utiliza tres concentraciones (alta, media, baja) dentro del rango de linealidad, que se analiza por triplicado.

Método de adición de patrón

Cuando no se dispone de un placebo de una muestra de concentración conocida, se puede utilizar un método de concentración de adición de patrón, para ello se dispone de una muestra de la que se toma como mínimo dos alícuotas; a una de ellas se le añade una cantidad conocida de analito patrón y posteriormente se analiza ambas en paralelo. La diferencia de resultado de "muestra + patrón" menos "muestra" se compara con el valor añadido (valor verdadero) expresando la exactitud del método. Si la adición del analito patrón se realiza en las fases iniciales del estudio, indicara la recuperación exactitud del método; si la adición se efectúa inmediatamente antes de la medición, solo indicara la exactitud instrumental.

Sensibilidad, Límite de detección, Limite de cuantificación. (1)

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo.

La sensibilidad es la capacidad de un método analítico de registrar ligeras variaciones de la concentración. Debe distinguirse entre sensibilidad de calibrado y sensibilidad analítica. La sensibilidad de calibrado es igual a la pendiente de la recta de calibración, es decir la señal o respuesta por unidad de concentración o cantidad. La sensibilidad analítica es la sensibilidad de calibrado dividida por la desviación estándar de la respuesta.

Dos técnicas pueden tener la misma sensibilidad de calibrado pero sensibilidad analítica será mayor en la más precisa. Mientras que la sensibilidad de calibrado es constante, dentro de un intervalo determinado, la sensibilidad analítica varía con la concentración del analito, puesto que la precisión cambia con la cantidad del analito presente en la muestra. Si la precisión del método se expresa como desviación estándar se observa, generalmente un incremento lineal de esta al aumentar la concentración. Si en cambio, se expresa como coeficiente de variación se observa una disminución no lineal al aumentar la concentración. A concentraciones muy bajas el coeficiente de variación es muy elevado y los resultados son inciertos.

Limite de Detección. (7)

Definición: El límite de detección es una característica de las pruebas de límite. Es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede detectarse, aunque

no necesariamente cuantificarse, en las condiciones experimentales indicadas. Las pruebas de límite simplemente comprueban que la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un nivel determinado. El límite de detección se expresa habitualmente en forma de concentración de analito (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) en la muestra.

Determinación – Para métodos no instrumentales, el límite de detección se determina generalmente mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito, estableciendo el nivel mínimo del analito que puede detectarse confiablemente.

Para procedimientos instrumentales, se puede utilizar el mismo método que para los no instrumentales.

En el caso de métodos presentados como candidatos a métodos farmacopeicos oficiales, casi nunca es necesario determinar el límite de detección real. Por el contrario, debe demostrarse que el límite de detección es lo suficientemente bajo para el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito superiores e inferiores al nivel de detección requerido. Por ejemplo, si se requiere detectar una impureza con una concentración del 0.1% debería demostrarse que el procedimiento detectará de modo confiable la impureza a esa concentración.

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

de analito con las de muestras blancas. Se establece la concentración mínima a la que puede detectarse confiablemente un analito. Las relaciones señal-ruido habitualmente aceptables son de 2:1 ó 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.

Límite de cuantificación. (7)

Definición – El límite de cuantificación es una característica de las valoraciones cuantitativas de compuestos que se encuentran en baja concentración en la matriz de una muestra, como por ejemplo: impurezas en fármacos a granel y productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Es la mínima cantidad de analito en una muestra que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables en las condiciones experimentales indicadas.

El límite de cuantificación se expresa habitualmente en forma de concentración de analito (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) en la muestra.

Determinación.

Para métodos no instrumentales, el límite cuantitativo se determina habitualmente mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito, estableciendo el nivel mínimo del analito que se puede determinar con exactitud y precisión aceptables.

Para procedimientos instrumentales, se puede utilizar el mismo método que para los no instrumentales. En el caso de métodos presentados como candidatos a métodos farmacopeicos oficiales, casi nunca resulta necesario determinar el límite de cuantificación real. Por el contrario, debe mostrarse que el límite de cuantificación es lo suficientemente bajo mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito superiores e inferiores al nivel de cuantificación requerido. Por ejemplo, si se requiere analizar un analito a una concentración de 0,1 mg por tableta, debería demostrarse que el procedimiento cuantificará de modo confiable el analito a esa concentración.

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 la 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 método 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 a este límite.

Especificidad. (7)Habilidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se puede esperar que estén presentes. Típicamente éstos

pueden incluir impurezas, productos de degradación, la matriz, etc. La falta de especificidad de un procedimiento analítico individual puede compensarse usando otros procedimientos analíticos complementarios. (nota: otras autoridades internacionales de reconocido prestigio (IUPAC, AOAC) han preferido el término “selectividad” reservando “especificidad” para procedimientos que resultan completamente selectivos.). Para los métodos de prueba o valoración que se indican a continuación, la definición anterior tiene las siguientes consecuencias:

Pruebas de identificación: garantizan la identidad del analito.

Pruebas de pureza: garantizan que todos los procedimientos analíticos efectuados permiten declarar con exactitud el contenido de impurezas de un analito.

Valoraciones: proporcionan un resultado exacto que permita una declaración del contenido o potencia del analito en una muestra.

Determinación.

En análisis cualitativos (pruebas de identificación) debe, demostrarse la capacidad de distinguir compuestos de estructura estrechamente relacionada cuya presencia resulta probable.

Esta capacidad debería confirmarse mediante la obtención de resultados positivos a partir de muestras que contengan el analito (quizás mediante comparación con un material de referencia conocido) junto con resultados negativos de muestras que no contengan dicho analito, y mediante la

confirmación de que no se obtiene una respuesta positiva de materiales con estructura similar o estrechamente relacionada a la del analito.

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 concentraciones adecuadas, y la demostración de que esas impurezas se determinan con exactitud y precisión adecuadas.

En una valoración, la demostración de especificidad requiere evidencia de que el procedimiento no resulta afectado por la presencia de impurezas o excipientes. En la práctica, esto puede hacerse agregando al fármaco o producto farmacéutico una cantidad conocida de excipiente o de impurezas en concentraciones adecuadas y demostrando que el resultado del análisis no resulta afectado por la presencia de estos materiales extraños.

Si no se dispone de estándares de impurezas o de los productos de degradación, puede demostrarse la especificidad comparando los resultados de las pruebas de muestras que contengan impurezas o productos de degradación con los de un segundo procedimiento bien caracterizado.

Estas comparaciones deberían de incluir muestras sometidas a condiciones forzadas relevantes. En una valoración, deben compararse los resultados; en pruebas de impurezas cromatográficas, deben compararse los perfiles de impurezas. Los documentos de la ICH afirman que cuando se utilizan los procedimientos cromatográficos, deberán presentarse cromatogramas

representativos para demostrar el grado de selectividad y los picos deberán identificarse adecuadamente. Las pruebas de pureza de los picos pueden resultar útiles para demostrar que el pico cromatográfico del analito no puede atribuirse a más que un solo componente.

Datos elementales requeridos para ensayos de validación. (7)

Los procedimientos de las determinaciones farmacopeicas varían desde valoraciones analíticas muy rigurosas hasta evaluaciones de atributos subjetivos. Considerando esta amplia variedad de determinaciones, es lógico que diferentes métodos de prueba requieran diferentes esquemas de validación.

Esto solo cubre las categorías más habituales para las que se exigen datos de validación.

Estas categorías se indican a continuación.

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

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

Categoría III: Métodos analíticos para la determinación de las características de desempeño (por Ej., disolución, liberación del fármaco).

Categoría IV: Pruebas de identificación.

Para cada categoría de análisis, se requiere diferente información analítica. En la tabla 1 se indican los elementos de datos que normalmente se requiere para cada una de las categorías de análisis. Los métodos generales de prueba y valoración ya establecidos (por Ej.: métodos volumétricos de determinación de agua, prueba de endotoxinas bacterianas) deben revalidarse para comprobar su exactitud (la ausencia de posibles interferencias) cuando se utilizan para un producto nuevo o materia prima nueva.

La validez de un método analítico puede verificarse solo mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto la documentación de la finalización con éxito de dichos estudios constituye un requisito básico para determinar si un método es adecuado para sus aplicaciones previstas. Cualquier propuesta de procedimientos farmacopeicos analíticos nuevos o revisados debe ir acompañada de la documentación adecuada.

Tabla Nº 1 Datos Requeridos para la Validación de los Análisis (7).

Características de desempeño	Categoría I de valoración	Categoría II de valoración	Categoría II de valoración	Categoría III de Valoración	Categoría IV de valoración
		Prueba de Limite cuantitativa	Prueba de Limite cualitativa		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad	Si	Si	Si	*	Si
Limite de detección	No	No	Si	*	No
Limite de cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Intervalo	Si	Si	*	*	No

3.2 Furosemida. (12, 14)

Indicaciones terapéuticas:

- Retención de líquidos asociada a insuficiencia cardiaca congestiva crónica, cuando se requiera tratamiento diurético.
- Retención de líquidos asociada a insuficiencia cardiaca congestiva aguda.
- Retención de líquidos asociada a insuficiencia renal crónica.
- Conservación de la excreción de líquidos en insuficiencia renal aguda, incluyendo las debidas a embarazo o quemaduras.
- Retención de líquidos asociada a síndrome nefrótico, cuando se requiera tratamiento diurético.
- Retención de líquidos asociada a insuficiencia hepática, cuando se requiera tratamiento suplementario con antagonistas de la aldosterona.
- Hipertensión.
- Crisis hipertensivas.
- Soporte de diuresis forzada.

Contraindicaciones:

- Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula. Pacientes alérgicos a las sulfonamidas (antibióticos sulfonamídicos o sulfonilureas) pueden presentar sensibilidad cruzada con furosemida.
- Hipovolemia o deshidratación.
- Insuficiencia renal anúrica que no responde a la furosemida.

- Hipocaliemia severa.
- Hiponatremia severa.
- Estados precomatosos y comatosos asociados a encefalopatía hepática.
- Lactancia.

Precauciones generales: El tratamiento con furosemida requiere de una supervisión médica constante. Es importante que el flujo de orina esté asegurado y pacientes con obstrucción parcial del flujo de orina deben ser monitoreados con mucho cuidado, sobre todo en la fase inicial del tratamiento.

También requieren de un monitoreo cuidadoso:

- Pacientes con hipotensión.
- Pacientes que se encuentren en riesgo particular de sufrir una caída brusca de la presión arterial, como pacientes con estenosis significativa de las arterias coronarias o de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro.
- Pacientes con diabetes mellitus latente o manifiesta.
- Pacientes con gota.
- Pacientes con síndrome hepatorenal, como insuficiencia renal funcional asociada a enfermedad hepática severa.
- Pacientes con hipoproteïnemia asociada, por ejemplo, a síndrome nefrótico, en los que el efecto de la furosemida puede debilitarse y potenciarse su ototoxicidad. Es necesario determinar la dosis con cautela.

– Infantes prematuros, en los que se debe monitorear la función renal y llevarse a cabo ultrasonografía renal debido al posible desarrollo de nefrocalcinosis/nefrolitiasis.

Durante el tratamiento con furosemida generalmente se recomienda un control regular de sodio, potasio y creatinina séricos. Se requiere de un monitoreo particularmente cuidadoso en pacientes con alto riesgo de sufrir desequilibrio electrolítico, o en caso de pérdida adicional significativa de líquidos debido a vómito, diarrea o sudación intensa. Deben corregirse la hipovolemia o la deshidratación, así como cualquier trastorno ácido-básico o electrolítico significativos. Esto puede requerir de una discontinuación temporal de la furosemida.

Algunos efectos adversos, como una caída brusca de la presión sanguínea, pueden incapacitar al paciente para concentrarse y reaccionar y, por lo tanto, constituyen un riesgo en situaciones en las que estas habilidades son de especial importancia, como lo son manejar un vehículo u operar maquinaria.

Cuando se administraron dosis considerablemente más elevadas que la dosis terapéutica humana se observó un aumento en la incidencia de adenocarcinoma mamario en ratones, pero no en ratas y estos tumores eran morfológicamente idénticos a los que ocurren espontáneamente en los animales control. No existe evidencia de un aumento de la incidencia de este tipo de tumores en humanos.

Restricciones de uso durante el embarazo y la lactancia:

La furosemida cruza la barrera placentaria y se transfiere lentamente al feto. En el feto o en el recién nacido se encuentran las mismas concentraciones que en la madre.

Hasta la fecha no se han detectado malformaciones en humanos que pudieran estar relacionadas con furosemida; sin embargo, no se tiene suficiente experiencia como para llegar a una conclusión acerca de los posibles efectos nocivos sobre el embrión/feto. No debe administrarse furosemida durante el embarazo a menos que existan razones médicas imperativas. El tratamiento durante el embarazo requiere del monitoreo del crecimiento fetal.

La furosemida pasa a la leche materna y puede inhibir la lactancia, por lo que está contraindicada en este caso.

Reacciones secundaria y adversa:

La furosemida produce un aumento en la excreción de sodio y cloruros y, por consiguiente, de agua. Además incrementa la excreción de otros electrólitos, sobre todo potasio, calcio y magnesio. Pueden presentarse trastornos electrolíticos sintomáticos y alcalosis metabólica en forma de déficit electrolítico de aumento gradual o pérdidas electrolíticas severas agudas, cuando se administran dosis más elevadas a pacientes con función renal normal.

La acción diurética de la furosemida puede provocar o contribuir a una hipovolemia y deshidratación, especialmente en pacientes de la tercera edad.

Una depleción severa de líquidos puede contribuir al desarrollo de hemoconcentración con tendencia a trombosis. Pueden aumentar las concentraciones séricas de ácido úrico produciendo crisis de gota.

La furosemida puede causar una baja en la presión arterial que, sobre todo si es pronunciada, puede provocar signos y síntomas como deterioro de la concentración y la reacción, delirio, sensación de presión en la cabeza, cefaleas, vértigo, somnolencia, debilidad, trastornos de la visión, boca seca o intolerancia ortostática.

El aumento de la producción de orina puede provocar o empeorar quejas en pacientes con obstrucción del flujo urinario: puede presentarse retención aguda de orina con posibles complicaciones secundarias en pacientes con trastornos de evacuación vesical, hiperplasia prostática o estrechamiento de la uretra.

En casos excepcionales, con furosemida puede bajar la tolerancia a la glucosa, lo que puede ocasionar deterioro del control metabólico en pacientes con diabetes mellitus. Puede llegar a manifestarse diabetes mellitus latente. Esto está relacionado con la duración del tratamiento o la dosis administrada y es reversible al discontinuar el tratamiento con el diurético.

Ocasionalmente se pueden presentar reacciones gastrointestinales como náuseas, vómito o diarrea. En casos aislados se puede desarrollar colestasis intrahepática, aumento de las transaminasas hepáticas o pancreatitis aguda. Excepcionalmente, aunque generalmente transitorios, se pueden presentar trastornos del oído y tinnitus, sobre todo en pacientes con insuficiencia renal,

hipoproteinemia y/o cuando se ha administrado furosemida intravenosa con demasiada rapidez.

Ocasionalmente pueden presentarse reacciones de la piel o de las mucosas como comezón, urticaria, otras erupciones o lesiones bulosas, eritema multiforme, dermatitis exfoliativa, púrpura.

Rara vez ocurren reacciones anafilácticas o anafilactoides con choque. Puede presentarse nefritis intersticial, vasculitis o eosinofilia, así como fiebre o parestesia, y ocasionalmente fotosensibilidad.

Excepcionalmente se puede presentar trombocitopenia, leucopenia, agranulocitosis, anemia aplásica o hemolítica. En infantes prematuros, la furosemida puede precipitar nefrocalcinosis/nefrolitiasis. Si se administra durante la primera semana de vida, puede aumentar el riesgo de persistencia del ducto arterioso patente.

Después de administración intramuscular puede haber una reacción local como dolor.

Dosis y vía de administración:

Principios generales:

- La dosis empleada debe ser la más baja, suficiente para alcanzar el efecto deseado.
- La furosemida intravenosa sólo se administra cuando la administración oral no es posible o es ineficaz, como en el caso de absorción intestinal insuficiente, o

si se requiere un efecto rápido. Cuando se emplea terapia intravenosa, se recomienda pasar a terapia oral lo más pronto posible.

- Para alcanzar eficacia óptima y evitar contrarregulación, generalmente debe preferirse una infusión continua de furosemida a repetidas inyecciones en bolo.

Cuando la infusión no es posible para dar seguimiento a una o varias dosis agudas en bolo, es preferible continuar con dosis bajas a intervalos cortos de aproximadamente 4 horas a un régimen de dosis más elevadas en bolo a intervalos más largos.

- La dosis diaria máxima de furosemida recomendada para adultos tanto para administración oral como intravenosa es de 1,500 mg.
- En niños, la dosis de furosemida recomendada para administración oral es de 2 mg/kg de peso corporal hasta una dosis diaria máxima de 40 mg. Para administración parenteral, la dosis recomendada es de 1 mg/kg de peso corporal hasta una dosis diaria máxima de 20 mg.
- La duración del tratamiento depende de la indicación y cada caso debe ser determinado por el médico tratante.

Recomendaciones para dosificación especial:

La dosis para adultos se basa en los siguientes lineamientos:

Retención de líquidos asociada a insuficiencia cardiaca congestiva crónica:

La dosis inicial recomendada es de 20 a 80 mg/día divididos en dos o tres administraciones. Se harán los ajustes necesarios de acuerdo con la respuesta obtenida.

Retención de líquidos asociada a insuficiencia cardiaca congestiva aguda:

La dosis inicial recomendada es de 20 a 40 mg/día administrada como inyección intravenosa en bolo. Se harán los ajustes necesarios de acuerdo con la respuesta obtenida.

Retención de líquidos asociada a insuficiencia renal crónica:

La respuesta natriurética a la furosemida depende de varios factores, incluyendo la severidad de la insuficiencia renal y del balance de sodio, por lo que no se puede predecir exactamente el efecto de una dosis. En estos pacientes la dosis debe ser determinada cuidadosamente de manera que la pérdida inicial de líquido sea gradual. En el caso de adultos esto significa una dosis que provoque una pérdida de peso corporal de aproximadamente 2 kg al día (aprox. 280 mmol Na⁺). La dosis oral inicial recomendada es de 40 a 80 mg/día en una sola toma o dividida en dos, y se puede ajustar de acuerdo con los resultados obtenidos. En pacientes con diálisis, la dosis oral usual de mantenimiento es de 250 a 1,500 mg/día.

En tratamiento intravenoso, la dosis de furosemida se puede determinar comenzando con una infusión continua intravenosa de 0.1 mg/minuto,

aumentando gradualmente cada media hora de acuerdo con la respuesta obtenida.

Conservación de la excreción de líquidos en insuficiencia renal aguda:

Antes de iniciar el tratamiento con furosemida debe corregirse la hipovolemia, la hipotensión y el significativo desequilibrio ácido-básico y electrolítico. Se recomienda pasar lo más pronto posible de la administración intravenosa a la oral. La dosis inicial recomendada es de 40 mg en inyección intravenosa. Si no se obtiene el aumento deseado de excreción de líquidos, la furosemida puede administrarse en infusión continua, comenzando a razón de 50 a 100 mg/hora.

Retención de líquidos asociada a síndrome nefrótico:

La dosis oral inicial recomendada es de 40 a 80 mg/día, pudiendo ajustarse según la respuesta. Se puede administrar en una sola dosis o en varias dosis divididas.

Retención de líquidos asociada a insuficiencia hepática:

La furosemida se emplea como complemento del tratamiento con antagonistas de la aldosterona en aquellos casos en los que éstos no son suficientes por sí mismos.

Con el fin de evitar complicaciones como intolerancia ortostática o desequilibrio ácido-básico y electrolítico, la dosis se debe determinar cuidadosamente de manera que la pérdida inicial de líquidos sea gradual. Para adultos esto significa una dosis que produzca una pérdida de peso corporal de aproximadamente 0.5

kg al día. La dosis inicial oral recomendada es de 20 a 80 mg/día y se puede ajustar de acuerdo con la respuesta. La dosis diaria se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas. Si el tratamiento intravenoso es absolutamente necesario, la dosis inicial única es de 20 a 40 mg.

Hipertensión: La furosemida se puede emplear sola o en combinación con otros agentes antihipertensivos. La dosis oral usual de mantenimiento es de 20 a 40 mg/día. En hipertensión asociada a insuficiencia renal crónica pueden ser necesarias dosis más elevadas.

Crisis hipertensivas:

La dosis inicial recomendada de 20 a 40 mg se administra como inyección intravenosa en bolo y puede ajustarse según la respuesta obtenida.

Soporte de diuresis forzada en intoxicaciones:

La furosemida se administra por vía intravenosa agregándola a infusiones de soluciones electrolíticas. La dosis depende de la respuesta a la furosemida. Las pérdidas de líquidos y electrolitos deben ser corregidas antes y durante el tratamiento. En el caso de intoxicación con sustancias ácidas o alcalinas, la eliminación se puede incrementar adicionalmente alcalinizando o acidificando la orina, respectivamente. La dosis inicial recomendada es de 20 a 40 mg por vía intravenosa.

En niños, la dosis se debe reducir de acuerdo con el peso corporal.

Administración:

Se recomienda tomar las tabletas de furosemida con el estómago vacío. Deben ingerirse sin masticar con una cantidad suficiente de líquido.

- La administración intravenosa de furosemida debe ser lenta, no debe exceder de 4 mg/minuto. En pacientes con insuficiencia renal severa (creatinina sérica > 5 mg/dl) se recomienda no exceder una velocidad de infusión de 2.5 mg/minuto.
- La administración intramuscular de furosemida debe usarse sólo en casos excepcionales, cuando no es posible la administración oral o la intravenosa. Nunca debe emplearse la vía intramuscular para el tratamiento de condiciones agudas como edema pulmonar.

Furosemida. Solución inyectable no debe mezclarse con otros fármacos en la misma jeringa, ni debe efectuarse una infusión junto con otros fármacos. Furosemida es una solución con un pH de 9, cuyo principio activo se puede precipitar a un pH inferior a 7. Cuando sea necesario diluir la solución, se debe asegurar que el pH de la solución diluida sea ligeramente alcalino hasta neutro. Se puede utilizar solución salina normal como diluyente. Las soluciones diluidas deben administrarse lo más pronto posible.

Propiedades espectrales de la Furosemida. (6)

Sinónimos: Furosemida, Fursemida, Frusemida.

Nombres propios: Aluzine; Diural; Diuresal; Dryptal; Frusetic; Frusid; Fur-O-lms; Furosida; Impugan; Lasilix; Lasix; Neo-renal; Novosemida; Uritol. Es un ingrediente de la Diumida K, Frumil, Frusene, Lasikal; Lasilacton y Lasipresin.

Acido 4-Cloro-N-furfuril-5-sulfamoylantranilico.

$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S=330.7$

CAS-54-31-9

Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, punto de fusión: cerca de 206° C con descomposición.

Prácticamente insoluble en agua y cloroformo; 1 gramo es soluble en 75 mL de etanol, 1 gramo en 15 mL de acetona, y 1 gramo en 850 mL de éter, libremente soluble en dimetilformamida y soluciones alcalinas (Hidróxidos).

Constante de disociación: pK_a 3.9 (20°)

Test de coloración: prueba de Koppányi-Zwicker coloración violeta; prueba de Liebermann colocación negra; prueba del Acido Sulfúrico coloración amarilla.

Cromatografía capa fina: sistema TD-Rf01, sistema TE-Rf07; sistema TF-RF12; sistema TG-Rf19 (positivo con spray de Nitrato Mercurioso; positivo con solución de Permanganato de Potasio acidificada, reactivo de Van Urk café rosado).

Cromatografía de Gases: sistema DG tiempo de retención de los derivados del metil 2.64 relativamente a n-C₁₆H₃₄.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución: sistema HV tiempo de retención 0.45 relativo al ácido meclofenámico.

Espectro ultravioleta: ácido acuosa 235 nm. (A=1333a), 274 nm. (A=600a), 342 nm, alcalino acuoso-271 nm (A=580 a), 333 nm.

3.3 Espectrofotometría ultravioleta visible. (16,13)

Desde hace muchos años se ha usado el color como ayuda para reconocer las sustancias químicas; al reemplazar el ojo humano por otros detectores de radiación se puede estudiar la absorción de sustancias, no solamente en la zona del espectro visible, sino también en ultravioleta e infrarrojo. Se denomina espectrofotometría al análisis químico que utiliza la luz para medir la concentración de las sustancias químicas en función de la longitud de onda.

Las ventajas de la espectrofotometría sobre otros métodos analíticos de laboratorio son varias: es rápida, precisa, versátil, fácil de usar y eficiente en costo. Los espectrofotómetros se han mejorado en precisión y versatilidad en los últimos años con los avances de tecnología, y hoy se consideran indispensables en un laboratorio de química analítica. La espectrofotometría se usa para diversas aplicaciones, como: análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones conocidas o desconocidas en un laboratorio de investigación, estandarización de colores de diversos materiales, como medicamentos, plásticos y pinturas, detección de niveles de contaminación en aire y agua, y determinación de trazas de impurezas en alimentos y en reactivos.

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de cuantos de energía llamados fotones; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía.

Absorbancia.

La absorbancia A de una solución se define mediante la ecuación:

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$$

La mayor parte de los trabajos analíticos se realizan con soluciones de manera que vamos a desarrollarla relación que existe entre la concentración de la solución y su capacidad de absorber radiación.

Aspectos Cuantitativos de las Mediciones de Absorción Ley de Beer.

Bourguer, Lambert y Beer, a través de sus observaciones establecieron relaciones de la variación de la intensidad de luz transmitida por una muestra con el espesor de ella o con la concentración de la sustancia, para materiales translúcidos. Estas relaciones se conocen como la ley de Bourguer-Lambert-Beer o ley general de la espectrofotometría que permite hallar la concentración de una especie química a partir de la medida de la intensidad de luz absorbida por la muestra.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD_{(18)}$$

Donde:

C_{st}: concentración del estándar.

FD: Factor de Dilución.

A_{mx}: Absorbancia de la muestra.

A_{st}: Absorbancia del Estándar.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO.

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO.

4.1 Tipo de estudio.

Retrospectivo, Prospectivo y Experimental.

Retrospectivo: porque se utilizó un método de análisis que fue oficial.

Prospectivas: porque se realizaron análisis para obtener datos correctos que servirán para evaluar los parámetros de desempeño (Exactitud, Linealidad y Precisión).

Experimental: porque se realizaron los análisis de forma practica en el área de Control de Calidad de un Laboratorio Nacional para determinar los parámetros de desempeño para la cuantificación de Furosemida tabletas de 40 mg, por espectrofotometría ultravioleta según requerimientos farmacopeicos de la USP XXI.

4.2. Investigación Bibliográfica.

4.2.1 Búsqueda de información en Bibliotecas:

Consistió en la búsqueda de libros, tesis y otro tipo de documentos que pueden ser útiles para la investigación; ésta se realizó en universidades del país donde existe la carrera de licenciatura en Química y Farmacia entre éstas están:

– Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (UES).

- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Biblioteca de la Universidad Nueva San Salvador (UNSSA).

4.2.2 Búsqueda de información en Internet.

Consistió en buscar en la Web, sitios que contengan información sobre el tema de validación, parámetros de desempeño, Furosemida y todo lo relacionado a este tema, para completar la información de la bibliografía de textos oficiales y no oficiales.

4.3 Investigación de Campo.

Consistió en la visita a la Unidad Técnica de Medicamentos del Ministerio de Salud y Asistencia Social, para conocer el cuadro básico de medicamentos en las Unidades de Salud de la Zona metropolitana del país, y de esta forma investigar por qué la Furosemida tabletas de 40 mg es uno de los productos más utilizados como diuréticos.

4.3.1 Universo

El universo de esta investigación estuvo constituido de un lote producido por un Laboratorio Nacional que fue de 150,000 tabletas de Furosemida 40 mg.

4.3.2 Muestra.

Se realizó un muestreo aleatorio simple dirigido con un tamaño de lote de 150,000 tabletas de Furosemida 40 mg. Con este valor buscamos la letra clave en la tabla de letra clave para un tamaño de la muestra (Ver Anexo N° 22), el cual estaba dentro del rango de 35,001 a 150,000; obteniendo así la letra N; luego se busca en la tabla II A planes de muestreo simple para inspección normal (Ver Anexo N° 23); encontrando un tamaño de muestra igual a 500 tabletas de Furosemida 40 mg, de las cuales se tomo 20 tabletas para la determinación de cada parámetro: Precisión, Linealidad, Exactitud.

4.4 Parte Experimental.

4.4.1 Tratamiento previo de la muestra.

A partir de la muestra seleccionada de 500 tabletas de Furosemida 40 mg se utilizo para cada parámetro 20 tabletas del fármaco a las cuales se les determinaron su peso promedio, se trituraran en mortero con pistilo y del polvo obtenido se tomo para cada pesada que fue necesaria.

4.4.2 Método Analítico.

Método espectrofotométrico ultravioleta en medio acuoso alcalino utilizando como primer diluyente Hidróxido de Sodio 0.1 N y agua destilada y como segundo diluyente Hidróxido de Sodio 0.02 N obteniendo un pico máximo a la longitud de onda de 271 nm. Utilizando como blanco Hidróxido de Sodio 0.02 N.

Traducción de Monografía de Furosemida Tabletas USP XXI (Ver Anexo N° 1)

Listado de Reactivos (Ver Anexo N° 2).

Listado de Equipo y Cristalería (Ver Anexo N° 3).

Preparación de reactivos:

Hidróxido de Sodio 0.1N y 0.02N (Ver Anexo N° 4)

Balanza Analítica (Ver Anexo N° 9).

4.4.3 Técnica.

Preparación del estándar de Furosemida.

- Pesar exactamente 10.0 mg en balanza analítica de Furosemida RS, hacer ajustes para obtener una pureza del 100%.
- Transferir a un balón volumétrico de 25.0 mL
- Agregar con una probeta 6 mL de Hidróxido de Sodio 0.1 N.
- Agitar hasta disolver.
- Llevar a volumen con agua destilada y homogenizar.
- Tomar una alícuota de 1.0 mL con pipeta volumétrica y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Aforar con Hidróxido de Sodio 0.02 N y homogenizar. Para obtener una concentración de 8 ug/mL

Preparación de la muestra.

- Pesar 20 tabletas juntas de Furosemida 40 mg en balanza analítica. Sacar el peso promedio y pulverizar con mortero y pistilo.
- Pesar una cantidad de polvo de tabletas de Furosemida equivalentes a 40 mg en balanza analítica.
- Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Agregar con probeta 25 mL de Hidróxido de sodio 0.1N. dejar reposar por 30 minutos con movimientos ocasionales.
- Llevar a volumen con agua destilada. Homogenizar.
- Filtrar la solución.
- Descartar los primeros 10 mL del filtrado y tomar con una pipeta volumétrica una alícuota de 2.0 mL, transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Llevar a volumen con Hidróxido de Sodio 0.02 N. Homogenizar. Para obtener una concentración de 8 ug/mL.

Leer la solución de la preparación de la muestra y estándar de Furosemida en el espectrofotómetro ultravioleta visible a una longitud de onda de 271 nm. Usando Hidróxido de Sodio 0.02 N como blanco.

Especificación:

90.0-110.0% de lo rotulado de Furosemida por tableta. ⁽⁸⁾

Cálculos.

Calcular la cantidad de Furosemida disuelta, por medio de la siguiente fórmula:

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD \quad (18)$$

Donde:

Cst: Concentración del estándar.

FD: Factor de Dilución.

Amx: Absorbancia de la muestra.

Ast: Absorbancia del Estándar.

Cálculos para encontrar miligramos de principio activo (p.a) en el peso muestra.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD = \text{mg de principio activo en peso de muestra.}$$

Cálculos para encontrar miligramos de principio activo (p.a) en el peso promedio de veinte tabletas.

mg encontrados de p.a _____ peso de muestra (g)

X _____ peso promedio de 20 tab. (g).

X= mg de principio activo encontrado en peso promedio de 20 tabletas.

Cálculos para encontrar el porcentaje sobre lo rotulado de principio activo.

mg rotulados de (p.a) _____ 100 %.

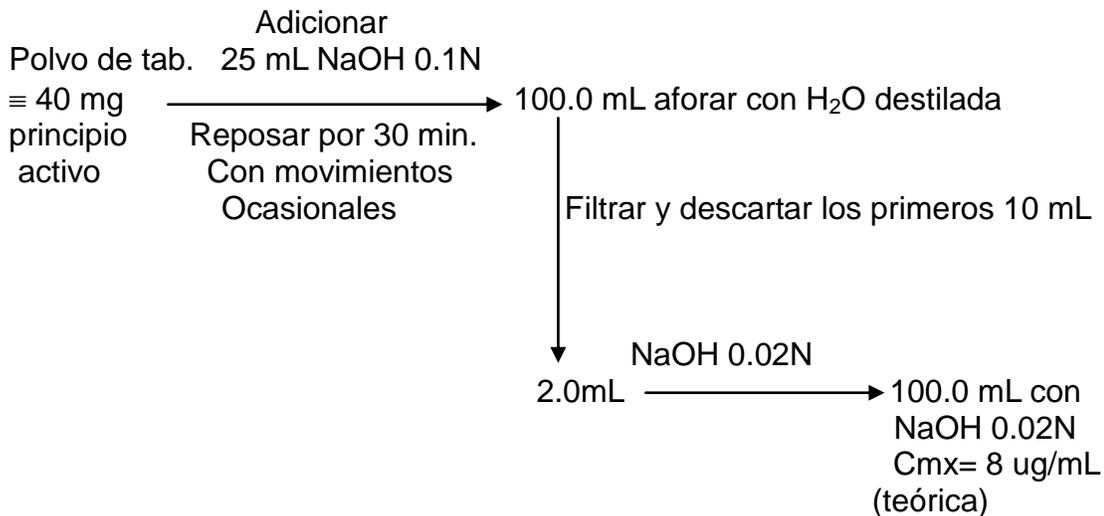
X mg de PA en peso promedio _____ y %.

de 20 tabletas.

y% = porcentaje sobre lo rotulado de principio activo

Esquema de dilución para la cuantificación de Furosemida Tabletadas 40 mg USP XXI.

Muestra.

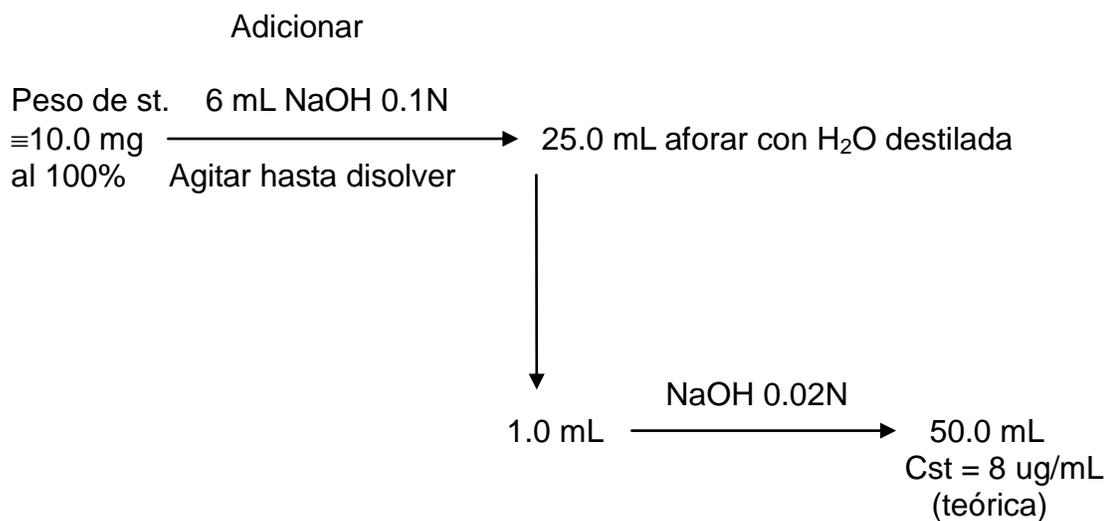


$$FD = \frac{100 \times 100}{2} = 5000$$

$$FD = \frac{5000}{1000} = 5$$

Nota: se corrige el factor de dilución (FD) dividiéndolo entre 1000 para obtener la concentración de la muestra en mg

Estándar.



Blanco: Hidróxido de Sodio 0.02 N.

Leer a una longitud de onda de 271nm.

4.4.4 Parámetros de desempeño.

Linealidad ⁽¹⁴⁾: Habilidad (dentro de un ámbito dado) del procedimiento analítico de obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra.

Según la USP, para la valoración de un fármaco en producto terminado la concentración de prueba va de 80% a 120%.

En este caso se evaluaron con las siguientes concentraciones: 80%, 90%, 100%, 110%, 120 %. El análisis se realizó por triplicado.

La linealidad se determinó con la siguiente fórmula:

$$Y = b_1X + b_0 \text{ (2)}$$

Siendo:

X = concentración de la muestra analizada

b₁ = valor de la pendiente

Y = respuesta

b₀ = término independiente (ordenada al origen)

Para determinar la pendiente (b₁) se utilizará la siguiente fórmula:

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

n = Numero de mediciones (concentración–respuesta analítica)

Para determinar la constante b_0 (ordenada al origen) se utilizó la siguiente formula.

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n} \quad (2)$$

Para la interpretación estadística de la regresión lineal se determinó:

El coeficiente de determinación (r^2)

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

Intervalo de Confianza para la Pendiente.

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

Desviación estándar de la pendiente.

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

Desviación estándar de regresión.

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

$t_{0.975, n-2}$ = referirse al Anexo N°5, para determinar el valor de t de Student.

Exactitud ⁽¹⁴⁾: expresa la cercanía entre el valor que es aceptado, sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interno de la firma), sea como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o estándar de una farmacopea) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces. Se evaluó mediante la adición de una concentración creciente (conocida) del analito al producto farmacéutico, según las concentraciones: 100%, 120%. Donde la muestra representada al 100% de la concentración de Furosemida se le agregó la cantidad correspondiente de materia prima valorada de Furosemida para obtener la concentración de 120% se realizó cada concentración por triplicado y los resultados obtenidos se expresaron en términos de porcentaje de recuperación del analito presente en la muestra, el tratamiento de los resultados se hizo por medio de la tabla de distribución t de Student. (Ver Anexo N°5)

Fórmulas y Procedimiento de cálculo para exactitud y repetibilidad:

Media Aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = Valores obtenidos del ensayo

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

Desviación Estándar

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

Donde:

S = Desviación estándar

y = Valores obtenidos del ensayo

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

Coeficiente de Variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

Intervalo de Confianza para la Media Poblacional

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0,975n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

$t_{0,975 n-1}$ = Refiérase al Anexo N°5, para determinar el valor de la t de Student

n = Número de mediciones o recobros o muestras o determinaciones, donde el coeficiente de variación no debe ser mayor al 3%.

Fórmula para obtener el Porcentaje de Recobro.

$$\% \text{ de Recobro} = (C_1 / C_2) \times 100\%$$

Donde:

C₁: Concentración recobrada en la muestra adicionada

C₂: Concentración adicionada a la muestra.

Precisión ⁽¹⁴⁾: expresa la cercanía de coincidencia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas. Puede considerarse a dos niveles: Repetibilidad y Reproducibilidad.

La Repetibilidad del método analítico en condiciones normales de laboratorio, se realizó utilizando una muestra de Furosemida tableta haciendo un total de nueve determinaciones que representan el 100% de la muestra.

La Reproducibilidad del método analítico se determinó por medio de la comparación de datos obtenidos por dos diferentes analistas, diferentes días diferentes equipos de laboratorio, en las mismas instalaciones. Para dicha determinación se realizó con un total de seis replicas por analista y se repitió

variando el equipo de laboratorio, el día y el analista que realizó la determinación.

Fórmulas y Procedimiento para el cálculo precisión.

Media Aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética.

y = Valores obtenidos del ensayo (porcentaje de recobro).

n = Número de mediciones o recobros o muestras o determinaciones

Desviación Estándar

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

Donde:

S = Desviación estándar

y = Valores obtenidos del ensayo (porcentaje de recobro).

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

Coeficiente de Variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

El CV debe ser menor o igual al 3%.

Cuadro N° 1 Parámetros de desempeño a evaluar y condiciones de trabajo.

Parámetros a Evaluar	Analista	Número de repeticiones	Concentración de trabajo	Variables
Precisión Repetibilidad	Analista 1	9	Concentración representativa al 100 %	-----
Reproducibilidad	Analista 1	6	Concentración representativa al 100%	Diferentes días Analistas Instrumentos
	Analista 2	6	Concentración representativa al 100%	
Linealidad y rango	Analista 1	15	80%,90%,100%, 110%,120%	Concentración
Exactitud	Analista 2	12	100%,120%	Concentración

----- Se mantienen las variables constantes.

CAPITULO V

RESULTADOS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

5.0 RESULTADOS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

5.1 Cálculos de los resultados obtenidos en la determinación del método analítico para la cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg por espectrofotometría ultravioleta.

- Cálculos para determinar la cantidad de muestra a pesar para tener un peso equivalente a 40 mg de Furosemida en tabletas.

- La cantidad de Furosemida por tableta de acuerdo a su composición es de 40 mg. Al pesar 20 tabletas juntas se obtuvo un peso de 4.1100 g y de éste se calculó el peso promedio que fue de 0.2055 g por tableta.

Por lo tanto:

- 100% sobre lo rotulado \equiv 40 mg de Furosemida

- 40 mg de Furosemida están en 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

- Por lo que se tiene 0.2055 g de peso muestra para \equiv 40 mg de Furosemida y es \equiv 100% de Furosemida.

- Cálculos para la determinar la cantidad a pesar de estándar con respecto a la pureza del estándar de Furosemida.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

X = 0.00978 g \equiv 0.0098 g cantidad a pesar en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2%, para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100%

5.2 DETERMINACION DE RESULTADOS DE PRECISION.

La precisión comprende en la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad.

5.2.1 REPETIBILIDAD.

Para la determinación de la repetibilidad se realizó por un solo analista en un equipo y en un día.

Espectrofotómetro Ultra Violeta N°1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analista N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación de la Muestra

La cantidad de Furosemida por tableta de acuerdo a su composición es de 40 mg. Al pesar 20 tabletas juntas se obtuvo un peso de 4.1100 g y de este se calculo el peso promedio que fue de 0.2055 g por tableta.

100% sobre lo rotulado ————— 40 mg de Furosemida

100% sobre lo rotulado ————— X

X = 40 mg de Furosemida

40 mg de Furosemida ————— 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

40 mg de Furosemida ————— X

$$X = 0.2055 \text{ g peso muestra}$$

0.2055 g de peso muestra para \equiv 40 mg de Furosemida y es \equiv 100% de Furosemida.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

$$X = 0.0098 \text{ g}$$

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener un equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 12)

Absorbancia muestra 1 = 0.469

Absorbancia muestra 2 = 0.469

Absorbancia muestra 3 = 0.467

Absorbancia de estándar = 0.463

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/ mL} \times 0.469}{0.463} \times 5$$

$C_{mx} = 40.51 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 40.51 \text{ mg de principio activo}$

Por tableta.

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo de muestra 1.

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

40.51 mg de Furosemida ————— X

X = 101.29 % sobre lo rotulado.

Cuadro N° 2 Resultados de la cuantificación de Furosemida presentes en las tabletas para la Repetibilidad.

N° de muestra	Cantidad de Furosemida teórica en peso muestra (mg) *	Pesos		Absorbancia		Cantidad de Furosemida encontrada en peso muestra (mg)	Porcentaje encontrado sobre lo rotulado (%)
		Muestra (g)	Estándar (g)	Muestra	Estándar		
1	40.0	0.2055	0.0098	0.469	0.463	40.51	101.29
2	40.0	0.2055	0.0098	0.469	0.463	40.51	101.29
3	40.0	0.2055	0.0098	0.467	0.463	40.34	100.86
4	40.0	0.2055	0.0098	0.465	0.463	40.17	100.43
5	40.0	0.2055	0.0098	0.469	0.463	40.51	101.29
6	40.0	0.2055	0.0098	0.467	0.463	40.34	100.86
7	40.0	0.2055	0.0098	0.469	0.463	40.51	101.29
8	40.0	0.2055	0.0098	0.465	0.463	40.17	100.43
9	40.0	0.2055	0.0098	0.465	0.463	40.17	100.43

*La cantidad de Furosemida teórica representa al 100% teórico sobre lo rotulado.

1. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$ y determinar n.

$$\sum y = 101.29 + \dots + 100.43 = 908.17$$

$$\sum y^2 = 101.29^2 + \dots + 100.43^2 = 91642.69$$

$$n = 9$$

2. Calcular \bar{y} y S

Media Aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética.

y = Valores obtenidos del ensayo. (% de recobro)

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

$$\bar{y} = \frac{101.29\% + 101.29\% + 100.86\% + 100.43\% + \dots + 100.46\%}{9}$$

\bar{y} = 100.90 % sobre lo rotulado.

3. Desviación Estándar

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

Donde:

S = Desviación estándar

\bar{y} = Valores obtenidos del ensayo

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

$$S = \sqrt{\frac{9(91642.69) - (908.17)^2}{9(9-1)}}$$

$$S = 0.3989$$

4. Calcular Coeficiente de Variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100\% \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética.

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

$$CV = \frac{0.3989}{100.9} \times 100\%$$

$$CV = 0.3953 \% \equiv 0.4 \%$$

El CV no debe ser mayor del 3 %

Para el estudio de repetibilidad se obtuvo un coeficiente de variación de 0.4% lo que indica que el método presenta una buena precisión para el análisis de producto terminado de Furosemida ya que para métodos químicos y espectrofotométricos debe de presentarse un $CV \leq 3\%$.

5.2.2 REPRODUCIBILIDAD.

Para la determinación de este parámetro se realizó por dos analistas variando los equipos y en días diferentes.

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N° 7 y Anexo N° 8 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analistas N° 1 y N° 2 (Ver Cuadro N°1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación de la Muestra

La cantidad de Furosemida por tableta de acuerdo a su composición es de 40 mg. Al pesar 20 tabletas juntas se obtuvo un peso de 4.1100 g y de este se calculo el peso promedio que fue de 0.2055 g por tableta.

Por lo tanto:

- 100% sobre lo rotulado \equiv 40 mg de Furosemida
- 40 mg de Furosemida están en 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas
- Por lo que se tiene 0.2055 g de peso muestra para \equiv 40 mg de Furosemida y es \equiv 100% de Furosemida.

- Preparación de Estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

X = 0.00978 g \equiv 0.0098 g cantidad a pesar en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar de Furosemida al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo por el analista N° 1. (Ver Anexo N° 13)

Absorbancia muestra 1 = 0.468

Absorbancia muestra 2 = 0.468

Absorbancia muestra 3 = 0.468

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.468}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 40.51$ mg de Furosemida en peso muestra $\equiv 40.51$ mg de principio activo por tableta.

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo de muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

40.51 mg de Furosemida ————— X

X = 101.29 % sobre lo rotulado.

Cuadro N° 3 Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Reproducibilidad.

N° de muestra	Cantidad de Furosemida teórica en peso muestra (mg) *	Pesos		Absorbancia		Cantidad de Furosemida encontrada en peso muestra (mg)	Porcentaje encontrado sobre lo rotulado (%)
		Muestra (g)	Estándar (g)	Muestra	Estándar		
Resultados obtenidos por el analistas N° 1							
1	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.462	40.51	101.29
2	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.462	40.51	101.29
3	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.462	40.51	101.29
4	40.0	0.2055	0.0098	0.466	0.462	40.34	100.86
5	40.0	0.2055	0.0098	0.466	0.462	40.34	100.86
6	40.0	0.2055	0.0098	0.466	0.462	40.34	100.86
Resultados obtenidos por el analistas N° 2							
1	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.461	40.61	101.52
2	40.0	0.2055	0.0098	0.465	0.461	40.34	100.86
3	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.461	40.61	101.52
4	40.0	0.2055	0.0098	0.468	0.461	40.61	101.52
5	40.0	0.2055	0.0098	0.465	0.461	40.34	100.86
6	40.0	0.2055	0.0098	0.469	0.461	40.69	101.73

*La cantidad de Furosemida teórica representa al 100% teórico sobre lo rotulado

1. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$ y determinar n.

$$\sum y = 101.29 + \dots + 100.73 = 1214.46$$

$$\sum y^2 = (101.29)^2 + \dots + (100.73)^2 = 122910.61$$

$$n = 12$$

2. Calcular \bar{y} y S

Media Aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética.

y = Valores obtenidos del ensayo. (% de recobro)

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

$$\bar{y} = \frac{101.29\% + 101.29\% + 101.29\% + 100.86 + \dots + 100.73\%}{12}$$

$\bar{y} = 101.20$ % sobre lo rotulado.

3. Desviación Estándar

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

Donde:

S = Desviación estándar

y = Valores obtenidos del ensayo

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

$$S = \sqrt{\frac{12(122910.61) - (1214.46)^2}{12(12-1)}} \quad (2)$$

$$S = 0.3283$$

4. Calcular Coeficiente de Variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \% \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética.

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

$$CV = \frac{0.3282}{101.20} \times 100\%$$

$$CV = 0.3244\%$$

Evaluando la Reproducibilidad del método espectrofotométrico de Furosemida en tabletas de 40 mg se variaron los días de análisis, los analistas e instrumentos; obteniendo un coeficiente de variación de 0.3244% y el coeficiente de variación especificado para métodos espectrofotométrico debe ser menor o igual a 3.0%₍₂₎ por lo cual se establece que la variación en los valores obtenidos por ambos analistas no es significativa por lo tanto se considera que este método analítico es reproducible en las condiciones evaluadas.

5.3 DETERMINACION DE RESULTADOS DE LINEALIDAD Y RANGO.

La Linealidad y Rango se evaluó utilizando concentraciones de 80%, 90%, 100%, 110%, 120%; obtuvimos las concentraciones menores del 100% diluyendo con excipiente y las mayores se cargaran con materia prima de Furosemida, para obtener dichas concentraciones.

Muestra al 80%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analista N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación de la Muestra.

La cantidad de Furosemida por tableta según su composición es de 40 mg que se encuentran en un peso promedio de 0.2055 g por tableta (proveniente del peso de 20 tabletas juntas que fue de 4.1100 g.)

100% sobre lo rotulado ————— 40 mg de Furosemida

80% sobre lo rotulado ————— X

X = 32 mg de Furosemida \equiv 0.032 g de Furosemida

40 mg de Furosemida ————— 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

32 mg de Furosemida ————— X

$$X = 0.1644 \text{ g polvo de tabletas}$$

0.1644 g de polvo de tabletas es \equiv 32 mg de Furosemida y es \equiv 80% de principio activo.

- 0.2055 g peso promedio para concentración al 100 % menos 0.1644 g peso promedio para concentración al 80 %

= 0.0411 g de excipiente necesario de agregar para obtener una concentración al 80 % para el peso promedio.

- 0.0411 g multiplicado por 20 tabletas = 0.8220 g de excipiente necesario para diluir el peso de 20 tabletas para obtener la concentración de 80%
- 0.1644 g polvo por tableta para obtener la concertación al 80% multiplicado por 20 tabletas.

= 3.2880 g polvo de 20 tabletas juntas para obtener la concentración al 80%

- 3.2880 g polvo de 20 tabletas juntas mas 0.8220 g de excipiente

= 4.1100 g de polvo de 20 tableta juntas mas excipiente necesario para obtener una concentración de 80 %

- $\text{Peso muestra} = \frac{4.1100\text{g}}{20}$

= 0.2055 g (Polvo de 20 tabletas juntas mas excipiente).

Nota: Para obtener el equivalente al 80% se pesó 3.2880 g de polvo de 20 tabletas juntas y a éste se le agregó 0.8220 g de excipiente el cual fue homogenizado por la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas más excipiente se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que fue de 0.2055g.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

$X = 0.00978 \text{ g} \equiv 0.0098 \text{ g}$ cantidad a pesar en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 15)

Absorbancia muestra 1 = 0.370

Absorbancia muestra 2 = 0.370

Absorbancia muestra 3 = 0.369

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

Determinación de los mg de Furosemida encontrados en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD_{(18)}$$

$$C_{mx} = \frac{8\text{ug/mL} \times 0.370}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 32.03$ mg de Furosemida en peso muestra $\equiv 32.03$ mg de principio activo en peso muestra.

Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo de muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

32.03 mg de Furosemida ————— X

X = 80.08 % sobre lo rotulado.

Muestra al 90%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analista N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación Muestra

La cantidad de Furosemida por tableta según su composición es de 40 mg que se encuentran en un peso promedio de 0.2055 g por tableta (proveniente del peso de 20 tabletas juntas que fue de 4.1100 g.)

100% sobre lo rotulado ————— 40 mg de Furosemida

90% sobre lo rotulado ————— X

X = 36 mg de Furosemida \equiv 0.036 g de Furosemida

40 mg de Furosemida ————— 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

36 mg de Furosemida ————— X

X = 0.1849 g polvo de tabletas.

0.1849 g de polvo de tabletas es \equiv 36mg de Furosemida es \equiv 90% de principio activo.

- 0.2055 g peso promedio para concentración al 100 % menos 0.1849 g peso promedio para concentración al 90 %

= 0.0206 g de excipiente necesario de agregar para obtener una concentración al 90 % para el peso promedio.

- 0.0206 g multiplicado por 20 tabletas = 0.4120 g de excipiente para 20 tabletas
- 0.1849 g polvo por tableta para obtener la concertación al 90% multiplicado por 20 tabletas.

= 3.6980 g polvo de 20 tabletas juntas para obtener la concentración al 90%

- 3.6980 g polvo de 20 tabletas juntas mas 0.4120 g de excipiente

= 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas más excipiente necesario para obtener una concentración de 90 %

- $\text{Peso muestra} = \frac{4.1100\text{g}}{20}$

= 0.2055 g (Polvo de 20 tabletas juntas más excipiente).

Nota: Para obtener el equivalente al 90% se pesó 3.6980 g de polvo de 20 tabletas juntas y a éste se le agregó 0.4120 g de excipiente el cual fue homogenizado por la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas más excipiente, se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que fue de 0.2055g.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

$X = 0.00978 \text{ g} \equiv 0.0098 \text{ g}$ cantidad a pesar en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 16)

Absorbancia muestra 1 = 0.416

Absorbancia muestra 2 = 0.418

Absorbancia muestra 3 = 0.417

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida disuelta en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.416}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 36.01 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 36.01 \text{ mg principio activo por tableta.}$

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo en muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

36.01 mg de Furosemida ————— X

X = 90.04 % sobre lo rotulado.

Muestra al 100%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analistas N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación de la Muestra

La cantidad de Furosemida por tableta de acuerdo a su composición es de 40 mg. Al pesar 20 tabletas juntas se obtuvo un peso de 4.1100 g y de este se calculó el peso promedio que fue de 0.2055 g por tableta.

Por lo tanto:

- 100% sobre lo rotulado \equiv 40 mg de Furosemida
- 40 mg de Furosemida están en 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

- Por lo que se tiene 0.2055 g de peso muestra para \equiv 40 mg de Furosemida y es \equiv 100% de Furosemida.

40 mg de Furosemida ————— 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

40 mg de Furosemida ————— X

$$X = 0.2055 \text{ g peso muestra}$$

0.2055 g de peso muestra para \equiv 40 mg de Furosemida y es \equiv 100% de Furosemida.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

$X = 0.00978 \text{ g} \equiv 0.0098 \text{ g}$ cantidad a pesar en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 17)

Absorbancia muestra 1 = 0.467

Absorbancia muestra 2 = 0.465

Absorbancia muestra 3 = 0.467

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

Determinación de los mg de Furosemida encontrados en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD_{(18)}$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.467}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 40.43 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 40.43 \text{ mg de principio activo por tableta.}$

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo en muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

40.43 mg de Furosemida ————— X

X = 101.08 % sobre lo rotulado.

Muestra al 110%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analistas N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

Materia prima (Ver Anexo N° 10 Certificado de Análisis)

- Cálculos para determinar la cantidad de Furosemida necesaria para cargar las muestras.

100% sobre lo rotulado ————— 40.00mg de Furosemida

110% sobre lo rotulado ————— X

$$X = 44\text{mg de Furosemida} \equiv 0.0400\text{g de Furosemida}$$

- 44mg (\equiv 110%) de Furosemida menos 40mg (\equiv 100%) de Furosemida

= 4mg de materia prima de Furosemida por tableta.

\equiv 10% de exceso de p.a.

- 20 tabletas multiplicado por 4 mg de materia prima de Furosemida por tableta

= 80 mg de materia prima de Furosemida por 20 tabletas para obtener una concentración de 110%

- Cálculos para determinar la cantidad a pesar de materia prima con respecto a la pureza de Furosemida materia prima para cargar la muestra.

- Pureza de materia prima de Furosemida 99.40% \equiv % P/P

99.40g de Furosemida ————— 100.00g de materia prima

0.0800g de Furosemida ————— X

X = 0.0804g de materia prima al 99.40% para obtener 0.0800g de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0804g de materia prima al 99.40% para tener el equivalente a 0.0800g de Furosemida al 100%.

- Cálculos para determinar el peso muestra para obtener una concentración del 110%.
- 4.1100g polvo de 20 tabletas juntas mas 0.0804g de materia prima de Furosemida por 20 tabletas.

= 4.1904g polvo de 20 tabletas mas carga de materia prima de Furosemida para obtener una concentración del 110%

- $\text{Peso muestra} = \frac{4.1904\text{g}}{20}$

= 0.2095 g (Polvo de 20 tabletas juntas mas materia prima de Furosemida).

Nota: Para obtener el equivalente al 110% se peso 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas y a este se le agrego 0.0804 g de materia prima de Furosemida el cual fue homogenizado por la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.1904 g de polvo de 20 tabletas juntas más materia prima se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que fue de 0.2095g.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

X = 0.0098 g de Estándar al 102.2% para tener 0.0100 g de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 18)

Absorbancia muestra 1 = 0.508

Absorbancia muestra 2 = 0.509

Absorbancia muestra 3 = 0.506

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida encontrados en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.508}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 43.98 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 43.98 \text{ mg de principio activo por tableta.}$

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo en muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

43.14 mg de Furosemida ————— X

X = 107.85 % sobre lo rotulado.

Muestra al 120%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N° 1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analistas N° 1(Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

Materia prima (Ver Anexo N° 10 Certificado de Análisis)

- Cálculos para determinar la cantidad de Furosemida necesaria para cargar las muestras.

100% sobre lo rotulado ————— 40.00mg de Furosemida

120% sobre lo rotulado ————— X

X = 48.00mg de Furosemida \equiv 0.0480g de Furosemida

- 48mg (\equiv 120%)de Furosemida menos 40mg (\equiv 100%) de Furosemida

= 8 mg de materia prima de Furosemida por tableta \equiv 20% de exceso de p.a

- 20 tabletas multiplicado por 8 mg de materia prima de Furosemida por tableta

= 160 mg de materia prima de Furosemida por 20 tabletas para obtener una concentración de 120%

- Cálculos para determinar la cantidad a pesar de materia prima con respecto a la pureza de materia prima Furosemida para cargar la muestra.

Pureza de materia prima de Furosemida 99.40% \equiv % P/P

99.40g de Furosemida ————— 100.00g de materia prima

0.1600g de Furosemida ————— X

$$X = 0.1609g$$

Se pesaron 0.1609g de materia prima de Furosemida al 99.40% para tener el equivalente a 0.1600g de Furosemida al 100%.

- Cálculos para determinar el peso muestra para obtener una concentración del 120%.
- 4.1100 g polvo de 20 tabletas juntas mas 0.1609 g de materia prima de Furosemida por 20 tabletas.

= 4.2709 g polvo total de 20 tabletas juntas mas carga de materia prima de Furosemida para obtener una concentración del 120%

- $\text{Peso muestra} = \frac{4.2709\text{g}}{20}$

= 0.2135 g (Polvo de 20 tabletas juntas mas materia prima de Furosemida).

Nota: Para obtener el equivalente al 120% se pesó 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas y a este se le agregó 0.1609 g de materia prima de Furosemida el cual fue homogenizado por la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.2709 g de polvo de 20 tabletas juntas más materia prima se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que fue de 0.2135g.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

X = 0.0098 g de Estándar al 102.2% para tener 0.0100 g de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 19)

Absorbancia muestra 1 = 0.556

Absorbancia muestra 2 = 0.555

Absorbancia muestra 3 = 0.556

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida disuelta en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.556}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 48.14$ mg de Furosemida en peso muestra $\equiv 48.14$ mg de principio activo por tableta.

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo para la muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

46.33 mg de Furosemida ————— X

X = 115.82% sobre lo rotulado.

Cuadro N° 4 Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Linealidad y Rango.

N° de muestra	Cantidad teórica de Furosemida en peso muestra (mg)	Porcentaje teórico sobre lo rotulado (%)	Pesos		Absorbancia		Cantidad de Furosemida encontrada en peso muestra (mg)	Porcentaje encontrado sobre lo rotulado. (%)
			Muestra + excipiente (g)	Estándar (g)	Muestra	Estándar		
Ensayo que representa el 80.00%								
1	32.0	80.0	0.2055	0.0098	0.370	0.462	32.03	80.08
2	32.0	80.0	0.2055	0.0098	0.370	0.462	32.03	80.08
3	32.0	80.0	0.2055	0.0098	0.369	0.462	31.94	79.87
Ensayo que representa el 90.00%								
1	36.0	90.0	0.2055	0.0098	0.416	0.462	36.01	90.04
2	36.0	90.0	0.2055	0.0098	0.418	0.462	36.18	90.47
3	36.0	90.0	0.2055	0.0098	0.417	0.462	36.10	90.23
Ensayo que representa el 100.00%								
1	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.467	0.462	40.43	101.08
2	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.465	0.462	40.26	100.65
3	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.467	0.462	40.43	101.08
N° de muestra	Cantidad teórica de Furosemida en peso muestra (mg)	Porcentaje teórico sobre lo rotulado (%)	Pesos		Absorbancia		Cantidad de Furosemida encontrada en peso muestra (mg)	Porcentaje encontrado sobre lo rotulado. (%)
			Muestra + materia prima de Furosemida (g)	Estándar (g)	Muestra	Estándar		
Ensayo que representa el 110.00%								
1	44.0	110.0	0.2095	0.0098	0.508	0.462	43.14	107.85
2	44.0	110.0	0.2095	0.0098	0.509	0.462	44.22	108.06
3	44.0	110.0	0.2095	0.0098	0.506	0.462	42.97	107.42
Ensayo que representa el 120.00%								
1	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.556	0.462	46.33	115.82
2	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.555	0.462	46.25	115.62
3	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.556	0.462	46.33	115.82

Calcular: Σx , Σy , Σx^2 , Σy^2 , Σxy y determinando n

$$\Sigma x = 32.03 + \dots + 46.33 = 594.65$$

$$\Sigma y = 0.370 + \dots + 0.556 = 6.949$$

$$\Sigma x^2 = 32.03^2 + \dots + 46.33^2 = 23965.8545$$

$$\Sigma y^2 = 0.370^2 + \dots + .556^2 = 3.2835$$

$$\Sigma xy = 32.03 \times 0.370 + \dots + 46.33 \times 0.556 = 280.4813$$

$$n = 15$$

Calculando b_1 , b_0 , y r^2

Para determinar la pendiente (b_1) se utilizara la siguiente formula:

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (4)$$

n = numero de mediciones (concentración–respuesta analítica)

$$b_1 = \frac{(15 \times 280,4813) - (594.65 \times 6.949)}{(15 \times 23,965.8545) - 594.65^2} = 0,0127563$$

Para determinar la constante b_0 (ordenada al origen) se utilizara la siguiente

fórmula. (4)

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n} \quad (4)$$

$$b_0 = \frac{6.949 - 0.0127563 \times 594.65}{15} = -0,04243575$$

Para la interpretación estadística de la regresión lineal se determinó:

El coeficiente de determinación (r^2)

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

$$r^2 = \frac{(15 \times 280.4813 - 594.65 \times 6.949)^2}{(15 \times 23965.8545 - 594.65^2) \times (15 \times 3.2835 - 6.949^2)} = 0,992316$$

Intervalo de Confianza para la Pendiente.

$$CI(\beta_1) = b_1 \pm t_{0,975,n-2} S_{b_1}$$

Desviación estandar de la pendiente

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

Desviación estandar de regresion

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

$t_{0,975,n-2}$ = referirse al Anexo N° 5, para determinar el valor de t de Student.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{3.2835 - 0.0127563 \times 280.4813 - (-0.04243575 \times 6.949)}{15 - 2}}$$

$$S_{y/x} = 0.006152775$$

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

$$S_{b_1} = 0.006152775 \frac{1}{\sqrt{23965,8545 - \frac{(594.65)^2}{15}}} = 0.00396269$$

$$t_{0.975, n-2} = 2.160$$

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

$$C1(\beta_1) = 0.0127 \pm 2.160 \times 0.00396269$$

$$0.0041 - 0.0212 \quad \text{No debe incluir el cero}$$

$$Y = b_1 X + b_0 \quad (2)$$

$$Y = 0.127563 X + (-0.04243575)$$

Coeficiente de variación de regresión ($CV_{y/x}$)

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{y}$$

$$CV_{y/x} = \frac{0.006152775}{0.463} \times 100\% = 1.350\%$$

$$CV_{y/x} = 1.350\%$$

La ecuación de la recta del rango de concentraciones estudiadas se expresa según $y = 0,0128X - 0,0424$ con un coeficiente de correlación lineal de $r^2 = 0,9923$ que se puede observar en la Figura N° 1 que corresponde a la gráfica de Linealidad y Rango (Ver Anexo N° 6) en donde se demuestra que el método analítico cumple con el parámetro de Linealidad.

5.4 DETERMINACION DE RESULTADOS DE EXACTITUD.

La Exactitud se evaluó a concentraciones que representan el 100% y cargando la muestra al 120%

Muestra al 100%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N°1 (Ver Anexo N°7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analista N° 2 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

- Preparación de la Muestra

La cantidad de Furosemida por tableta de acuerdo a su composición es de 40 mg. Al pesar 20 tabletas juntas se obtuvo un peso de 4.1100 g y de este se calculo el peso promedio que fue de 0.2055 g por tableta.

100% sobre lo rotulado ————— 40 mg de Furosemida

100% sobre lo rotulado ————— X

X = 40 mg de Furosemida

40 mg de Furosemida ————— 0.2055 g peso promedio de 20 tabletas

40 mg de Furosemida ————— X

$$X = 0.2055 \text{ g peso muestra}$$

- Preparación de Estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

$$X = 0.00978 \text{ g} \equiv 0.0098 \text{ g cantidad a pesar de estándar al 102.2\%}$$

para tener en equivalente de 0.0100 g de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar de Furosemida al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 20)

Absorbancia muestra 1 = 0.463

Absorbancia muestra 2 = 0.463

Absorbancia muestra 3 = 0.464

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida encontrados en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.463}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 40.08 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 40.08 \text{ mg de principio activo por tableta}$

- Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo de muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

40.08 mg de Furosemida ————— X

X = 100.21 % sobre lo rotulado.

Muestra al 120%

Espectrofotómetro Ultra Violeta N°1 (Ver Anexo N° 7 Certificado de Calibración)

Balanza analítica (Ver Anexo N° 9)

Analistas N° 2 (Ver Cuadro N° 1)

Estándar (Ver Anexo N° 11 Certificado de Análisis)

Materia Prima (Ver Anexo N° 10 Certificado de Análisis)

- Cálculos para determinar la cantidad de Furosemida necesaria para cargar las muestras.

100% sobre lo rotulado ————— 40.00mg de Furosemida

120% sobre lo rotulado ————— X

$$X = 48.00\text{mg de Furosemida} \equiv 0.0480\text{g de Furosemida}$$

- 48mg ($\equiv 120\%$) de Furosemida menos 40mg ($\equiv 100\%$) de Furosemida

= 8 mg de materia prima de Furosemida por tableta.

$\equiv 20\%$ de exceso de p.a

- 20 tabletas multiplicado por 8 mg de materia prima de Furosemida por tableta

= 160 mg de materia prima de Furosemida por 20 tabletas para obtener una concentración de 120%

- Cálculos para determinar la cantidad a pesar de materia prima con respecto a la pureza de Furosemida para cargar la muestra.

Pureza de materia prima de Furosemida 99.40% \equiv % P/P

99.40g de Furosemida ————— 100.00g de materia prima

0.1600g de Furosemida ————— X

$$X = 0.1609g$$

Se pesaron 0.1609g de materia prima de Furosemida al 99.40% para tener el equivalente a 0.1600g de Furosemida al 100%.

- Cálculos para determinar el peso muestra para obtener una concentración del 120%.
- 4.1100 g polvo de 20 tabletas juntas mas 0.1609 g de materia prima de Furosemida por 20 tabletas.

= 4.2709 g polvo total de 20 tabletas juntas mas carga de materia prima de Furosemida para obtener una concentración del 120%

- $\text{Peso muestra} = \frac{4.2709g}{20}$

= 0.2135 g (Polvo de 20 tabletas juntas mas materia prima de Furosemida).

Nota: Para obtener el equivalente al 120% se peso 4.1100 g de polvo de 20 tabletas juntas y a este se le agrego 0.1609 g de materia prima de Furosemida el cual fue homogenizado por la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.2709 g de polvo de 20 tabletas juntas más materia prima se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que fue de 0.2135 g.

- Preparación de estándar.

La pureza de estándar de Furosemida es de 102.2% \equiv % P/ P

102.2 g de Furosemida ————— 100.0 g de Estándar

0.0100 g de Furosemida ————— X

X = 0.0098 g de Estándar al 102.2% para tener 0.0100 g de Furosemida al 100%

Se pesaron 0.0098 g en balanza analítica (Ver Anexo N° 9) de estándar de Furosemida al 102.2% para tener en equivalente de 0.0100 g de estándar de Furosemida al 100% obteniendo una concentración de 8 ug/mL

Absorbancia obtenidas en el ensayo. (Ver Anexo N° 21)

Absorbancia muestra 1 = 0.555

Absorbancia muestra 2 = 0.555

Absorbancia muestra 3 = 0.557

Absorbancia de estándar = 0.462

Factor de dilución = 5

- Determinación de los mg de Furosemida encontrada en peso muestra en la muestra 1 en el ensayo aplicando la Ley de Beer.

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}} \times FD$$

$$C_{mx} = \frac{8 \text{ ug/mL} \times 0.555}{0.462} \times 5$$

$C_{mx} = 48.05 \text{ mg de Furosemida en peso muestra} \equiv 48.05 \text{ mg de principio activo por tableta.}$

Porcentaje sobre lo rotulado en el ensayo de muestra 1

40.00 mg de Furosemida ————— 100 %

46.24mg de Furosemida ————— X

X = 115.65% sobre lo rotulado.

Cuadro N° 5 Resultados de la cuantificación de Furosemida en tabletas para la Exactitud.

N° de muestra	Cantidad de Furosemida teórica en peso muestra (mg)	Porcentaje teórico sobre lo rotulado (%)	Pesos		Absorbancia		Cantidad de Furosemida encontrada en peso muestra (mg)	Porcentaje encontrado sobre lo rotulado (%)
			Muestra (g)	Estándar (g)	Muestra	Estándar		
Ensayo que representa al 100.0%								
1	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.463	0.462	40.08	100.21
2	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.463	0.462	40.08	100.21
3	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.464	0.462	40.17	100.43
4	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.462	0.462	40.00	100.00
5	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.464	0.462	40.17	100.43
6	40.0	100.0	0.2055	0.0098	0.463	0.462	40.08	100.21
Ensayo que representa al 120%								
7	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.555	0.462	46.24	115.60
8	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.555	0.462	46.24	115.60
9	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.557	0.462	46.41	116.02
10	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.555	0.462	46.24	115.60
11	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.556	0.462	46.32	115.80
12	48.0	120.0	0.2135	0.0098	0.556	0.462	46.32	115.80

Para este parámetro se realizaron 6 ensayos que representan el 100% que son de las muestras del 1 a 6 para los cuales se usó un peso muestra de 0.2055 g. Las muestras que representan el 120% son la del 7 al 12 que fueron preparadas agregando 0.1609 g de materia prima de Furosemida al polvo de tabletas lo cual fue homogenizado utilizando la técnica del ocho por 30 minutos; de esto se obtuvo un peso de 4.2709 g de polvo de 20 tabletas juntas más materia prima se divide este valor entre 20 para obtener el peso muestra que es de 0.2135 g. Las cuales fueron preparadas con anterioridad para determinar el porcentaje de recuperación.

Cuadro N° 6 Resultados de los gramos de Furosemida en peso de muestra de 0.2055 g más la carga de 0.0080g en la muestra para la Exactitud.

N° de muestra al 100%	Ensayo que representa el 100% (mg) encontrados	N° de muestra al 120%	Ensayo que representa el 120% (mg) encontrados
1	40.08	7	46.24
2	40.08	8	46.24
3	40.17	9	46.41
4	40.00	10	46.24
5	40.17	11	46.32
6	40.08	12	46.32

Determinar el X de g recuperados en peso muestra de 0.2055g del ensayo que representa el 100%

$$\bar{X} = \frac{40.08 \text{ mg} + 40.08 \text{ mg} + 40.17 \text{ mg} + 40.00 \text{ mg} + 40.17 \text{ mg} + 40.08 \text{ mg}}{6}$$

$\bar{X} = 40.09\text{mg}$ recuperados en peso muestra de 0.2055g que representa al 100%.

Para determinar la cantidad recuperada se le restará el promedio de los valores obtenidos que representa el 100% a cada uno de los valores obtenidos del 120% a los cuales se les adicionó 0.0080g de materia prima para conseguir la concentración del 120%

- Cantidad recuperada en el ensayo de muestra N° 7 menos el promedio de los datos obtenidos al 100% (ver cuadro N° 6)

$$\text{Cantidad recuperada} = \text{Miligramos recuperados en (120\%)} - \text{Promedio en mg recuperado en 100\%}$$

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 46.24\text{mg} - 40.09\text{mg} \\ &= 6.15\text{mg} \end{aligned}$$

- Cantidad recuperada en el ensayo de muestra N° 8 menos el promedio de los datos obtenidos al 100% (Ver Cuadro N° 6)

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 46.24\text{mg} - 40.09\text{mg} \\ &= 6.15\text{mg} \end{aligned}$$

- Cantidad recuperada en el ensayo de muestra N° 9 menos el promedio de los datos obtenidos al 100% (Ver Cuadro N° 6)

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 46.41\text{mg} - 40.09\text{mg} \\ &= 6.32\text{mg} \end{aligned}$$

$$\% \text{ de Recobro} = (C_1 / C_2) \times 100\%$$

Donde:

C_1 : Concentración recobrada en la muestra adicionada

C_2 : Concentración adicionada a la muestra.

- % de recobro de muestra N° 7

$$\% \text{ de Recobro} = \frac{6.15\text{mg}}{8.0\text{mg}} \times 100\% = 76.87\%$$

- % de Recobro de muestra N° 8

$$\% \text{ de recobro} = \frac{6.15}{8.0} \times 100\% = 76.87\%$$

- % de Recobro de muestra N° 9

$$\% \text{ de Recobro} = \frac{6.32}{8.0} \times 100\% = 79.0\%$$

Cuadro N° 7 Resultados del porcentaje de Recobro en las muestras cargadas con materia prima de Furosemida para la Exactitud.

Muestras cargadas con materia prima al 120%	Cantidad adicionada (mg) de principio activo.	Cantidad recuperada (mg) de principio activo.	% de Recobro encontrado
7	8.00	6.15	76.87
8	8.00	6.15	76.87
9	8.00	6.32	79.00
10	8.00	6.15	76.87
11	8.00	6.23	77.87
12	8.00	6.23	77.87

1. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$ y determinar n.

$$\sum y = 76.87 + \dots + 77.87 = 465.32$$

$$\sum y^2 = 76.87^2 + \dots + 77.87^2 = 36090,8532$$

$$n = 6$$

2. Calcular \bar{y} y S:

Media Aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = Valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

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

$$\bar{y} = \frac{76.87\% + 76.87\% + 79.00\% + 76.87\% + 77.87\% + 77.87\%}{6}$$

$$\bar{y} = \frac{465.32}{6} = 77.55\%$$

3. Desviación Estándar.

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

Donde:

S = Desviación estándar

y = valores obtenidos del ensayo (% de Recobros)

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

$$S = \sqrt{\frac{6(36090.8532) - (465.32)^2}{6(6-1)}}$$

$$S = 0.8644$$

4. Calcular CV

Coeficiente de Variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

$$CV = \frac{0.8644}{77.55} \times 100 = 1.1146\%$$

El CV no debe ser mayor de 3%

5. Determinar $t_{0,975 \ n-1}$ por la tabla del Anexo 5 y calcular IC (μ).

Intervalo de Confianza para la Media Poblacional ⁽²⁾

$$IC(\mu) = y \pm t_{0,975 \ n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

$$t_{0,975 \ n-1} = 2,571$$

$$IC(\mu) = 77.55 \pm 2,571 \times \frac{0.8644}{\sqrt{6}} = 78.45 - 76.64^*$$

* El intervalo, debe incluir el valor de 100%

En el rango seleccionado en el estudio de la exactitud donde los valores de porcentaje de recobro no estuvieron dentro de los límites establecidos para los métodos químicos que deben de estar en un rango de 97.0% - 103.0%. ⁽²⁾ y los valores de coeficiente de variación para los niveles estudiados resultaron menores al 3% lo cual está dentro de lo estipulado (menor o igual al 3%).

PROTOCOLO DE VALIDACION.

**PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO
DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA
TABLETAS DE 40MG POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRA VIOLETA.**

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 1 DE:17
			Página
1. INTRODUCCION			2
2. OBJETIVO			2
3. ALCANCE			3
4. RESPONSABLES			3
5. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS			3
6. DESCRIPCIONES			7
6.1. Equipos			7
6.2. Reactivos			8
6.3. Materiales			8
7. DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO.			9
7.1. Linealidad y Rango			10
7.2. Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)			11
7.3. Exactitud			13
8. CRITERIOS DE ACEPTACION			14
9. CONCLUSIONES E INFORME TECNICO			15
10. DICTAMEN Y CERTIFICADO DE EVALUACION			17
ELABORADO POR: _____(FIRMA)		_____ (FIRMA)	
ANALISTA 1		ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 2 DE:17
<p>1. Introducción.</p> <p>Las tabletas de Furosemida 40mg son un medicamento de bastante utilidad y clasificado como diurético eficaz por vía oral, la Furosemida es un derivado del ácido antranílico. Los resultados de los estudios clínicos indican que tiene un amplio margen de seguridad y que su efecto diurético a dosis máximas es mayor que el de otros diuréticos.</p> <p>El Método Analítico al que se le determinan los parámetros de desempeño (Linealidad, Precisión y Exactitud) es una adaptación del método analítico por espectrofotometría ultra violeta descrito en la USP XXI.</p> <p>2. Objetivo.</p> <p>Demostrar mediante datos documentados que el método de análisis para la cuantificación de Furosemida tabletas de 40mg, cumple con los requerimientos de Exactitud, Precisión y Linealidad que exige la USP 29 y que proporciona resultados confiables dentro de los límites de aceptación establecidos.</p>			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 3 DE:17
<p>3. Alcance.</p> <p>Método de análisis que se utiliza para la determinación de parámetros de desempeño en el análisis cuantitativo de Furosemida tabletas de 40 mg por espectrofotometria ultra violeta, empleado en el área de análisis Físico-Químico del Departamento de Control de Calidad.</p> <p>4. Responsables.</p> <p>La responsabilidad de la evaluación de los parámetros de desempeño del método corresponde al Gerente o gestor de Calidad que es parte del Departamento de Control de Calidad.</p> <p>5. Definición y abreviaturas.</p> <p>Analito: componente específico de una muestra.</p> <p>Aprobación: Autorización de utilización del documento para su uso previsto.</p> <p>B.P.M: Buenas Prácticas de Manufactura.</p>			
ELABORADO POR: _____ (FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____ (FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____ (FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 5 DE:17
<p>Linealidad: Es la habilidad del método para producir resultados que son directamente (o mediante una transformación matemática) proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango dado. Es usualmente expresado en términos de la varianza alrededor de la inclinación de la línea de regresión calculada de acuerdo a una relación matemática establecida en términos de una representación gráfica.</p> <p>Método analítico: descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.</p> <p>Muestra: porción de material a evaluar.</p> <p>Parámetros de desempeño: parámetros específicos a estudiar en un protocolo.</p>			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE EMISION:	NUMERO:
			HOJA: 8 DE:17
<p>6.2 Reactivos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Agua destilada - Agua destilada libre de CO₂ - Estándar de trabajo de Furosemida 99.4% - Materia Prima de Furosemida 102.5% - Perlas de Hidróxido de sodio grado reactivo ACS - Solución de Hidróxido de Sodio 0.1N y 0.02N <p>6.3 Materiales y Cristalería</p> <ul style="list-style-type: none"> - Balón volumétrico de 2000.0 mL - Balón volumétrico de 1000.0 mL - Balón volumétrico de 500.0 mL - Balones volumétricos de 100.0 mL - Balones volumétricos de 50.0 mL 			
ELABORADO POR: _____(FIRMA)		_____ (FIRMA)	
ANALISTA 1		ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE EMISION:	NUMERO:
			HOJA: 9 DE:17
<ul style="list-style-type: none"> - Balones volumétricos de 25.0 mL - Beaker de nalgene de 50, 100 y 250 mL respectivamente. - Espátulas - Morteros y Pistilos. - Pipetas volumétrica de 1.0 y 2.0 mL - Probetas de 25 y 10 mL <p>7. Determinación de parámetros de desempeño.</p> <p>Los parámetros a evaluar son:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Linealidad - Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad) - Exactitud 			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO																			
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.																					
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:																		
			HOJA: 10 DE:17																		
<p>7.1 Linealidad.</p> <p>Se determina la linealidad del sistema a cinco niveles de concentración, por triplicado. Las concentraciones de trabajo son 80%, 90%, 100%, 110 y 120% sobre lo rotulado. Las distintas concentraciones se prepararán con estándares de trabajo adicionados a la muestra del medicamento de prueba (Furosemida tabletas 40mg). El análisis estadístico se realiza usando un programa en la computadora.</p> <p>Preparar las muestras patrón por pesadas independientes y preparar la curva de acuerdo a las siguientes diluciones:</p> <p>Tabla 1. Linealidad</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Numero de ensayos</th> <th>Cantidad a encontrar de Furosemida (mg)</th> <th>Porcentaje sobre lo rotulado 100%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>32</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>36</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>40</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>44</td> <td>110</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>48</td> <td>120</td> </tr> </tbody> </table>				Numero de ensayos	Cantidad a encontrar de Furosemida (mg)	Porcentaje sobre lo rotulado 100%	1	32	80	2	36	90	3	40	100	4	44	110	5	48	120
Numero de ensayos	Cantidad a encontrar de Furosemida (mg)	Porcentaje sobre lo rotulado 100%																			
1	32	80																			
2	36	90																			
3	40	100																			
4	44	110																			
5	48	120																			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2																			
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD																					
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD																					

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 12 DE:17
<p>El analista N°1 se ha de encargar de realizar los ensayos de Repetibilidad y Reproducibilidad en días diferentes y con el mismo instrumento de trabajo.</p> <ul style="list-style-type: none"> - El analista N°2 se ha de encargar de realizar los ensayos de Reproducibilidad en días diferentes e instrumentos diferentes. - Calcular a partir de las absorbancia obtenidas por concentración: el promedio, la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación para cada analista. <p>Repetibilidad</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilizar las concentraciones obtenidas en los ensayos de linealidad. - Calcular el promedio de la concentración obtenida en los análisis, la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación. - Comparar el porcentaje de coeficiente de variación. - Verificar que los resultados obtenidos cumplan con los criterios de aceptación. 			
ELABORADO POR: _____ (FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____ (FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____ (FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 15 DE:17
<p>9. Conclusión e Informe técnico</p> <p>9.1 Conclusiones</p> <p>Los resultados obtenidos en la evaluación del método analítico de Furosemida en tabletas de 40mg para la cuantificación de Furosemida en productos farmacéuticos orales, permiten establecer las siguientes conclusiones:</p> <p>Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la técnica analítica para la cuantificación de Furosemida en productos farmacéuticos orales según método analítico de la USP XXI, se determinan los parámetros de desempeño para garantizar la calidad química y para obtener resultados satisfactorios en las condiciones normales del laboratorio de Control de Calidad de un Laboratorio Farmaceutico Nacional; lamentablemente no se pudo comprobar que el método cumple con todos los parámetros de desempeño según la USP 29.</p>			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 16 DE:17
<p>9.2 Informe Técnico.</p> <p>Esquema del método:</p> <div style="text-align: center;"> <pre> graph TD A[Pesada del producto] --> B[Dilución con Hidróxido de Sodio 0.1N] B --> C[Reposo de la muestra por 30 minutos con agitación ocasional] C --> D[Dilución con Hidróxido de Sodio 0.2N] D --> E[Leer a 271 nm] </pre> </div>			
ELABORADO POR: _____(FIRMA) ANALISTA 1		_____ (FIRMA) ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA) NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: PROTOCOLO DE DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA TABLETAS DE 40 mg POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	NUMERO:
			HOJA: 17 DE:17
<p>Parámetros:</p> <p>Linealidad: cumple.</p> <p>Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad): cumple.</p> <p>Exactitud: No cumple.</p> <p>10. Dictamen y Certificado de Evaluación</p> <p>Una vez visto el informe técnico y estudiado toda la documentación anexa y teniendo en cuenta los resultados obtenidos para la cuantificación de Furosemida en tabletas 40 mg. Se determinan los parámetros de desempeño para obtener resultados satisfactorios en las condiciones del laboratorio de Control de Calidad para laboratorios nacionales; así se demuestra que los parámetros de Linealidad y Precisión cumplen con los criterios de aceptación establecidos para la determinación de parámetros de desempeño de un método analítico no así la Exactitud que no cumple con lo establecido.</p>			
ELABORADO POR: _____(FIRMA)		_____ (FIRMA)	
ANALISTA 1		ANALISTA 2	
AUTORIZADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			
REVISADO POR: _____(FIRMA)			
NOMBRE DEL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD			

CAPITULO VI
DISCUSION DE RESULTADOS

6.0 DISCUSION DE RESULTADOS

Precisión.

Se evaluó a través de Reproducibilidad y Repetibilidad:

Reproducibilidad: al evaluar la reproducibilidad del método se variaron los días de análisis, analistas e instrumentos obteniendo resultados de coeficiente de variación iguales a 0.3244% según especificación el coeficiente de variación para métodos químicos o espectrofotométricos no debe ser mayor de 3%₍₂₎ los resultados obtenidos demuestran que la variabilidad entre analistas, días e instrumentos no tiene significancia sobre el grado de tolerancia del método a estas fuentes de variación.

Repetibilidad: al evaluar el porcentaje del coeficiente de variación para los análisis realizados por el analista N° 1 se obtuvo un resultado de 0.4% que es menor al 3% que es el criterio requerido para cumplir con las especificaciones

Linealidad.

Se comprobó el cumplimiento de la linealidad del sistema en el intervalo de concentraciones estudiado obteniendo un valor de coeficiente de correlación (r^2) igual a 0.9923 siendo la especificación mayor o igual a 0.98 y su valor máximo uno lo que matemáticamente indica que mientras más cercano este el valor a la unidad mas lineal es la recta, el valor del coeficiente de variación de la

regresión resultó 1.35% si se tiene en cuenta que el valor aceptable debe ser menor o igual que 3 %. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en los ensayos de linealidad a cinco concentraciones 80%, 90%, 100%, 110% y 120% en una hoja electrónica se puede observar que la recta cumple con el requisito de corresponder a la ecuación $y = bx + a$. El término "a", que corresponde al intercepto de la recta posee un valor de - 0.0424, el cual se considera despreciable; por lo que se asume que la recta surge del origen (0,0). Por lo tanto al tratar los datos por medio de una hoja de cálculo la ecuación de la recta es igual a $y = 0.0128x - 0.0424$. El cálculo de la ecuación para la recta es el mismo para todas las concentraciones por lo que solo se realizó una vez.

Exactitud: al evaluar la exactitud se demuestra que el promedio del porcentaje de recuperación para las concentraciones del 100% y 120% tienen un valor de 77.55%, el cual no cumple con los valores establecidos para ensayos químicos de producto terminado los cuales son de 97-103%. Se determinó por medio de una tabla estadística de la distribución t de Student, que los valores de exactitud encontrados para el método, no son aceptables por lo tanto no es exacto.

CAPITULO VII
CONCLUSIONES.

7.0 CONCLUSIONES

1. Se determinaron los parámetros de desempeño Linealidad, Exactitud y Precisión del método analítico del ensayo de la monografía de Furosemida tabletas propuesto por la USP XXI, en donde de acuerdo a los resultados obtenidos los parámetros que cumplen con las especificaciones de la USP 29 son Linealidad y Precisión pero no la Exactitud.
2. Al evaluar el parámetro de Linealidad se obtuvieron resultados con los cuales se demostró que el método de análisis es Lineal ya que el Coeficiente de Correlación fue menor que 0.98 y el porcentaje de coeficiente de variación fue 1.35% demostrando que cumplen con las especificaciones de la USP 29.
3. Según los requerimientos de la USP 29 para métodos analíticos farmacopeicos el método utilizado es preciso ya que se obtuvo resultados en donde los coeficientes de variación fueron menores que 3 %, tanto para la Reproducibilidad y Repetibilidad siendo sus valores 0.3244% y 0.4% respectivamente.

4. De acuerdo a los resultados obtenidos no se pudo comprobar que el método es exacto, ya que el Porcentaje de Recuperación obtenido fue de 77.55 % y el que se esperaba obtener era el 100%; lo que demuestra que la Exactitud no cumple el criterio establecido por la USP 29.

5. El protocolo de validación se utiliza para evidenciar que el método de análisis es confiable y a la vez sirve como guía para llevar a cabo la validación del método analítico.

CAPITULO VIII
RECOMENDACIONES.

8.0 RECOMENDACIONES.

1. Utilizar este método de análisis, siempre y cuando se realice nuevamente el parámetro de Exactitud, con mayor número de repeticiones y aumentar el tiempo de agitación para la preparación de la muestra que representa la concentración al 120%; lo cual mejorará la incorporación de la materia prima a la muestra para demostrar el cumplimiento de dicho parámetro.
2. Evaluar la Linealidad diluyendo con excipiente el total de 20 tabletas para obtener las concentraciones del 80% y 90%; para facilitar la obtención de las concentraciones del 110% y el 120%, cargar las muestras para un total de 20 tabletas con materia prima de Furosemida; utilizar la técnica del ocho por 30 minutos consecutivos para obtener una mezcla homogénea antes de pesar las muestras que se realizan para este parámetro.
3. Realizar nueve repeticiones por un mismo analista para la evaluación de la Reproducibilidad y doce repeticiones en la evaluación de la Repetibilidad, seis análisis por cada analista en equipos y días diferentes; considerando ambas situaciones se obtiene un buen resultado para el parámetro de Precisión.

4. continuar en otro trabajo de investigación tomando como punto principal la repetición del parámetro de Exactitud y la determinación de los parámetros Especificidad e Intervalo, con lo cual se culminaría la validación y se comprobaría que el método de la USP XXI es confiable para su uso.
5. Poner datos generales en la parte de descripción de materiales, equipos y reactivos en la elaboración del protocolo para no cerrar la posibilidad de aumentar o disminuir el número de análisis en cualquier determinación.

GLOSARIO. (1, 2, 3)

Analito: sustancia que debe analizarse.

Blanco: sustancia preparada para la lectura final y que no contiene los analitos; puede ser blanco de reactivos o bien un blanco de la muestra problema.

Buenas Prácticas de Laboratorio: conjunto de reglas, procedimientos y prácticas adecuadas para asegurar la calidad e integridad de los datos generados por un laboratorio de análisis.

Calibración: actividad destinada a demostrar que un instrumento de medidas produce resultados dentro de los límites de error establecidos y comparables obtenidos con un sistema de referencia en un rango apropiado de medidas.

Certificación: es la actividad consistente en la emisión de documentos que acreditan públicamente que un producto, proceso, método, etc., se ajusta a las normas establecidas.

Coefficiente de variación: es la desviación estándar como fracción de la media normalmente se expresa en porcentaje.

Documentación: conjunto de información que sustenta una actividad realizada.

Estándar de referencia: producto homogéneo con propiedades específicas que ha sido analizado y certificado por un organismo cualificado y reconocido oficialmente.

Estándar de trabajo: producto homogéneo cuya riqueza ha sido calibrada frente a un patrón de referencia.

Garantía de calidad: sistema planificado de actividades cuyo propósito es asegurar que la calidad de los productos corresponde al uso al que se le destina.

Grados de libertad: número de categorías independientes que definen una muestra o una población.

Idoneidad: un sistema analítico es idóneo si responde en el momento de su utilización, a los requisitos fijados en la validación del método.

Media aritmética: suma de todas las observaciones divididas por el número de las mismas.

Método analítico: conjunto de operaciones necesarias para efectuar un análisis concreto.

Porcentaje de recuperación: es una expresión de la exactitud.

Protocolo de validación: descripción de las pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultado.

Varianza: suma de cuadrados de las diferencias entre los valores individuales de un grupo y la media aritmética del grupo dividido por el número de valores menos uno.

Validación: obtención de pruebas documentadas que demuestran que un método o proceso es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1 Castro Cels, G. y otros 1990, Validación de Métodos Analíticos, España.74p.
- 2 Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos-Biólogos México, AC, 2002, Guía de Validación de Métodos Analíticos, edición 2002, México 2002. 177p.
- 3 INSAFORP. (Instituto Salvadoreño de Formación Profesional) Seminario-Taller. 2002. Validación de Métodos Analíticos en La Industria Farmacéutica. San Salvador, El Salvador. 63 p.
- 4 ICAITI. (Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial) 1987 Procedimientos de muestreo y tablas para inspección por atributos, planes de muestra simple, doble y múltiple, con rechazo. Guatemala, C.A.
- 5 Samour López, RA y otros. 2005. Determinación Cromatografía de Gatifloxacin en una Solución Oftálmica de Producción Nacional. USAM (Universidad Alberto Masferrer). El Salvador, San Salvador. 85p

- 6 The Pharmaceutical Society of Great Britain. 2001. Clarke's Isolation and Identification of Drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material, segunda edición, Gran Bretaña. The Pharmaceutical Press. 634,635p.
- 7 The United States Pharmacopoeia Convention, Inc 2005. The Pharmacopoeia of United States, twentieth-nine revision (USP 29), and the National Formulary twentieth-four revision (NF 24), Rockville MD, USA.
- 8 The United States Pharmacopoeia Convention, Inc 1984. The Pharmacopoeia of United States, twentieth-first revision (USP XXI), and the National Formulary Sixteenth revision (NF 16), Parkway USPC , USA.
- 9 The United States Pharmacopoeia Convention Inc. 1960The Pharmacopoeia of United States, Sixteenth Revision, (USP XVI) , Easton,USA.
- 10 http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_1_02/far04102.htm.
Validación de los métodos analíticos para la identificación y cuantificación del Dextrometorfano jarabe. Consultado en mayo 2006.

- 11 http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_1_02/far04102.htm.
Validación del método analítico para el estudio de estabilidad del inyectable de Clonazepam 1 mg/mL consultado mayo 2006.

- 12 <http://www.findrxonline.com/medicina-archivos/furosemida.htm>
Furosemida (Zafimida) 2007. Consultado en Febrero 2007.

- 13 <http://www.frlp.utn.edu.ar/grupos/aepeq/lab.html>.
Más experiencias de laboratorio en espectrofotometría. Consultado en mayo 2006.

- 14 <http://www.libreriamedica8a.com/productos/1927.htm>.
Diccionario de especialidades farmacéuticas México 2004. Consultada en Febrero 2007.

- 15 <http://www.ministeriodesalud.go.cr/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>
Guía de validación de Métodos Analíticos, consultado en mayo 2006.

- 16 http://www.prof.uniandes.edu.co/~infquimi/analisis/aplica_espectrofotometria/aespectrofoto.htm.
Aplicaciones analíticas de la espectrofotometría. Consultado en junio 2006.

- 17 [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475151996000100009&script=sci_arttext&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475151996000100009&script=sci_arttext&lng=es)

Artículo de Revisión Centro de Química Farmacéutica Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos consultado en Abril 2006.

- 18 [http://rapidshare.com/files/25482333/Fundamentos de Quimica Analitica Skoog West Holler 8th.zip](http://rapidshare.com/files/25482333/Fundamentos_de_Quimica_Analitica_Skoog_West_Holler_8th.zip)

Fundamentos de Química Analítica. Consultado en julio del 2008.

ANEXOS.

ANEXO N°1
TRADUCCION DE LA MONOGRAFIA FUROSEMIDA TABLETAS
SEGÚN USP XXI.

Traducción de la monografía Furosemida Tabletas según USP XXI. ⁽⁸⁾

Tabletas de Furosemida

Las tabletas de Furosemida contienen no menos que el 90.0% y no más que el 110.0% de la cantidad rotulada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

Empaque y almacenamiento: preservar en contenedores bien cerrados y resistentes a la luz.

Estándares de referencia: Estándar de Referencia Furosemida USP. Secar a 105°C por 3 horas antes de su uso.

Estándar de Referencia ácido 4-cloro-5-sulfamoylantranílico USP. Mantener en contenedores bien cerrados y protegidos de la luz. No secar antes de usar.

Identificación: el espectro de absorción ultravioleta de la solución empleada para la medición de las absorbancias en el ensayo exhibe un máximo y un mínimo a la misma longitud de onda que una solución de Furosemida Estándar de Referencia USP, concomitantemente medidas.

Disolución <711>-

Medio: búfer fosfato pH 5.8 (ver soluciones búfer en la sección de reactivos, indicadores y soluciones); 900 mL.

Aparato 2: 50 rpm.

Tiempo: 30 minutos.

Procedimiento: determinar la cantidad disuelta de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ a partir de las absorbancias a la longitud máxima de absorción de 271 nm. De las porciones filtradas de solución de prueba adecuadamente diluida con búfer fosfato pH 5.8

en comparación con un estándar de concentración conocida de Furosemida Estándar de Referencia USP diluido en el mismo medio.

Tolerancia: no menos de 65%(Q) de la cantidad rotulada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ es disuelta en 30 minutos.

Uniformidad de dosis <905>: cumple los requerimientos.

Acido 4-cloro-5-sulfamoylantranilico. Pesar y llevar a polvo fino no menos de 20 tabletas, transferir una porción exacta de peso equivalente a 20 mg de furosemida a un balón volumétrico de 50 mL. Proceder como se indica en la prueba para Acido 4-cloro-5-sulfamoylantranilico bajo Furosemida empezando con agregar 5 mL dimetilformamida. No mas que el 0.8% es encontrado.

Ensayo.

Pesar y llevar a polvo fino no menos de 20 tabletas de Furosemida. Pesar exactamente una porción de polvo equivalente a 40 mg transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Agregar 25 mL de Hidróxido de Sodio 0.1N y dejar reposar por 30 minutos con agitación ocasional. Diluir a volumen con agua destilada y mezclar. Filtrar la solución, descartar los primeros 10 mL del filtrado y pipetiar 2 mL a un segundo balón volumétrico de 100 mL. Agregar Hidróxido de Sodio 0.02N llevar a volumen con este solvente y mezclar.

Disolver 10 mg exactamente pesados del Estándar de Referencia Furosemida USP en 6 mL de Hidróxido de Sodio 0.1N en un balón volumétrico de 25 ml y diluir con agua destilada a volumen. Diluir 2.0 mL de la solución resultante con Hidróxido de Sodio 0.02N para obtener una solución estándar de concentración

cercana a 8 ug/mL, concomitantemente determinar la absorbancia de ambas soluciones en celdas de 1 cm. a la longitud máxima de absorbancia de 271 nm. Con un espectrofotómetro adecuado; usando Hidróxido de Sodio 0.02N como blanco.

ANEXO N°2
LISTADO DE REACTIVOS

Reactivos.

- Agua destilada
- Agua destilada libre de CO₂
- Materia Prima de Furosemida 99.4%
- Estándar de trabajo Furosemida 102.2%
- Perlas de Hidróxido de sodio grado reactivo ACS
- Solución de Hidróxido de Sodio 0.1N y 0.02N

ANEXO N°3
LISTADO DE EQUIPO Y CRISTALERIA

Equipo.

- Balanza analítica.
- Baño ultrasonido.
- Espectrofotómetro ultravioleta-visible Lambda 2 marca Perkin Elmer.
- Espectrofotómetro ultravioleta-visible Shimadzu modelo UV-1700.

Cristalería.

- Balón volumétrico de 2000.0 mL
- Balón volumétrico de 1000.0 mL
- Balón volumétrico de 500.0 mL
- Balones volumétricos de 100.0 mL
- Balones volumétricos de 50.0 mL
- Balones volumétricos de 25.0 mL
- Beakes de nalgene de 50, 100 y 250 mL respectivamente.
- Espátulas
- Morteros y Pistilos.
- Pipetas volumétrica de 1.0 y 2.0 mL
- Probetas de 25 y 10 mL

ANEXO N°4
PREPARACION DE REACTIVOS HIDROXIDO DE SODIO 0.1N Y 0.02N.

Preparación del Hidróxido de Sodio 0.1N y 0.02N ⁽⁸⁾

Según farmacopea XVI, para Hidróxido de sodio 1 N se pesan 4.3 g de NaOH para 100 mL.

Cálculos para preparar 1.5 litros de la solución de Hidróxido de Sodio 0.1N

Hidróxido de Sodio 0.1N

$$4.3\text{g} \text{ ————— } 1\text{N} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

$$X \text{ ————— } 0.1\text{N} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

X= 0.43 g de Hidróxido de Sodio para 100 mL 0.1N

Para 1000 mL de Hidróxido de Sodio 0.1N.

$$0.43\text{g} \text{ ————— } 100 \text{ mL} \text{ ————— } 0.1\text{N}$$

$$X \text{ ————— } 1000 \text{ mL} \text{ ————— } 0.1\text{N}$$

X= 4.3 g de Hidróxido de Sodio para 1000 mL 0.1N

Para 500 mL de Hidróxido de Sodio 0.1N

$$0.43\text{g} \text{ ————— } 100 \text{ mL} \text{ ————— } 0.1\text{N}$$

$$X \text{ ————— } 500 \text{ mL} \text{ ————— } 0.1\text{N}$$

X= 2.15 g de NaOH en perlas para preparar 500 mL de NaOH 0.1 N

Técnica de preparación de la solución de Hidróxido de Sodio 0.1N

- Pesar exactamente en balanza analítica la cantidad de 4.3 g de Hidróxido de Sodio en un beaker de 100 mL. Y en otro beaker de 50 mL pesar exactamente 2.15 g de NaOH.
- En un beaker de 250 mL colocar agua destilada libre de CO₂ y agregar los 4.3 g de Hidróxido de Sodio (solución uno), en un beaker de 250 mL colocar agua destilada libre de CO₂ agregar los 2.15 g de NaOH antes pesados (solución dos) mezclar por separado ambas soluciones hasta disolución.
- En un balón de 1000.0 mL agregar la solución de Hidróxido de Sodio numero uno y llevar a volumen con agua destilada libre de CO₂. hacer lo mismo con la solución dos en balón de 500.0mL. Homogenizar.
- Reunir ambas soluciones en frasco plástico.
- Rotular.

Cálculos para preparar 2 litros de la solución de Hidróxido de Sodio 0.02N.

Hidróxido de Sodio 0.02N.

$$4.3\text{g} \text{ ————— } 1\text{N} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

$$X \text{ ————— } 0.02\text{N} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

X= 0.086 g de NaOH en perlas para preparar 100 mL de NaOH 0.02N.

Para 2000 mL de Hidróxido de Sodio 0.02 N.

$$0.086\text{g} \text{ ————— } 0.1\text{N} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

$$X \text{ ————— } 0.1\text{N} \text{ ————— } 2000 \text{ mL}$$

x= 1.720g de NaOH en perlas para preparar 2000 mL de NaOH 0.02N

Técnica de preparación de la solución de Hidróxido de Sodio 0.02N

- Pesar exactamente en balanza analítica la cantidad de 1.720 g de Hidróxido de Sodio en un beaker de 100 mL.
- En un beaker de 250 mL colocar agua destilada libre de CO₂ y agregar la cantidad de Hidróxido de Sodio antes pesada mezclar hasta disolución.
- En un balón de 2000.0 mL agregar la solución de Hidróxido de Sodio y llevar a volumen con agua destilada libre de CO₂. Homogenizar.
- Repetir la técnica de preparación de la solución de Hidróxido de Sodio 0.02N dos veces mas para hacer 6 litros.
- Reunir las tres partes en un contenedor plástico.
- Rotular

Observación:

Preservar la solución en frascos plásticos.

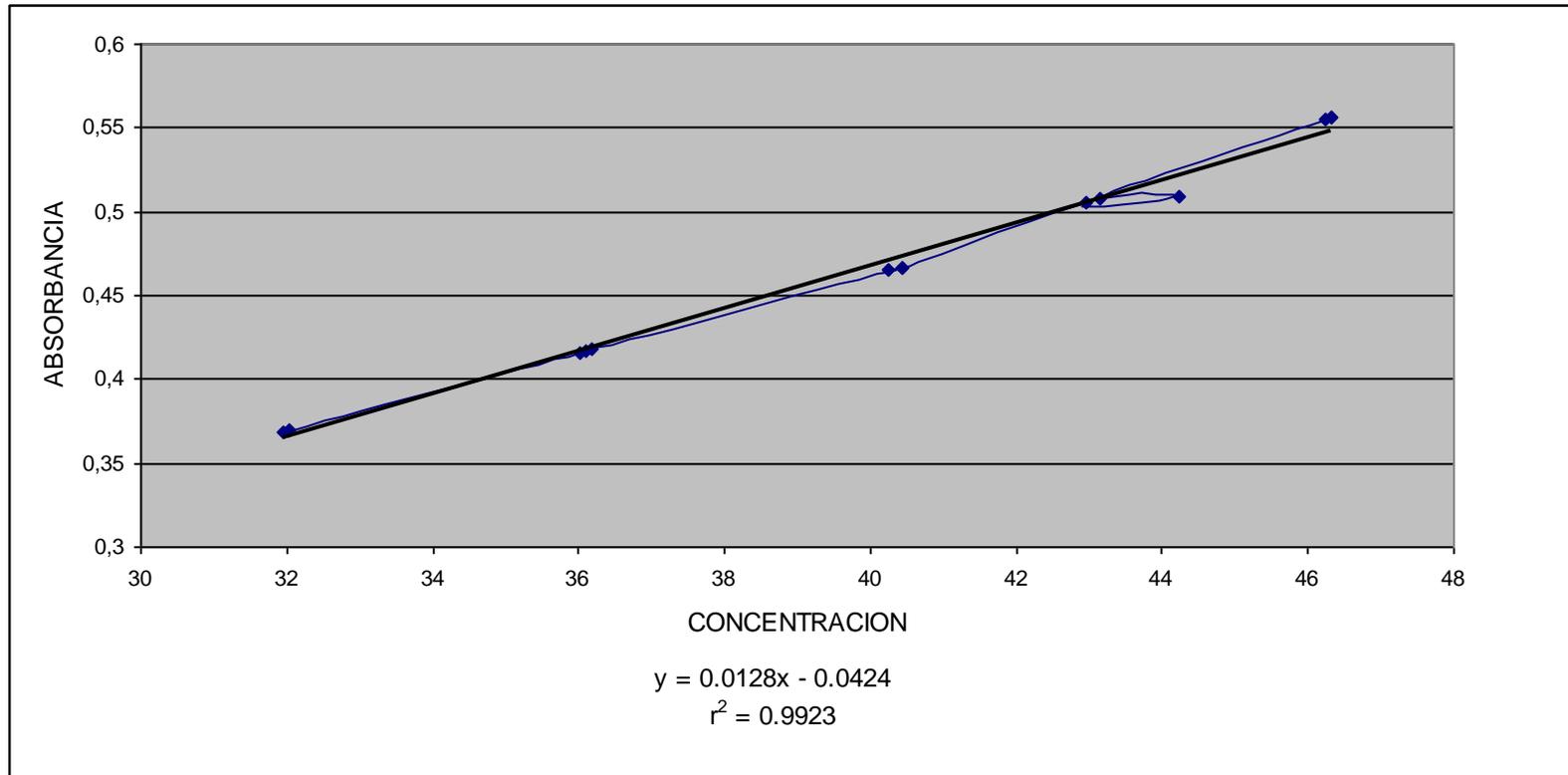
ANEXO N°5
TABLA N° 2 ESTADISTICA DE LA DISTRIBUCION t DE STUDENT.

Tabla estadística de la distribución t de Student. (2)

GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0,975}$	GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0,975}$	GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0,975}$
1	12,706	26	2,056	51	2,008
2	4,303	27	2,052	52	2,007
3	3,182	28	2,048	53	2,006
4	2,776	29	2,045	54	2,005
5	2,571	30	2,042	55	2,004
6	2,447	31	2,040	56	2,003
7	2,365	32	2,037	57	2,002
8	2,306	33	2,035	58	2,002
9	2,262	34	2,032	59	2,001
10	2,228	35	2,030	60	2,000
11	2,201	36	2,028	61	2,000
12	2,179	37	2,026	62	1,999
13	2,160	38	2,024	63	1,998
14	2,145	39	2,023	64	1,998
15	2,131	40	2,021	65	1,997
16	2,120	41	2,020	66	1,997
17	2,110	42	2,018	67	1,996
18	2,101	43	2,017	68	1,995
19	2,093	44	2,015	69	1,995
20	2,086	45	2,014	70	1,994
21	2,080	46	2,013	71	1,994
22	2,074	47	2,012	72	1,993
23	2,069	48	2,011	73	1,993
24	2,064	49	2,010	74	1,993
25	2,060	50	2,009	75	1,992

ANEXO N°6
GRAFICA DE LINEALIDAD Y RANGO.

Figura N°1 Grafica de Linealidad y Rango



ANEXO N°7
CERTIFICADOS DE CALIBRACION DEL ESPECTOFOTOMETRO N° 1
(SHIMADZU UV-1700).

CSE

COMPANIA DE SERVICIOS Y EQUIPOS

Urbanización Santa Teresa, Polígono C-2, No. 5
 Santa Tecla, El Salvador, C.A.
 TELS.: 2288-8333 y 2288-8360 FAX: 2287-0828
 E-MAIL: csc.general@telesal.net

REPORTE DE SERVICIO

Nº 008668

CLIENTE		FECHA
ENCARGADO		5 Julio 2006
EQUIPO (S)	ESPECTROFOTOMETRO	GARANTIA <input type="checkbox"/>
MARCA/MODELO	SHIMADZU / UV-1700	CONTRATO de SERVICIO <input checked="" type="checkbox"/>
No. SERIE		SERVICIO A COBRAR <input type="checkbox"/>
No. INVENTARIO	CC-030	INSTALACION <input type="checkbox"/>
DIAGNOSTICO		SERVICIO AL CLIENTE <input type="checkbox"/>
VISITA DE MANTENIMIENTO PREVENTIVO.		OTROS <input type="checkbox"/>
ACCION		
<ul style="list-style-type: none"> - LIMPIEZA EXTERNA E INTERNA - REVISION DE TARJETA ELECTRONICA - REVISION DE CABLES Y CONECTORES - REVISION DE ALINEACION DE LAMPARAS - REVISION Y LIMPIEZA DE PORTACELOAS - SE ENCIENDE EQUIPO, ESTE COMIENZA SU PROGRAMA DE INICIALIZACION Y AUTO PRUEBA, TODOS LOS PUNTOS CHEQUEADOS LOS PASA. - REVISION DE EXACTITUD FOTOMETRICA CON ESTANDAR DE ABSORBANCIA A 525nm. (VER ANEXO) - REVISION DE EXACTITUD DE LONGITUD DE ONDA CON ESTANDAR DE OXIDO DE HIGRIMO (VER ANEXO). - REVISION GENERAL DE FUNCIONAMIENTO. 		
COMENTARIOS ADICIONALES		MATERIALES UTILIZADOS
EQUIPO ES CONFIABLE EN LECTURAS DE ABSORBANCIA Y LONGITUD DE ONDA.		

ORIGINAL - CLIENTE

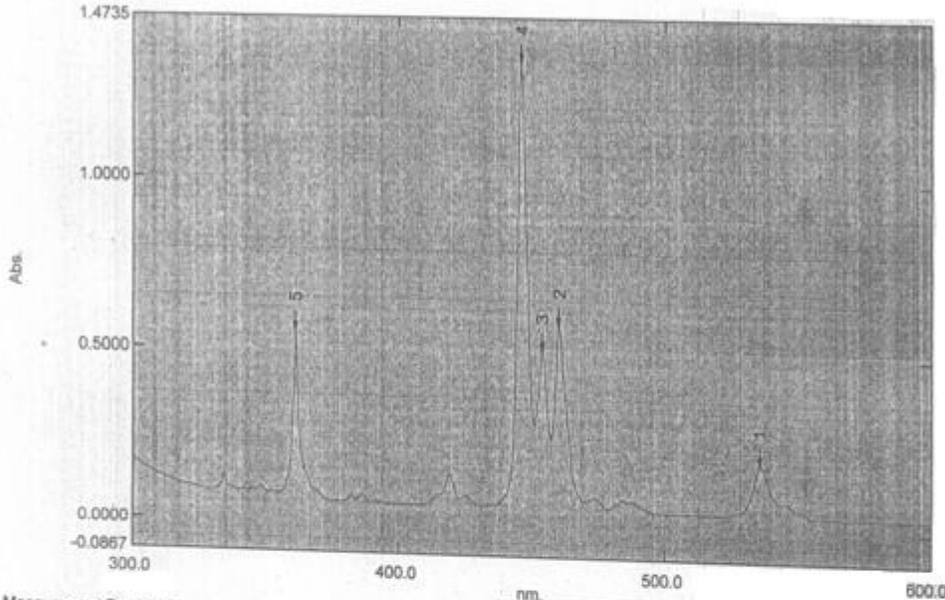

 CSE


 Cliente - Aceptado

Spectrum Peak Pick Report

05/07/2006 01:49:03 p.m.

Data Set: RawData



Measurement Properties
 Wavelength Range (nm): 300.0 to 600.0
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 0.2
 Auto Sampling Interval: Enabled
 Scan Mode: Single

Sample Preparation Properties
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Instrument Properties
 Instrument Type: UV-1700 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1.0 nm
 Light Source Change Wavelength: 364.0 nm
 S/R Exchange: Normal

Attachment Properties
 Attachment: None

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	536.2	0.1935	Nominal 536.6nm
2	●	460.2	0.5780	
3	●	453.8	0.5034	
4	●	445.8	1.3435	
5	●	360.8	0.5504	Nominal 360.8nm

**EXACTITUD DE LONGITUD DE ONDA.
 ESTANDAR DE OXIDO DE HOLMIO
 PICOS NOMINALES:
 P1= 536.6 NM
 P2= 360.8 NM.**

CRITERIO DE VALIDACION: +/- 1NM

ANEXO N°8
CERTIFICADOS DE CALIBRACION DEL ESPECTOFOTOMETRO N° 2
(LAMBDA 2).

CSE

COMPAÑIA DE SERVICIOS Y EQUIPOS

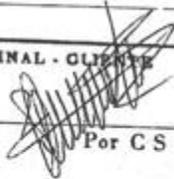
Urbanización Santa Teresa, Polígono C-2, No. 5
 Santa Tecla, El Salvador, C.A.
 TELS.: 2288-8333 y 2288-8360 FAX: 2287-0828
 E-MAIL: csc-general@telesal.net

REPORTE DE SERVICIO

Nº 008612

CLIENTE		FECHA	
ENCARGADO		25 Julio 2006	
EQUIPO (S)		GARANTIA	<input type="checkbox"/>
MARCA/MODELO	ESPECTROFOTOMETRO	CONTRATO de SERVICIO	<input checked="" type="checkbox"/>
No. SERIE	P.E. / LAMBDA 2	SERVICIO A COBRAR	<input type="checkbox"/>
No. INVENTARIO		INSTALACION	<input type="checkbox"/>
DIAGNOSTICO		SERVICIO AL CLIENTE	<input type="checkbox"/>
VISITA DE MANTENIMIENTO PREVENTIVO.		OTROS	<input type="checkbox"/>
ACCION			
- LIMPIEZA EXTERNA E INTERNA.			
- REVISION DE TARJETAS ELECTRONICAS			
- REVISION DE CABLES Y CONECTORES			
- REVISION DE ALINEACION DE LAMPARAS			
- REVISION Y LIMPIEZA DE BACK DE FILTROS			
- REVISION Y LIMPIEZA DE PORTACELDAS			
- REVISION DE EXACTITUD FOTOMETRICA CON ESTANDAR DE ABSORVANCIA A 525nm			
VALOR NOMINAL 1.000 ± 0.004 ABS			
VALOR LEIDO 0.994 ABS.			
- REVISION DE EXACTITUD DE LONGITUD DE ONDA CON ESTANDAR DE OXIDO DE HOLMIO.			
- REVISION GENERAL DE FUNCIONAMIENTO.			
COMENTARIOS ADICIONALES		MATERIALES UTILIZADOS	

ORIGINAL - CLIENTE

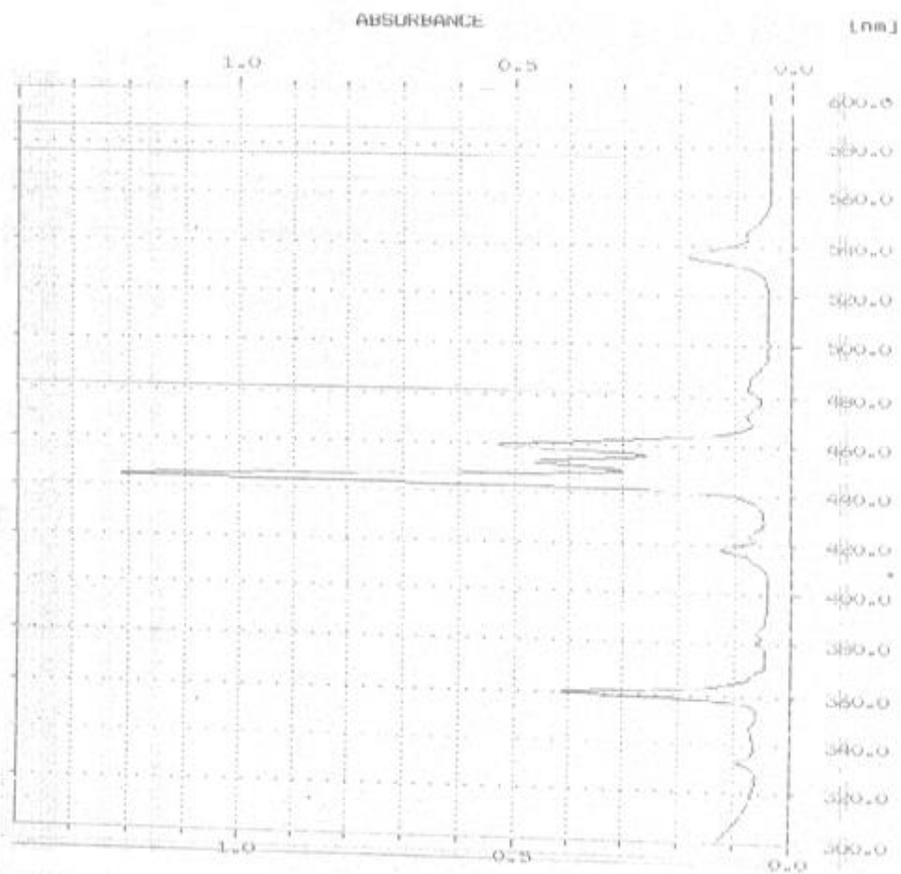

 Por CSE


 Cliente - Aceptado

PERKIN-ELMER LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER
DATE: 00/01/01 TIME: 00:11:53

METHOD NO.: 4 SCAN/MAN

OPERATOR ID: 250706



THRESHOLD : 0.100

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	00:15	535.8 nm (MAX)	0.189 ABS
		500.6 nm (MIN)	0.043 ABS
		459.3 nm (MAX)	0.534 ABS
		456.2 nm (MIN)	0.264 ABS
		452.9 nm (MAX)	0.468 ABS
		449.4 nm (MIN)	0.306 ABS
		445.0 nm (MAX)	1.216 ABS
		398.4 nm (MIN)	0.045 ABS

ANEXO N°9
CERTIFICADO DE CALIBRACION DE BALANZA ANALITICA.



LABORATORIO DE METROLOGIA INDUSTRIAL

Certificado de Calibración

CERTIFICATE OF CALIBRATION

Nombre del cliente:

Customer

Dirección:

Address

No. de Certificado:

Certificate number

07HB-MB004

Fecha de Calibración:

Calibration date

2007-01-08

Instrumento / magnitud:

Instrument

Balanza de 200 g / 5,0 mg / Masa

Marca:

Manufacturer

Mettler Toledo

Modelo:

Model/Type

AB204-S

No. de serie:

Serial number

1127470493

Resultado de Calibración:

Calibration result

Ver hojas anexas.

Incertidumbre:

Uncertainty

Ver hojas anexas.

Factor de Cobertura:

Coverage Factor

2

Nivel de Confianza:

Confidence level

2 σ

Condiciones Ambientales de

Medición:

Environmental conditions of measurement

Temperatura 21 °C \pm 1 °C; Humedad Relativa 52% \pm 5 % y Presión 939 mbar.

Procedimiento utilizado:

Procedure

Por comparación con masas patrón Sartorius clase E1, según norma OIML R76-1

Calibró:
Calibrated by

Héctor Bartera
Administración Masas y Balanzas



Aprobó:
Approved by

Ing. Carolina Nuila

Directora de Laboratorios de Metrología y Materiales

Fecha de emisión: 2007-01-08
Date

Página 1 de 4

Resultados de la calibración:**I. Prueba de excentricidad:**

Por comparación, tomando la lectura de la balanza, cuando se colocaron las masas patrón sobre el porta masas en las posiciones indicadas en la Figura I, dando como resultado el valor de la Tabla I. Este resultado se interpreta como la máxima diferencia debida a cargas excéntricas.

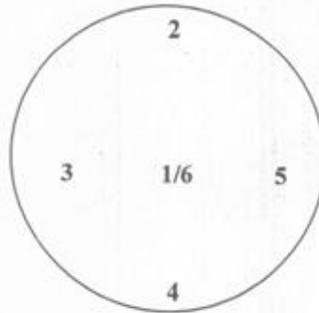


Figura I. Posiciones de masa para realizar la prueba de excentricidad

Tabla I. Prueba de excentricidad

Masa de referencia g	Intervalo de excentricidad de la balanza, g
65,000	0,0003

Calibró:
Calibrated by

Hec. Héctor Barrera.
Metrología Masas y Balanzas



Aprobó:
Approved by

Inga. Carolina Nuila
Directora de Laboratorios de Metrología y Materiales

Fecha de emisión: 2007-01-08
Date

I. Prueba de repetibilidad

En esta prueba se busca la desviación estándar de la balanza, de ambos valores de carga, al 50% y al 100% de la capacidad empleada, y agregando la contribución de incertidumbre de la resolución de la balanza.

Tabla II. Valores de carga al 50% de la capacidad empleada: 100 g

Lectura N°	Sin carga, g	Valor obtenido, g	Sin carga, g	Valor corregido, g
1	0,0000	100,0006	0,0000	100,0006
2	0,0000	99,9995	0,0000	99,9995
3	0,0000	99,9995	0,0000	99,9995
4	0,0000	99,9999	0,0000	99,9999
5	0,0000	99,9999	0,0000	99,9999
Desviación estándar:				0,0005
Incertidumbre de la resolución:				0,00003

Tabla III. Valores de carga al 100% de la capacidad empleada: 200 g

Lectura N°	Sin carga, g	Valor obtenido, g	Sin carga, g	Valor corregido, g
1	0,0000	199,9993	0,0000	199,9993
2	0,0000	199,9995	0,0000	199,9995
3	0,0000	199,9994	0,0000	199,9994
4	0,0000	199,9993	0,0000	199,9993
5	0,0000	199,9995	0,0000	199,9995
Desviación estándar:				0,0001
Incertidumbre de la resolución:				0,00003

Calibró:
Calibrated by

Hec. Héctor Barrera,
Metrología Masas y Balanzas.



Aprobó:
Approved by

Inga. Carolina Nuila
Directora de Laboratorios de Metrología y Materiales

Fecha de emisión: 2007-01-08
Date

I. Prueba de linealidad

En esta prueba se determina la linealidad de los resultados de la balanza, efectuando la prueba con intervalos de 10% en 10% de la capacidad empleada, en forma ascendente y descendente.

Tabla IV. Resultados de la prueba de linealidad.

Masas de referencia, g	Lectura corregida en la unidad bajo prueba y la masa patrón, g	Incertidumbre expandida con un nivel de confianza del 95% para los puntos U, ± g
20,0000	-0,0002	0,0009
40,0000	-0,0002	0,0009
60,0000	-0,0002	0,0009
80,0000	-0,0004	0,0009
100,0000	0,0001	0,0009
120,0000	-0,0001	0,0009
140,0000	-0,0003	0,0009
160,0000	-0,0002	0,0009
180,0000	-0,0003	0,0010
200,0000	-0,0003	0,0010

La máxima incertidumbre total expandida para el intervalo definido por las masas de calibración utilizadas es de $\pm 0,0010$ g, $k = 2$, con un nivel de confianza del 95%.

La cadena de trazabilidad está garantizada con patrones de trabajo clase F1, Marca Sartorius serie: 81227301, 2006/03, con trazabilidad al DKD Sartorius de Alemania.

La incertidumbre expandida está basada en la "Guide to the Expression of Uncertainty of Measurements (GUM)" del Buró Internacional de Pesas y Medidas (BIPM) y es igual a:

$$K u_c = 2 \sqrt{\sum_i u_i^2 + \sum_j u_j^2(x_j)} = U_{\text{Expandida}}$$

Donde u_i es la incertidumbre Tipo A basada en la desviación estándar de un gran número de mediciones, y $u_j(x_j)$ es la incertidumbre tipo B para cada componente conocido, cuantificada por una desviación estándar. El factor de cobertura 2, utilizado por el Laboratorio de Metrología es consistente con la práctica internacional.

El presente certificado sólo ampara las mediciones reportadas en el momento y condiciones en que se realizó esta calibración. El Laboratorio de Metrología no otorga ninguna característica diferente al instrumento, de las descritas en este documento. Es responsabilidad del usuario el recalibrar el instrumento en intervalos apropiados.

No se permite la reproducción total o parcial de este documento.

Calibró:
Calibrated by

Tec. Héctor Barrera
Metrología Masas y Balanzas

Aprobó:
Approved by

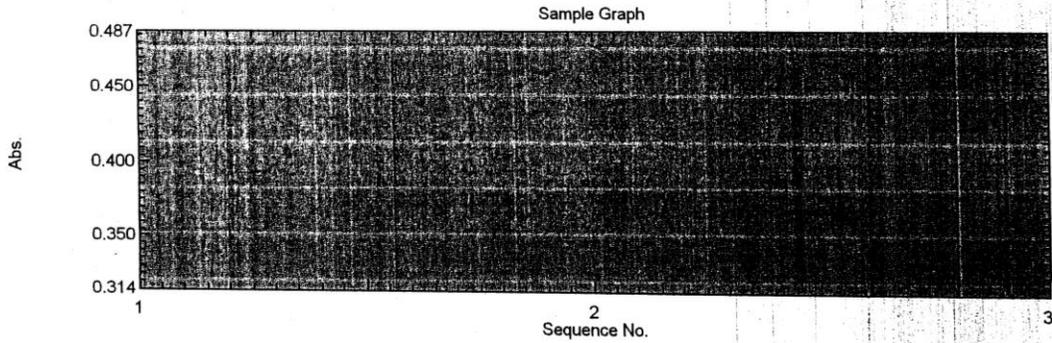
Inga. Carolina Nuila
Directora de Laboratorios de Metrología y Materiales

Fecha de emisión: 2007-01-08
Date

Sample Table Report

05/07/2006 02:10:00 p.m.

File Name: C:\Archivos de programa\Shimadzu\UVProbe\Data\Old Data\Ver1
DataFile_060705_140029.pho



**EXACTITUD FOTOMETRICA.
ESTANDAR DE ABSORBANCIA A 525 NM.
VALOR NOMINAL:
1.000 +/- 0.004 ABS.**

CRITERIO DE VALIDACION: +/- 0.01 ABS

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL525.0	Comments
1	1	Unk-Repeat			0.000	
2	1-2	Unk-Repeat			1.003	Valor Nominal:
3	1-3	Unk-Repeat			0.000	1.000 +/- 0.004 Abs
4	1-4	Unk-Repeat			1.000	
5	1-5	Unk-Repeat			1.000	
6	1-6	Unk-Repeat			1.000	
7	1-7	Unk-Repeat			0.000	
8	1-8	Unk-Repeat			0.999	
9	1-9	Unk-Repeat			0.999	
10	1-10	Unk-Repeat			1.000	
11	1-Avg	Average		*****	0.700	Avg of preceding 10 Samples
12						

ANEXO N°10
CERTIFICADO DE ANALISIS DE LA MATERIA PRIMA FUROSEMIDA.



Ipca laboratories Limited

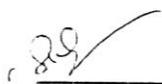
P. O. SEJAVTA 457 002. DIST. RATLAM (M. P.)

**QUALITY DIVISION
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

NAME OF THE PRODUCT : FUROSEMIDE / FRUSEMIDE BP/Ph.Eur	
BATCH SIZE : 659.0 Kgs	BATCH No. : 4006HRII
MFG. DATE : Feb. 2004	A.R. No. : IBD - 04160
EXP. DATE : Jan. 2009	DATE : 07/02/2004

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS
CHARACTERS	A white or almost white, crystalline powder, practically insoluble in water, soluble in acetone, sparingly soluble in alcohol, practically insoluble in Methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides. It melts at about 210°C, with decomposition.	Conforms
IDENTIFICATION	A. Conforms by ultraviolet absorption spectrophotometry. B. Conforms by infrared absorption spectrophotometry. C. A violet - red colour develops.	Conforms Conforms Conforms
RELATED SUBSTANCES	<u>Conforms by liquid chromatography :</u> Individual impurity - NMT 0.25% Sum of impurities - NMT 0.5%	0.06% 0.17%
CHLORIDES	Not more than 200 ppm	Less than 200 ppm
SULPHATES	Not more than 300 ppm	Less than 300 ppm
HEAVY METALS	Not more than 20 ppm	Less than 20 ppm
LOSS ON DRYING	Not more than 0.5% w/w	0.32% w/w
SULPHATED ASH	Not more than 0.1% w/w	0.09% w/w
ASSAY	98.5% - 101.0% w/w (odb)	100.2% w/w (odb)

REMARKS : The above sample **CONFORMS** as per BP/Ph.Eur Specifications


ANALYST
DATE : 29/03/2004


MANAGER QUALITY CONTROL
DATE OF PRINT : 29/03/2004

ANEXO N°11
CERTIFICADO DE ANALISIS DE LA ESTANDAR DE FUROSEMIDA.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT: **FUROSEMIDE BP/EP/USP**

Manuf. Date: 08/2005
 Expiry Date: 07/2010

BATCH: **A02B05055**

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS
DESCRIPTION	White or almost white powder.	A almost white crystalline powder.
SOLUBILITY	Practically insoluble in water, soluble in acetone, sparingly soluble in alcohol, slightly soluble in ether practically insoluble in methylene chloride, dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.	Complies
IDENTIFICATION	A. By U:V. B. By colour test.	Complies Complies
MELTING POINT	Melts at about 210°C with decomposition	About 212°C with decomposition.
RELATED SUBSTANCES	Single impurity: NMT 0.25%	0.098%
By HPLC	Total impurity: NMT 0.50%	0.180%
CHLORIDES	NMT 200 ppm	Complies
SULPHATES	NMT 300 ppm	Complies
HEAVY METALS	NMT 20 ppm	Complies
LOSS ON DRYING	NMT 0.5%	0.28%
SULPHATED ASH	NMT 0.1%	< 0.060%
ASSAY	98.5% - 101.0% odb	99.40% (odb)
PARTICLE SIZE	100% < 65 Microns	Complies
BULK DENSITY	In house test	0.34 gm/cc

Conclusion: the sample complies with respect to the tests mentioned in BP/EP/USP.

We confirm that this is true and correct copy of the manufacturer's original Certificate of Analysis for this produce/batch.

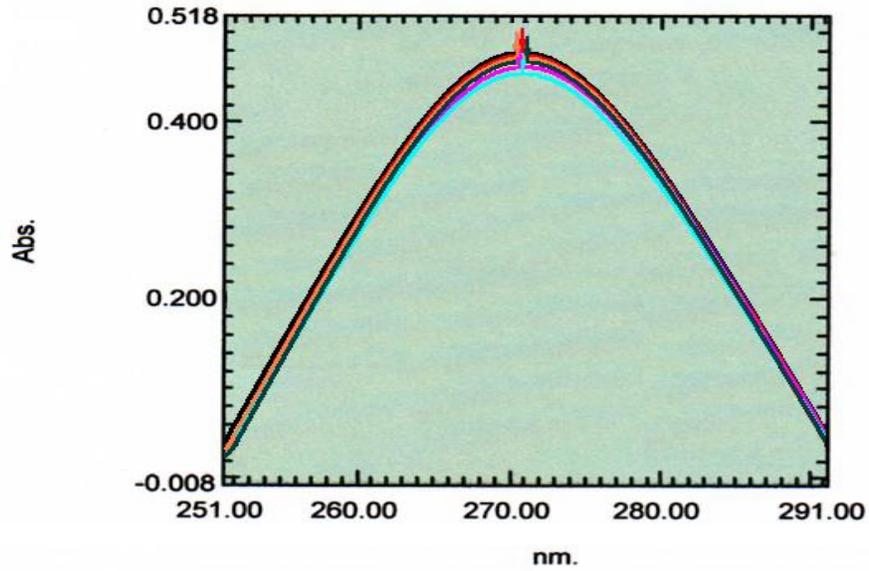
FARMABASE Pharmaceutical
 Raw Materials

Corso Rosmini, 66
 38068 Rovereto (Italy)
 P.O.Box 120
 "Roma Center" Building

Phone: +39 0464 421996 - 424246
 Fax: +39 0464 421985
 Email: fabioec@tin.it
Farmabase@hotmail.com

VAT/P.I.: IT 01285580229
 C.F.: CCH FBA 62T18 H612E
 C.C.I.A.A.: 127370
 Pos.Mec.: TN 011775

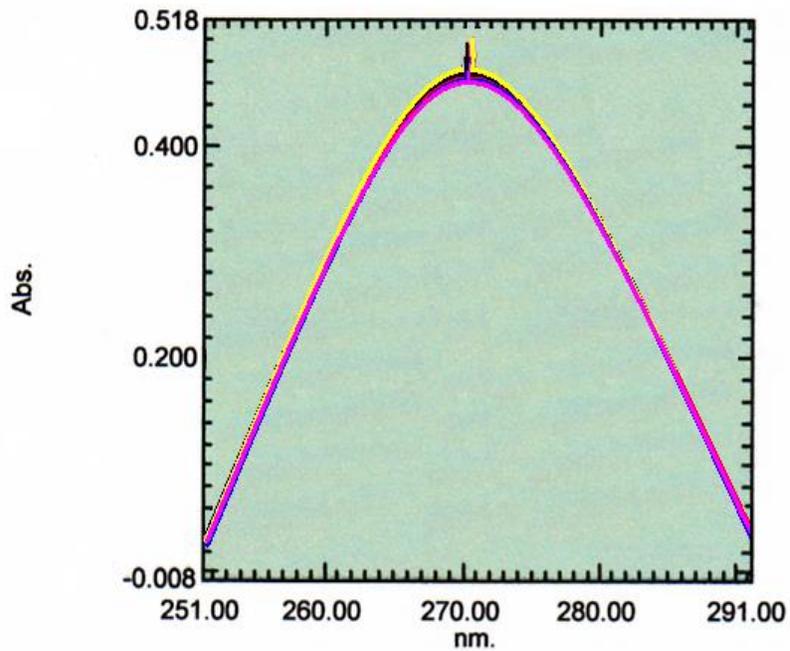
ANEXO N°12
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA REPETIBILIDAD.



	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
St	1	●	270.80	0.463	
Mx 1	1	●	270.30	0.469	
Mx 2	1	●	270.30	0.469	
Mx 3	1	●	270.40	0.467	
Mx 4	1	●	270.70	0.465	
Mx 5	1	●	270.50	0.469	
Mx 6	1	●	270.70	0.467	
Mx 7	1	●	270.60	0.469	
Mx 8	1	●	270.50	0.465	
Mx 9	1	●	271.10	0.465	

Figura № 2 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Repetibilidad.

ANEXO N°13
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
REPRODUCIBILIDAD DEL ANALISTA 1.



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.80	0.462	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.468	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.468	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.40	0.468	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.70	0.466	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.50	0.466	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.70	0.466	

Figura № 3 Resultados de la Cuantificación de Furosemda en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad de analista 1.

ANEXO N°14
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
REPRODUCIBILIDAD DEL ANALISTA 2.

PERLIN-ELMER
LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER

METH 40 SCAN/MAN

SAMPLE ID -----

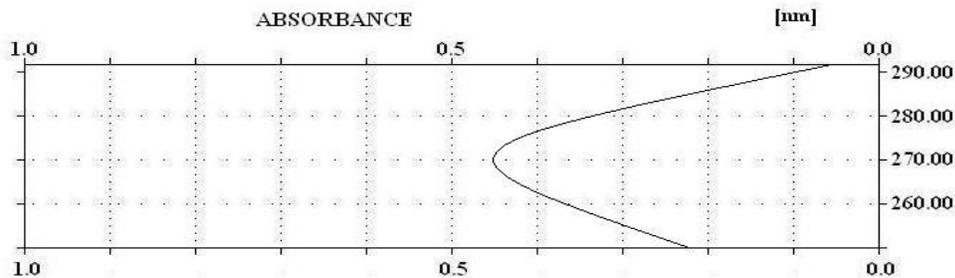
OPERATOR ID -----

ORDINATE MODE	ABS	:	GRAPHICS PLOT	YES
WAV. MAX	291NM	:	ORD.MAX	1.0 ABS
WAV. MIN	251NM	:	ORD.MIN	0.000 ABS
SPEED	120 NM/MIN	:	SCALE	10.0 NM/CM
SMOOTH	2 NM	:	GRID	YES
LAMP	UV+VIS	:	OVERLAY	NO
BACK CORR	YES	:	PRINT DATA	YES
SAMPLES/BATCH	7	:	THRESHOLD	YES
START SAMPLE	1	:	AUTO METHOD	YES
CYCLES	1	:	OPER. ID	210307
CYCLE-TIME	0.1MIN	:	SAMPLE ID	1

PERKIN-ELMER LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER
DATE: 00/01/01 TIME: 02:01:43

METHOD NO.: 40 SCAN/MAN

SAMPLE ID: 1



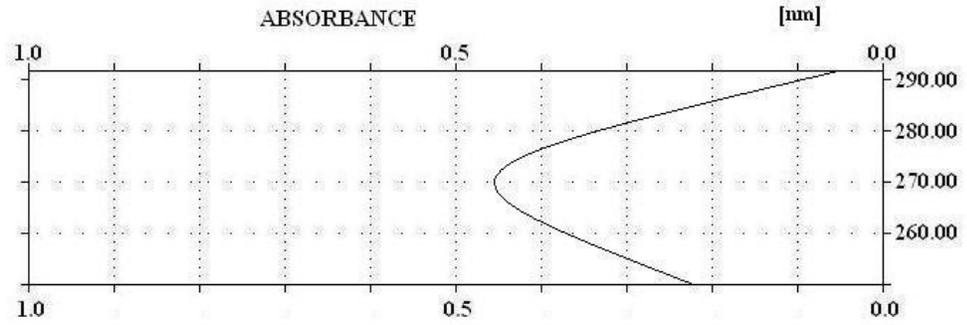
OPERATOR ID: 210307

THRESHOLD : 0.000

BATCH: 001

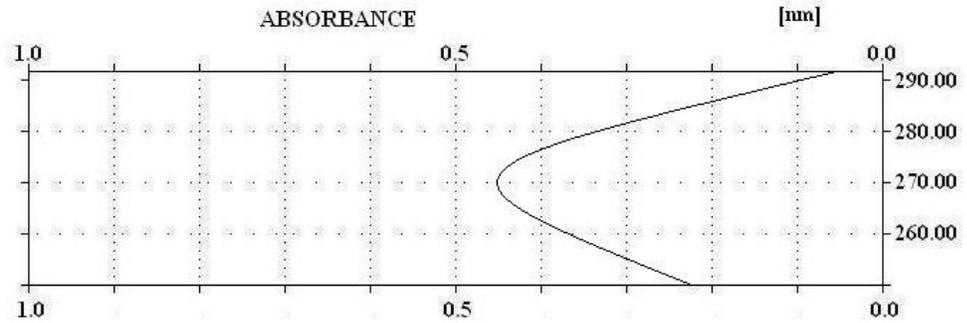
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	00:09	270.2 nm (MAX)	0.461 ABS

Figura № 4 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad de analista 2.



BATCH: 001

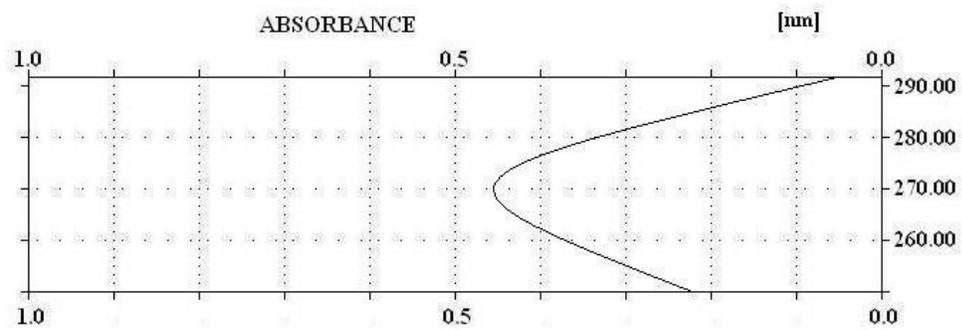
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
002	00:10	270.2 nm (MAX)	0.468 ABS



BATCH: 001

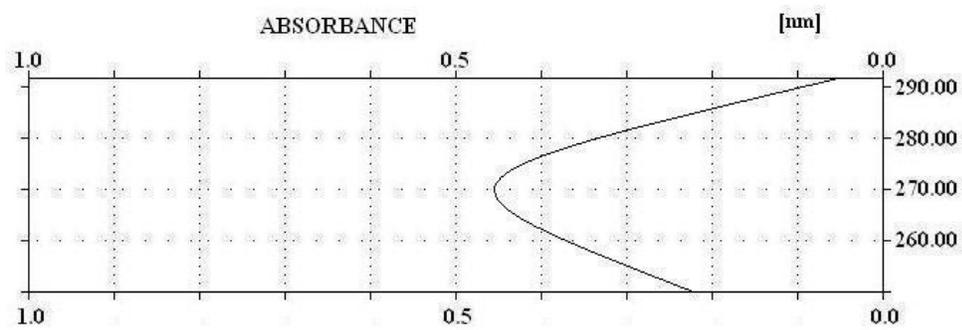
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
003	00:11	270.2 nm (MAX)	0.465 ABS

Figura № 4 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad de analista 2.



BATCH: 001

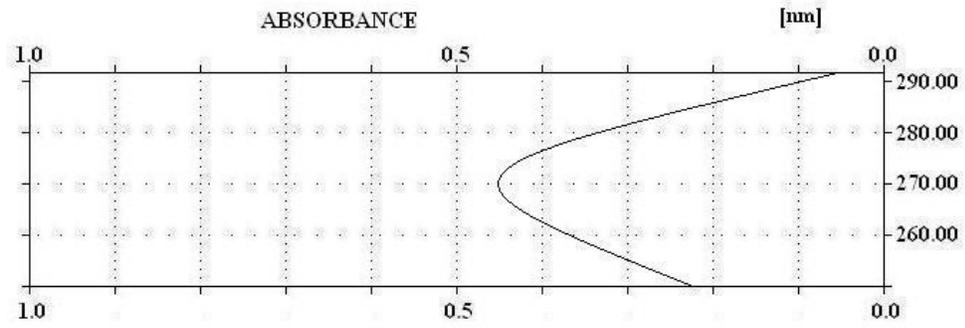
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
004	00:12	270.2 nm (MAX)	0.468 ABS



BATCH: 001

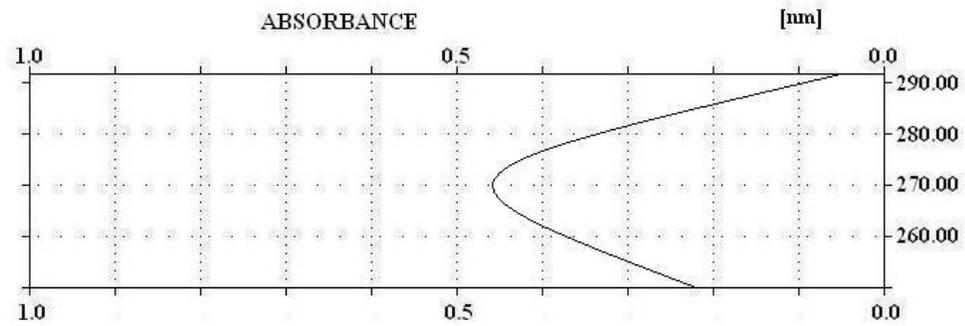
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
005	00:13	270.2 nm (MAX)	0.468 ABS

Figura № 4 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad de analista 2.



BATCH: 001

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
006	00:14	270.2 nm (MAX)	0.465 ABS

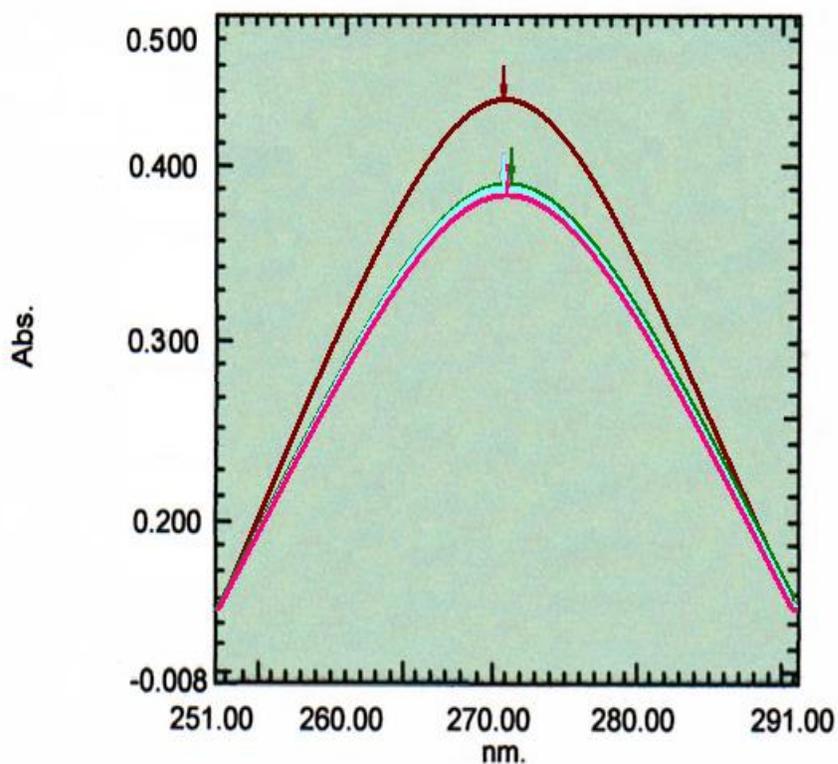


BATCH: 001

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
007	00:15	270.2 nm (MAX)	0.469 ABS

Figura № 4 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Reproducibilidad de analista 2.

ANEXO N°15
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA LINEALIDAD Y RANGO AL 80 %.



St

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.70	0.462	

Mx1

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.70	0.370	

Mx2

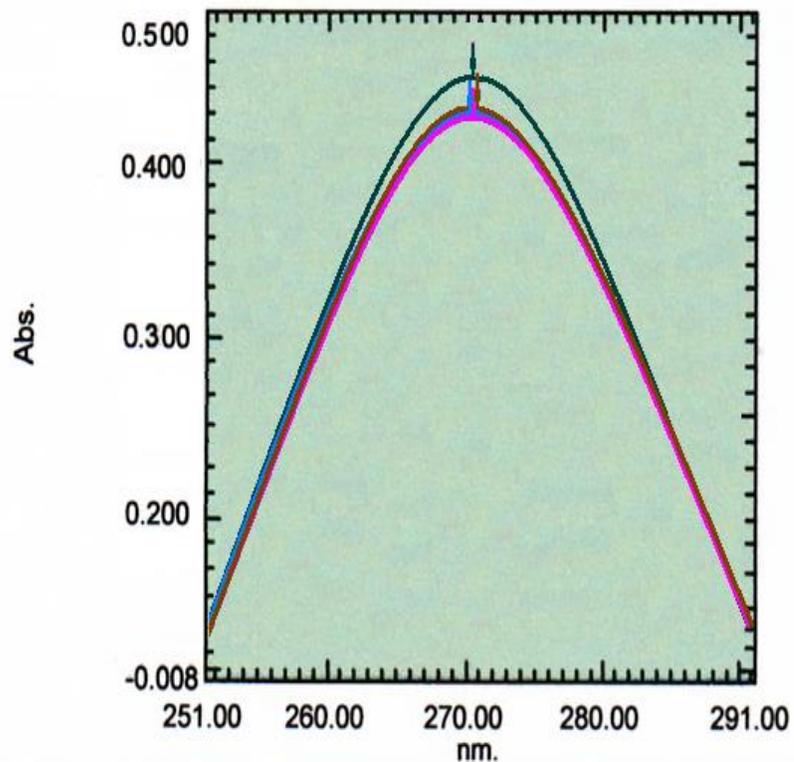
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.70	0.370	

Mx3

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.70	0.369	

Figura № 5 Resultados de la Cuantificación de Furosemda en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 80%.

ANEXO N°16
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA LINEALIDAD Y RANGO AL 90 %.



St	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.70	0.462	

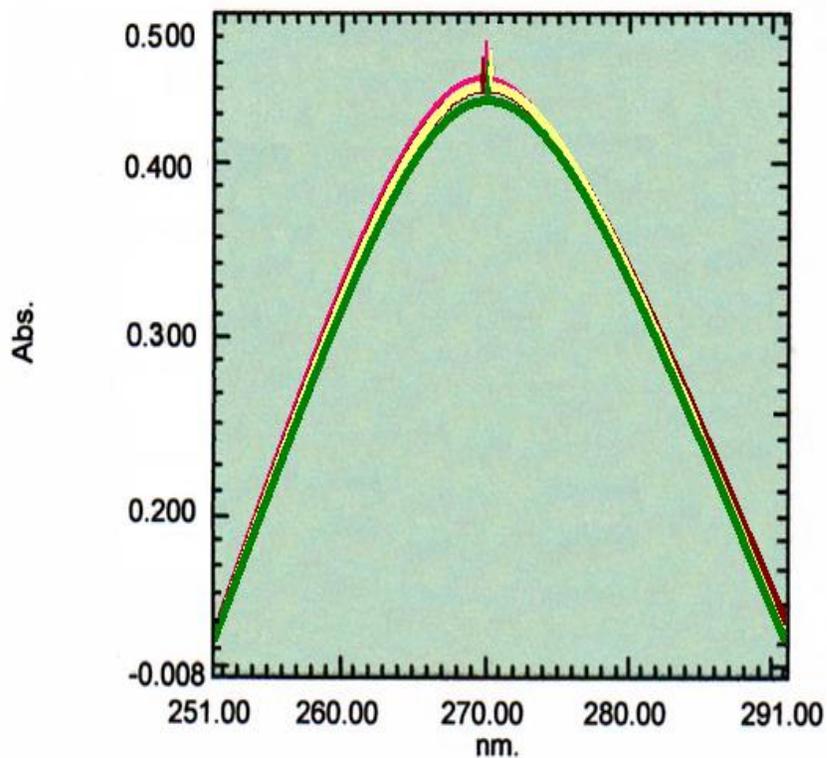
Mx1	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.40	0.416	

Mx2	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.80	0.418	

Mx3	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.70	0.417	

Figura № 6 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 90%.

ANEXO N°17
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA LINEALIDAD Y RANGO AL 100 %.



St	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.70	0.462	

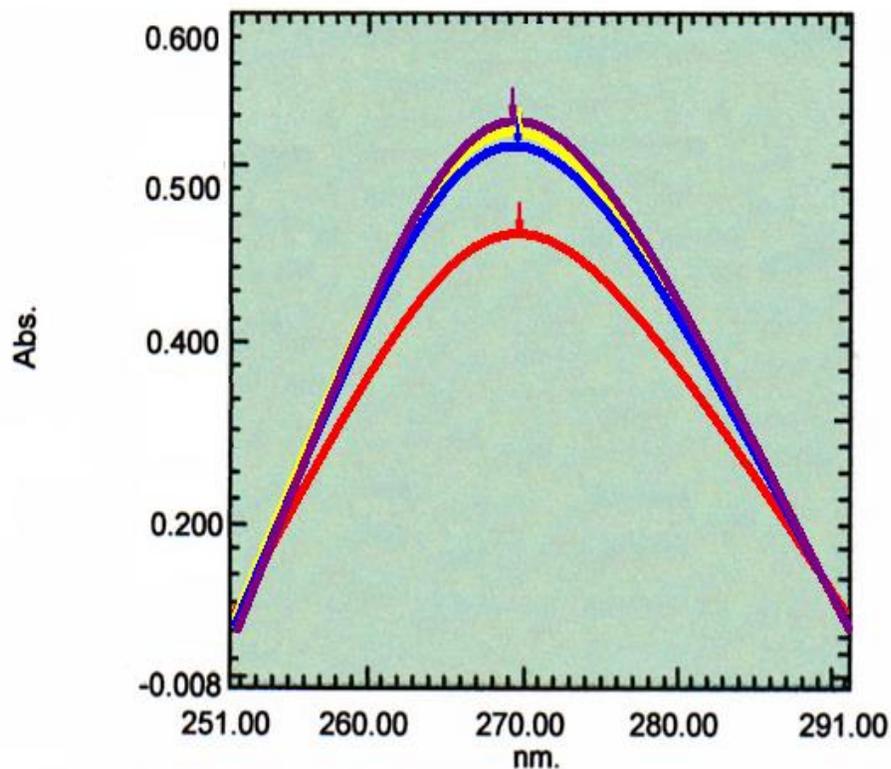
Mx1	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.80	0.467	

Mx2	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.40	0.465	

Mx3	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.80	0.467	

Figura № 7 Resultados de la Cuantificación de Furosemdida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 100%.

ANEXO N°18
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA LINEALIDAD Y RANGO AL 110 %.



St

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.70	0.462	

Mx1

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.80	0.508	

Mx2

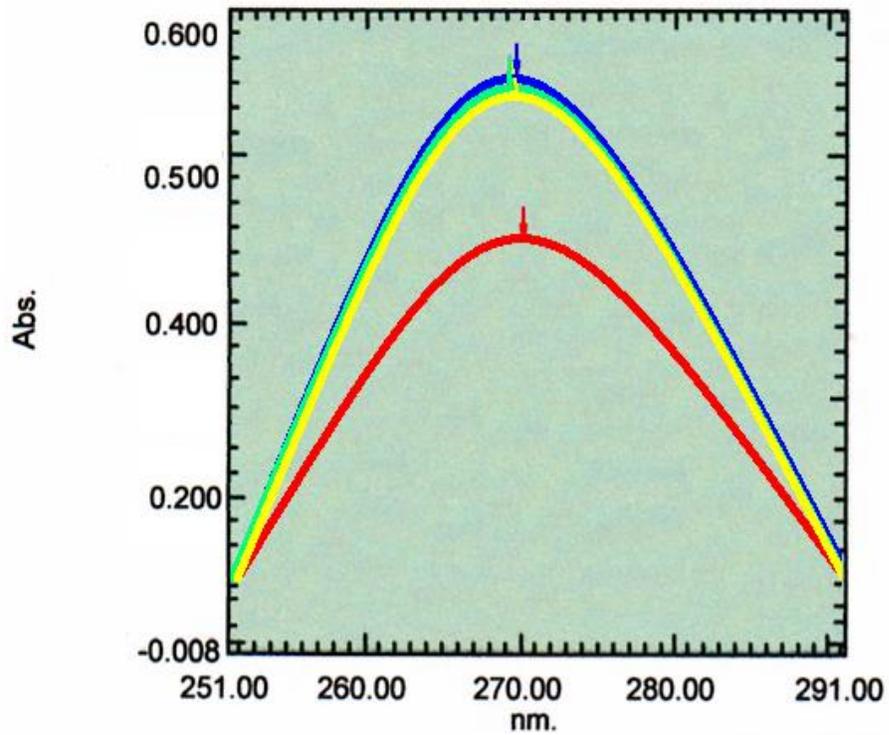
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.80	0.509	

Mx3

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	270.40	0.506	

Figura № 8 Resultados de la Cuantificación de Furoseמידa en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 110%.

ANEXO N°19
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA LINEALIDAD Y RANGO AL 120 %.



St	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.70	0.462	

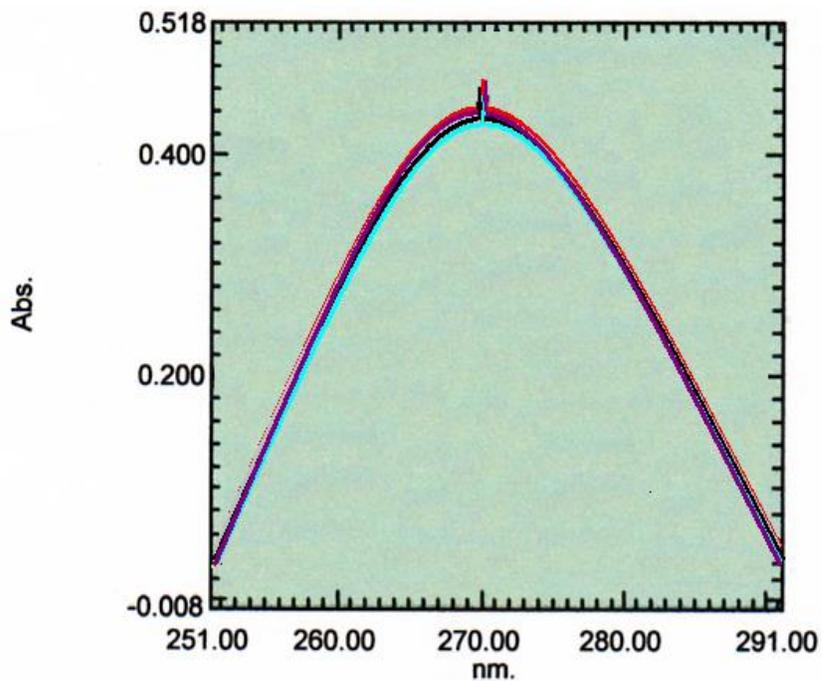
Mx1	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.80	0.556	

Mx2	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.40	0.555	

Mx3	No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
	1	⊕	270.80	0.556	

Figura № 9 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Linealidad y Rango al 120%.

ANEXO N°20
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA EXACTITUD AL 100 %.



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.80	0.462	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.463	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.463	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.40	0.464	

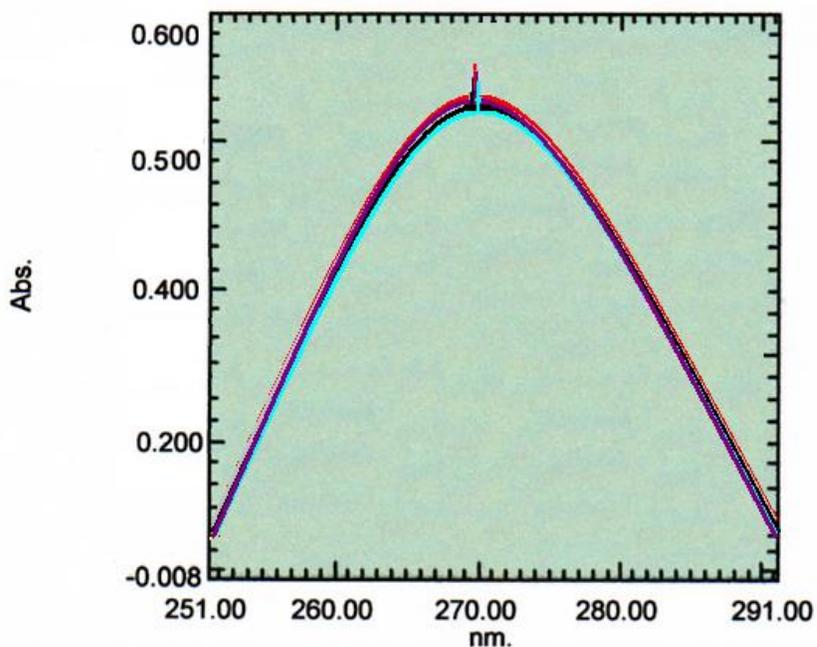
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.70	0.462	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.50	0.464	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.80	0.463	

Figura № 10 Resultados de la Cuantificación de Furosemda en tabletas de 40 mg para la Exactitud al 100%.

ANEXO N° 21
CUANTIFICACION DE FUROSEMIDA EN TABLETAS DE 40 MG PARA
LA EXACTITUD AL 120 %.



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.80	0.462	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.555	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.30	0.555	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.40	0.557	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.70	0.555	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.50	0.556	

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	270.70	0.556	

Figura № 11 Resultados de la Cuantificación de Furosemida en tabletas de 40 mg para la Exactitud al 120%.

ANEXO N°22
TABLA N°3 PARA ENCONTRAR LETRA CLAVE PARA EL TAMAÑO
DE LA MUESTRA.

Letras clave para el tamaño de la muestra

Tamaño del lote o partida			Niveles especiales de inspección				Niveles generales de inspección		
			S-1	S-2	S-3	S-4	I	II	III
2	a	8	A	A	A	A	A	B	
9	a	15	A	A	A	A	B	C	
16	a	25	A	A	B	B	C	D	
26	a	50	A	B	B	C	D	E	
51	a	90	B	B	C	C	E	F	
91	a	150	B	B	C	D	F	G	
151	a	280	B	C	D	E	G	H	
281	a	500	B	C	D	E	H	J	
501	a	1200	C	C	E	F	J	K	
1201	a	3200	C	D	E	G	K	L	
3201	a	10000	C	D	F	G	L	M	
10001	a	35000	C	D	F	H	M	N	
35001	a	150000	D	E	G	J	N	P	
150001	a	500000	D	E	G	J	P	Q	
500001	y	mayores	D	E	H	K	Q	R	

ANEXO N°23
TABLA N° 4 MILITARY ESTANDAR.

Tabla II-A Planes de Muestreo simple para inspección normal (Tabla maestra)

(Véase los numerales 9.2.1 a 9.2.3)

Letra Clase para el tamaño de mues- treo	Tamaño de la MUESTRA	Niveles de Calidad Aceptable (Inspección Normal)																									
		0.010	0.015	0.025	0.040	0.065	0.10	0.15	0.25	0.40	0.65	1.0	1.5	2.5	4.0	6.5	10	15	25	40	65	100	150	250	400	650	1000
		Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re	Ac	Re
A	2	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
B	3	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
C	5	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
D	8	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
E	13	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
F	20	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
G	32	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
H	50	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
J	80	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
K	125	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
L	200	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
M	315	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
N	500	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
P	800	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
Q	1250	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	
R	2000	→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→		→	

→ = Debe usarse el primer plan de muestreo bajo la flecha. Si el tamaño de la muestra es igual o mayor que el tamaño del lote o de la partida, se debe hacer inspección 100%.
 ← = Debe usarse el primer plan de muestreo sobre la flecha.

Ac = Número de aceptación.
 Re = Número de rechazo.

PLANES
 MUESTREO
 SIMPLE
 NORMAL.

ANEXO N°24

**TABLA N° 5 CONTROL DE EXISTENCIA DE MEDICAMENTOS
MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL**

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOLCIAL
CONTROL DE EXISTENCIAS DE MEDICAMENTOS

UNIDAD DE SALUD:

CODIGO	PRODUCTO	FECHA DE AGOTADOS O RECIBIDOS A = AGOTADOS R = RECIBIDOS							
		U/M							
0-03-11600	PIRAZINAMIDA 500MG. TAB. RANUR. EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-03-11805	RIFAMPICINA 300 MG. CAPS. EMP. PRIM. IND.	CTO							
ANTIMICOTICOS									
0-04-10700	GRISEOFULVINA MICRONIZADA 500MG. TAB. RANUR. EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-04-11400	NISTATINA 100.000 U/ML. SUSF. ORAL FRACO GOTERO O FRASCO CON GOTERO 50-60 ML.	C/U							
ANTISEPTICOS Y AGENTES URINARIOS									
0-06-10600	FENAZOPIRIDINA CLORHIDRATO 200 MG. TAB. O GRAGEA, EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-06-11405	NITROFURANTOINA MACROCRISTALES 100 MG. CAPS. EMP. PRIM. IND.	CTO							
MEDICAMENTO DE USO CARDIOVASCULAR									
0-04-01600	PROPRANOLOL CLORHIDRATO 40 MG. TAB. RANRU. EMP. PRIM. IND.	CTO							
INHIBIDORES DE ENZIMAS CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA									
0-07-40500	LEVO-ALFAMETILDOPA 500MG. TAB.	CTO							
0-07-405005	ENALAPRIL MALEATO 20MG. TAB. RANUR, EMP. PRIM. IND.	CTO							
DIGITALICOS									
0-07-70405	DIGOXINA 0.25MG TABLETA RANUR. EMP. PRIM. IND.	CTO							
ADRENERGICOS									
0-07-91000	EFEDRINA SULFATO 25MG/ML. SOL. INY. AMPOLLA 1ML.	C/U							
0-07-91005	EPINEFRINA 1MG/ML. SOLUC. INY. APOLLA 1ML.	C/U							
DIURETICOS									
0-08-10605	FUROSEMIDA 40MG. TABLETA EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-08-10800	HIDROCLOROTIAZIDA 25MG. TAB. RANUR. EMP. PRIM. IND.	CTO							
ANTICOAGULANTE, ANTAGONISTAS, HEMOSTATICOS									
0-09-10100	ASPIRINA 100MG. TAB EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-09-10600	FITOMENADIONA 10 MG/ML. SOLUC. INY. M.O.I.V. AMP. 1ML	C/U							
ANTIARTRITICOS, ANTIRREUMATICOS ANTINFLAMATORIOS, NO ESTEROIDES									
0-10-10405	DICLOFENAC SODICO 25MG/ML SOL. INY. AMP. 3ML.	C/U							
0-10-10900	IBUPROFENO 100MG/5ML. SUSP. ORAL FCO. 100ML.	C/U							
0-10-10905	IBUPROFENO 400MG. TAB O GRAGEA. EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-10-10910	INDOMETACINA 25MG. CAPS. EMP. PRIM. IND.	CTO							
URICOSURICOS, ANTIGOTOSOS									
0-11-10100	ALOPURINOL 300MG. TAB. RANUR. EMP. PRIM. IND.	CTO							
ANALGESICOS NO NARCOTICOS									
0-12-10100	ACETAMINOFEN 120-160ML/5ML. JARABE FCO 120ML	C/U							
0-12-10105	ACETAMINOFEN 500MG. TAB. RANUR. EMP. EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-12-10110	ACETAMINOFEN 150-300MG. SUPOSITARIOS, EMP. PRIM. IND.	CTO							
0-12-10400	DIPIRONA MAGNESICA O SODICA 500MG/ML. SOLUCION INY. AMP. 2ML.	C/U							
ANESTESICOS LOCALES									
0-15-11200	LIDOCAINA CLORHIDRATO 2% SOLUCION INY. FCO. VIAL 50ML.	C/U							