

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



VALIDACION DE LA PRUEBA DE ENSAYO PARA MENTOL Y ALCANFOR EN
UNGUENTO POR CROMATOGRAFIA DE GASES.

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACION
PRESENTADO POR:

ROSA ERLINDA LUNA PORTILLO

LISSETH CONCEPCION ORTEGA LOPEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO, 2023

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

M.Sc. Ena Edith Herrera Salazar

TRIBUNAL EVALUADOR

**ASESOR DE ÁREA DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y
VETERINARIOS**

Licda. Reina Maribel Galdámez

**ASESOR DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS**

M.Sc. Eliseo Ernesto Ayala

DOCENTE ASESOR

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a DIOS, por guiar mi camino y brindarme fuerza, fortaleza, sabiduría y perseverancia para poder cumplir una meta más.

A mi Padre Juan Ortega y a mi Madre Alicia de Ortega, por brindarme siempre su amor incondicional, apoyo, consejos y motivación. A mis hermanos y hermanas por siempre estar a mi lado.

A TODOS LOS DOCENTES, Asesores de tesis Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, MSc. Ena Edith Herrera Salazar y Lic. Alma Jeanethe Mina, jurado calificador, directora de procesos de graduación, directores de área y docentes por compartir su conocimiento, consejos y por ayudarme a formar mi carrera profesional.

A LECC, por permitirnos desarrollar la investigación en sus instalaciones, por darme la oportunidad de ser una persona mas competente en mi área laboral, por su apoyo y paciencia durante el proceso de tesis.

Lisseth Concepción Ortega López

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi padre Jehová Dios, por permitirme vivir y culminar mi carrera como profesional, cuando he perdido las fuerzas me ha sostenido, ha guiado mis pasos por el camino correcto y reconozco que sin él no puedo subsistir en este mundo.

Agradezco a mis padres Ovidio Misael Luna Orellana y Blanca Rosa Portillo de Luna por el apoyo que siempre me han brindado, tanto en sentido económico como moral. Han dado todo lo que ha estado en sus manos con el objetivo de verme triunfar en el ámbito seglar, me han dado muchos ánimos para seguir adelante y nunca rendirme.

También agradezco a mis docentes asesores de Tesis Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, MSc. Ena Edith Herrera Salazar y Lic. Alma Jeanethe Mina por el apoyo y disposición que me han aportado en el desarrollo de mi trabajo de graduación.

A mi compañera de Tesis, Lisseth Concepción Ortega López, por la enorme paciencia que me ha tenido y permitirme trabajar a su lado en el presente trabajo de graduación.

Rosa Erlinda Luna Portillo

INDICE GENERAL

	Pág. N°
RESUMEN	14
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCION	xvii
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	20
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	22
3.1 Formas Farmacéuticas	22
3.2 Definiciones y generalidades de unguento	24
3.3 Monografías	26
3.3.1 Monografía de Mentol	26
3.3.2 Monografía de alcanfor	28
3.4 Cromatografía de gases	30
3.5 Validación de métodos analíticos	32
3.5.1 Tipos de validación	33
3.5.2 Clasificación del método	33
3.5.3 Parámetros de validación	35
3.6 Requerimientos de la validación de métodos analíticos	53
3.6.1 Protocolo de validación	55
3.6.2 Informe de validación	55
CAPITULO IV	

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO	57
4.1 Tipo de estudio	57
4.2 Investigación bibliográfica	57
4.3 Investigación de campo	57
4.3.1 Universo	58
4.3.2 Muestra	58
4.4 Parte experimental	59
4.4.1 Procedimiento para la validación de mentol y alcanfor	59
4.4.1.1 Condiciones cromatográficas	59
4.4.1.2 Preparación de las soluciones de trabajo	60
4.4.2 Protocolo de validación de mentol y alcanfor ungüento	61
4.4.3 Informe de validación de mentol y alcanfor ungüento	66
CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	69
5.1 Protocolo de validación de mentol y alcanfor ungüento	69
5.2 Informe de validación de mentol y alcanfor ungüento	88
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	113
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	115
BIBLIOGRAFIA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

TABLA N°		Pág.
1.	Elementos a considerar para realizar la selectividad de un método analítico.	36
2.	Elementos a considerar para la realización de los parámetros de intervalo de trabajo e intervalo lineal.	37
3.	Elementos a considerar para la realización del parámetro de exactitud	40
4.	Elementos a considerar para la realización del parámetro de precisión	42
5.	Elementos a considerar para determinar el Límite de detección y de cuantificación	45
6.	Elementos a considerar para determinar la robustez	47
7.	Modelo de Youden para la determinación de las combinaciones de variables	48
8.	La incertidumbre será evaluada conforme a lo detallado en el siguiente cuadro	50
9.	Parámetros a validar para métodos Normalizados	50
10.	Parámetros a validar para métodos Normalizados Modificados	51
11.	Parámetros a validar en métodos no Normalizados	51
12.	Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos fisicoquímicos	53
13.	Especificidad/Selectividad para mentol y alcanfor	92
14.	Linealidad del sistema para mentol	93
15.	Linealidad del sistema para alcanfor	95

16.	Linealidad del método para mentol	97
17.	Linealidad del método para alcanfor	99
18.	Exactitud para mentol	101
19.	Exactitud para alcanfor	102
20.	Precisión intermedia, reproducibilidad y repetibilidad de mentol	103
21.	Precisión intermedia, reproducibilidad y repetibilidad de alcanfor	105
22.	Resumen de resultados para mentol y alcanfor	107

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág.
1.	Gráfico concentración teórica vrs área para mentol	94
2.	Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para mentol	94
3.	Gráfica concentración teórica vrs área para el alcanfor	95
4.	Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para alcanfor	96
5.	Gráfico concentración teórica vrs área para el mentol	98
6.	Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para mentol	98
7.	Gráfico concentración teórica vrs área para alcanfor	99
8.	Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para alcanfor	100
9.	RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos	122
10.	Tabla de distribución T - student	124
11.	Tabla de Distribución Fischer	125
12.	Ejemplo de Cromatograma de estándar mentol y alcanfor	133
13.	Ejemplo de cromatograma de muestra	134
14.	Ejemplo de Cromatograma de Selectividad	136
15.	Ejemplo de Cromatograma de Linealidad del sistema	137
16.	Ejemplo de Cromatograma de Linealidad del método (condición 1)	138

17.	Ejemplo de Cromatograma de exactitud y precisión	139
18.	Ejemplo de Cromatograma de Linealidad del método (condición 2) repetibilidad y reproducibilidad	140

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Consumibles y equipos utilizados
- 2 RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.
- 3 Tablas estadísticas
- 4 Cascada de dilución de estándar y muestra para la validación de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases.
- 5 Ejemplos de cálculos realizados en la validación
- 6 Cromatogramas de la valoración de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases.
- 7 Cromatogramas de la validación de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases

RESUMEN

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo Validar la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por Cromatografía de Gases. Para realizar este estudio se analizó el producto de Vick Vaporub reconocido comercialmente. Este producto contiene en su formulación los activos mentol y alcanfor que son de interés para realizar la validación del método de análisis. Para lograr una mejor homogenización en la muestra se seleccionaron 20 tarros al azar del mismo lote en la presentación de 50 g de ungüento, los cuales se adquirieron en un supermercado en el centro comercial Las Terrazas, por ser un lugar ubicado en una zona céntrica de fácil acceso.

El estudio se realizó en un laboratorio de tercería muy reconocido nacional e internacional, el cual se llevo a cabo, en los meses de junio a agosto del año 2019 y de acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio, estos fueron comparados con los criterios de aceptación definidos por el RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.

Se comprobó el cumplimiento de los parámetros de desempeño analítico; así también se puede comprobar que el método de análisis por cromatografía de gases, para la cuantificación de mentol y alcanfor para el producto de Vick vaporub ungüento que rotula mentol y alcanfor, cumple con las especificaciones establecidas.

La validación de la metodología expuesta en el presente trabajo queda terminada, aun así, se recomienda realizar más investigaciones, para validar nuevos métodos analíticos que ayuden a garantizar la calidad de productos farmacéuticos y/o cosméticos.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La validación se define como la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establecen características de desempeño del método. Para garantizar que la formula farmacéutica es efectiva y de calidad, es importante validar el método de cuantificación o ensayo del analito, utilizando un método analítico confiable que sea selectivo y permita resultados veraces.

Los ungüentos que en su formulación contienen mentol y alcanfor son indicados para aliviar la congestión nasal, tos y además ejerce una acción analgésica media sobre la zona de aplicación, aliviando los dolores musculares. Debido a sus propiedades terapéuticas estos productos han sido utilizados desde hace muchos años en niños y adultos, por lo que las autoridades decidieron mantener un registro de los productos que pueden ser comercializados en el país.

Según la Dirección Nacional de Medicamentos (DNM), para el registro de un nuevo producto farmacéutico, debe cumplir con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.59:11 Productos farmacéuticos. Medicamentos de uso humano. Requisitos de registro sanitario; el cual aplica no solo para el registro de El Salvador, sino en todos los países de Centroamérica. Además, este reglamento técnico indica el uso del Reglamentos Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Reglamento de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos, que es aplicable para métodos oficiales y no oficiales que son utilizados para el control de calidad de medicamentos y así asegurar el cumplimiento de las normativas vigentes de nuevas prácticas de manufactura y de laboratorio.

En el presente estudio se realizó la validación de la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por el método de Cromatografía de gases. De acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06, Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos vigente, que establece los parámetros de desempeño para evaluar un método analítico los cuales son los siguientes: Exactitud, Precisión, Especificidad, Linealidad del sistema, Linealidad del método e Intervalo. Además, se realizó el protocolo de validación e informe de validación con todos los datos obtenidos en el análisis.

La validación se realizó en un producto terminado de Mentol y Alcanfor en forma farmacéutica de ungüento, por lo cual se seleccionará Vick vaporub ungüento que rotule ambos activos e igual número de lote, la cual se compró en un supermercado en la zona dos, distrito dos de San Salvador. La investigación se llevó a cabo en un laboratorio de control de calidad, que cuenta con el equipo y las instalaciones adecuadas para la realización de dicho estudio, en un periodo comprendido de junio del 2019 a julio 2023.

Los resultados obtenidos en el estudio de validación de método de ensayo de mentol y alcanfor por cromatografía de gases demuestra que es un método selectivo, preciso y confiable.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Validar la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por Cromatografía de Gases.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1. Elaborar el protocolo de validación de los parámetros de desempeño en estudio de la prueba de ensayo para mentol y alcanfor en ungüento.

2.2.2. Realizar la evaluación de parámetros de desempeño en estudio de Mentol y Alcanfor en ungüento por Cromatografía de Gases, de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.

2.2.3. Desarrollar el informe de validación de los parámetros de desempeño de la prueba de ensayo para mentol y alcanfor ungüento.

CAPITULO III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Formas Farmacéuticas (4, 8).

La Forma farmacéutica es el producto resultante del proceso tecnológico que confiere a los medicamentos características adecuadas de Dosificación, Eficacia terapéutica y Estabilidad en el tiempo. Podemos distinguir formas farmacéuticas de liberación convencional, que es cuando la liberación del principio activo no está deliberadamente modificada por un diseño de formulación particular y la formas farmacéuticas de liberación modificada, que permiten alcanzar un perfil de concentración plasmática que garantiza la persistencia de la acción terapéutica del fármaco.

Disposición individualizada a que se adaptan las sustancias medicinales (principios activos) y excipientes para constituir un medicamento. Es decir, la forma de preparar un medicamento con el fin de su administración.

Un medicamento se define como una sustancia que sirve para curar, prevenir o tratar una enfermedad, y así reducir sus efectos sobre el organismo.

Las formas farmacéuticas se pueden clasificar según su estado físico y según su vía de administración.

La clasificación de formas farmacéuticas según su estado físico: (8)

-Sólidas: Polvos, Granulados, Cápsulas, Tabletas, Supositorios, Óvulos, e Implantes.

Las formas farmacéuticas sólidas presentan una mayor estabilidad química debido a la ausencia de agua, evitan posibles problemas de incompatibilidad entre principios activos, enmascaran sabores desagradables y se puede regular la liberación de los principios activos.

- Semisólidas: Ungüentos, Pastas, Cremas y Geles.

Las preparaciones semisólidas para aplicación cutánea están destinadas a la administración local o transdérmica de principios activos, o tienen una acción emoliente o protectora. Son de aspecto homogéneo.

Las preparaciones semisólidas para aplicación cutánea están constituidas por una base, simple o compuesta, en la cual habitualmente están disueltos o dispersados 1 o más principios activos. La composición de esta base puede tener influencia sobre la actividad de la preparación. Los excipientes utilizados en la base pueden ser sustancias de origen natural o sintético y constituir un sistema de una o varias fases. De acuerdo con la naturaleza de la base, la preparación puede tener propiedades hidrófilas o hidrófobas; puede contener también otros excipientes adecuados, como conservantes antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes, emulsionantes, espesantes y agentes potenciadores de la penetración.

- Líquidas: Soluciones, Suspensiones, Emulsiones, Jarabes, Elixires, Lociones, Linimentos e Inyectables.

Las formas líquidas orales, suelen presentar algunas ventajas, como una mayor biodisponibilidad que las formas sólidas, un menor efecto irritante sobre la mucosa gástrica y una mayor facilidad de ingestión que las formas sólidas.

La clasificación de formas farmacéuticas según su vía de administración: ⁽⁸⁾

-Oral: polvos, granulados, comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones, emulsiones.

-Rectal y vaginal: Supositorios, enemas, óvulos, comprimidos vaginales, dispositivos intrauterinos.

-Tópica y subcutánea: Ungüentos, cremas, geles, pastas, parches, implantes.

-Oftálmica y ótica: colirios, Ungüentos, emulsiones, insertos oftálmicos, gotas.

-Parenteral: Inyectables para vía intravascular (intravenosa, intraarterial) o para vía extravascular (intradérmica, subcutánea, intramuscular, intratecal, epidural, intraperitoneal).

-Inhalatoria: gases medicinales (anestésicos), aerosoles.

3.2 Definición y generalidades de ungüento ⁽⁸⁾

Un ungüento es una preparación de consistencia blanda que contiene el o los principios activos y aditivos incorporados a una base apropiada que le da consistencia. Se adhiere y se aplica en la piel y mucosas. Esta base puede ser liposoluble o hidrosoluble, generalmente es anhidra o con un máximo de 20 por ciento de agua. También se denomina ungüento hidrofílico cuando contiene una base lavable o removible con agua.

Los ungüentos son preparaciones semisólidas destinadas para la aplicación externa sobre la piel o las membranas mucosas. Las bases para ungüentos que se utilizan para vehículos se pueden clasificar en cuatro grupos generales; bases de hidrocarburos, bases de absorción, bases que se eliminan con agua y bases hidrosolubles.

Bases hidrocarbonadas: también llamadas bases oleosas para ungüentos, están representadas por la vaselina blanca y el ungüento blanco. Solo permiten la incorporación de una cantidad mínima de componente acuoso. Sirve para mantener los medicamentos en contacto prolongado con la piel y actúan como vendaje oclusivo. Las bases hidrocarbonadas se usan, principalmente, por sus efectos emolientes y son difíciles de eliminar. No se secan ni se modifican en forma notoria con el envejecimiento.

Bases de Absorción, este tipo de bases se puede dividir en dos grupos: el primero consiste en bases que permiten la incorporación de soluciones acuosas, formando una emulsión de agua en aceite (Vaselina Hidrofilica y Lanolina), y el segundo grupo se trata de emulsiones de tipo agua en aceite, que permiten la incorporación de cantidades adicionales de soluciones acuosas (Lanolina). Las bases de absorción también sirven como emolientes ⁽⁸⁾.

Bases Lavables con Agua: estas bases son emulsiones de aceite en agua, por ej., Ungüento Hidrofilico, y se denominan, con más exactitud, “cremas. ” También se las describe como “quitables con agua, ” ya que se quitan fácilmente de la piel o de la ropa con agua, un atributo que las hace más aceptables para fines cosméticos. Algunos medicamentos pueden ser más efectivos en estas bases que en las de hidrocarburos. Otra ventaja de esta clase de bases es que se pueden diluir con agua, facilitando la absorción de secreciones serosas en las afecciones dermatológicas ⁽⁸⁾.

Bases Hidrosolubles: este es el grupo de las llamadas “bases desgrasadas para ungüentos”, las que se constituyen con elementos hidrosolubles. El Ungüento de Polietilenglicol es la única preparación farmacopeica de este grupo. Las bases de este tipo ofrecen muchas de las ventajas de las bases lavables con agua. Además, no contienen sustancias insolubles en agua tales como la vaselina, la lanolina anhidra o las ceras. Más correctamente, estas bases se denominan “Geles. ⁽⁸⁾ ”

La elección de la base para ungüento depende de muchos factores, como la acción deseada, la naturaleza del medicamento que se vaya a incorporar, su biodisponibilidad y estabilidad, y la vida útil requerida para el producto terminado. En algunos casos, para lograr la estabilidad requerida es necesario elegir una base que no es la ideal. Los fármacos que hidrolizan rápidamente,

por ejemplo, son más estables en bases hidrocarbonadas que en bases lavables con agua, aunque sean más eficaces en estas últimas.

3.3 Monografías ^(4, 5)

3.3.1 Monografía de Mentol ⁽⁵⁾

Sinónimos: Levomentol. (-)-Mentol. Hexahidrotimol. 3-Mentanol. 2-Isopropil-5 metilciclohexanol. Alcohol mentólico. Alcánfor de menta.

Formula Molecular: C₁₀H₂₀O

Peso Molecular: 156,26

Datos Físico-Químicos: Cristales brillantes, prismáticos o aciculares, incoloros. Prácticamente insoluble en agua, muy soluble en etanol al 96%, y petróleo ligero, fácilmente soluble en aceites grasos, y parafina líquida, muy poco soluble en glicerol. Punto de fusión: 41 – 44 °C.

Rotación óptica: -50° (c=10, etanol).

Propiedades y usos: El l-mentol, que es la forma natural, se obtiene de la naturaleza a partir de la esencia de varias especies del género *Mentha* (fam. Labiadas), principalmente *Mentha piperita* y *Mentha arvensis*, o por síntesis en forma levo o racémico (p. ej. se obtiene dl-mentol por hidrogenación del timol). Se trata de un agente con acción antiséptica, analgésica local, antiinflamatoria, y antipruriginosa. Al ser aplicado sobre la piel produce un efecto rubefaciente, dando sensación de frío posterior y manifestándose seguidamente la acción analgésica local. Por este motivo se usa como antiprurítico en diversas dermatitis y eczemas asociados a prurito, totales como urticaria, prurito anal, ictericia, etc., en forma de pomadas, champús, cremas,

linimentos, soluciones y polvos. Así mismo se emplea en el tratamiento de la alopecia areata, como irritante.

También se utiliza vía inhalatoria en el alivio sintomático de bronquitis, sinusitis, y laringitis, por inhalación en pastillas balsámicas o en pomadas con alcanfor y esencia de eucalipto para aplicar sobre el pecho y las ventanas nasales. Suele asociarse junto con queratoplásticos, queratolíticos, protectores y antisépticos. Por vía oral y en pequeñas dosis posee una acción carminativa. Alivia la flatulencia y los cólicos, relajando la musculatura lisa gastrointestinal. Si se prescribe en cápsulas (p. ej. para los síntomas del colon irritable o para espasmos gastrointestinales), éstas han de ser entéricas, y se han de tomar 30-60 min antes de las comidas.

El mentol además se usa como un agente saborizante y odorífero en preparados farmacéuticos. Tras la absorción, el mentol se excreta por la orina y la bilis en forma de glucurónido. En cuanto al mecanismo de acción, se ha sugerido que los beneficios aparentes del mentol en la congestión nasal pueden deberse a un efecto sobre los canales de calcio en los nervios sensitivos. Este mecanismo se ha invocado también para explicar su acción relajante muscular (como aceite de menta) sobre el aparato digestivo. El efecto frío se produce por interacción con los receptores de frío de la piel.

Dosificación: Vía tópica al 0,1 – 2 % en dermatitis y eczemas asociados a prurito, picaduras de insectos, etc.; hasta el 10 % en contusiones, torceduras, esguinces, dolores reumáticos, neuralgias, etc.; y hasta el 16% como irritante para el tratamiento alopecia areata. También se ha usado en soluciones oleosas al 20 – 40 %. Vía inhalatoria en soluciones para inhalaciones o pulverizaciones hasta el 10%. En preparaciones para vía oral, al 0,003% en suspensiones, al 0,005 – 0,015 % en jarabes, y al 0,2 – 0,4 % en comprimidos. En productos cosméticos tópicos, al 0,1 – 2,0 %.

Efectos secundarios: El mentol puede causar reacciones de hipersensibilidad, incluyendo dermatitis de contacto. También se ha observado apnea y colapso instantáneo en niños después de la aplicación sobre las ventanas nasales. La ingestión de mentol causa dolor abdominal grave, náuseas, vómitos, vértigo, ataxia, somnolencia y coma.

Precauciones: Es peligroso aplicar pomadas que contengan mentol en las fosas nasales de los niños, puede causar inmediatamente colapso; las gotas nasales que contengan mentol pueden causar el mismo efecto.

Incompatibilidades: Agentes oxidantes (permanganato potásico, trióxido de cromo).

Observaciones: Produce una mezcla líquida o pastosa (mezclas eutécticas) triturado con alcanfor, fenol, fenacetina, cloral hidratado, betanaftol, resorcinol, timol, pirogalol, pirocatecol, y carbonato de etilo.

Conservación: En envases bien cerrados. Proteger de la luz.

3.3.2 Monografía de Alcanfor ⁽⁴⁾

Sinónimos: Alcanfor racémico. Cánfora. 2-Canfanona. 2-Bornanona.

INCI: Camphor.

Formula Molecular: C₁₀H₁₆O

Peso Molecular: 152,23

Descripción: El alcanfor natural es una cetona dextrógira cristizable o sublimable a partir de la esencia del *Cinnamomum camphora*, y el sintético se

obtiene a partir del pineno de la esencia de trementina, formado en su mayor parte por la forma racémica del natural.

Datos Físico-Químicos: Polvo cristalino o masas cristalinas, blanco o casi blanco, muy volátil. Poco soluble en agua, muy soluble en etanol al 96% y en petróleo ligero, fácilmente soluble en aceites grasos, muy poco soluble en glicerol. Punto de fusión: 179°C. Absorción UV máx.: 292 nm (cloroformo).

Propiedades y usos: Posee acción rubefaciente, antiprurítica, antiséptica y ligeramente analgésica. Además es estimulante respiratorio, carminativo, y sedante. Se emplea en forma de linimentos, soluciones alcohólicas y pomadas, como revulsivo en dolores articulares, musculares, neuralgias y otras afecciones similares, mediante fricciones. Administrado por vía sistémica presenta propiedades irritantes y carminativas, utilizándose como un expectorante suave. También forma parte de fórmulas para la descongestión nasal, aunque su eficacia es dudosa, y en preparados mixtos para trastornos cardiovasculares. El uso del aceite alcanforado está desaconsejado, por ser potencialmente tóxico (aumenta su absorción).

Su empleo por vía parenteral o en irrigación no es aconsejable, debido a los efectos adversos.

Dosificación: Por vía tópica, al 0,05 – 20 %. Se ha usado hasta el 3% como analgésico tópico, y hasta el 11% como revulsivo. Concentraciones superiores al 11% no son seguras y en EEUU están prohibidas.

Efectos secundarios: Los síntomas incluyen náuseas, vómitos, cólicos, dolores de cabeza, delirio, mareos, sensación de calor, temblores musculares, convulsiones epilépticas, depresión del SNC y coma. La respiración se vuelve dificultosa y el aliento toma un olor característico, pudiendo presentar anuria, llegando a producirse estados epilépticos o incluso la muerte por fallo

respiratorio. En niños es peligroso la utilización de pomadas de alcanfor en las orificios nasales, ya que puede originar colapso circulatorio.

Precauciones: No utilizar en niños menores de 2 años, y con precaución en niños mayores. Puede ocasionar intoxicaciones en niños por ingerir por error el aceite alcanforado en lugar de otro aceite. No aplicar sobre heridas, mucosas, piel lesionada ni en los orificios nasales de niños (puede ocasionar colapso respiratorio).

Incompatibilidades: Permanganato potásico. El agua alcanforada es incompatible con sales.

Observaciones: Produce una mezcla líquida o pastosa (mezclas eutécticas) triturado con mentol, fenol, naftol, antipirina, resorcina, hidrato de cloral, hidroquinona, ácido salicílico, salol, timol, y otras sustancias. Es volátil a temperatura ambiente. Sublima por el calor. Para incorporarlo en las fórmulas disolverlo en la mínima cantidad de alcohol o de propilenglicol, o incluso ayudándonos de un poco de Tween 20. Envasar en cristal.

Conservación: En envases bien cerrados. Proteger de la luz. Recomendado menos de 25°C.

3.4 Cromatografía de Gases ⁽⁸⁾

La cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a ser separados son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras la otra se mueve en una dirección definida. La cromatografía puede ser clasificada por su utilidad y en base al material que se utilice como eluyente para separar los solutos. De acuerdo a su utilidad la cromatografía se clasifica en: analítica, utilizada para determinar los químicos

presentes en una mezcla y en que concentración; y preparativa, utilizada para purificar grandes cantidades de químicos.

Las características distintivas de la cromatografía de gases son una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida inmovilizada o sólida. Las fases estacionarias líquidas están disponibles en columnas capilares o rellenas. En las columnas rellenas, la fase líquida se deposita en un soporte sólido finamente dividido, inerte, polímeros porosos o carbono grafito, con el que se rellena una columna que típicamente tiene de 2 mm a 4 mm de diámetro interno y de 1 m a 3 m de longitud. En las columnas capilares, que no contienen relleno, la fase líquida se deposita en la superficie interna de la columna y puede unirse químicamente a ella. En la cromatografía gas-sólido, la fase sólida es un adsorbente activo, como por ejemplo alúmina, sílice o carbono, con el que se rellena una columna. Las resinas porosas poliaromáticas, que a veces se emplean en las columnas rellenas, no se recubren con una fase líquida.

Cuando se introduce un compuesto vaporizado en el gas transportador y se lleva a la columna, se divide entre el gas y la fase estacionaria mediante un proceso de distribución dinámico en contracorriente. El compuesto se transporta a través de la columna mediante el gas transportador, y es retardado en mayor o menor grado por la sorción y desorción en la fase estacionaria. La elución del compuesto se caracteriza por la constante de partición, k' , un valor adimensional también llamado factor de capacidad. Es equivalente al cociente entre el tiempo requerido para que el compuesto fluya a través de la columna (el tiempo de retención) y el tiempo de elución de un compuesto que no se retiene. El valor del factor de capacidad depende de la naturaleza química del compuesto; de la naturaleza, la cantidad y la superficie de la fase líquida; de la temperatura de la columna y de la velocidad de flujo del gas. En presencia de un conjunto específico de condiciones experimentales, cada compuesto tiene un factor de capacidad característico.

3.5 Validación de métodos analíticos ⁽⁷⁾

Validación es la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. (ISO 9000:2008/3.8.5).

La validación ha sido objeto de atención por ser requerida en Normas sobre Sistemas de Gestión de la Calidad, sobre software y particularmente en la Norma ISO/IEC 17025:2005 sobre requisitos generales para laboratorios de calibración y ensayo.

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficiente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos o parámetros definidos y para el propósito requerido⁽⁷⁾

La validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas⁽⁸⁾

Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto. Se debe validar cuando sean métodos no normalizados; métodos diseñados/desarrollados; métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación y cuando se realicen ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados.

La validación debe ser tan amplia como sea necesaria para cumplir con los requisitos en relación con el uso dado o la aplicación. La extensión o alcance de la validación dependerá de la aplicación, la naturaleza de los cambios realizados y de las circunstancias en que el método se va a utilizar⁽⁷⁾.

3.5.1 Tipos de validación

Es importante conocer los diferentes tipos de validación de procesos analíticos, los cuales han sido clasificados de acuerdo a sus antecedentes:

Validación prospectiva: Validación que se lleva a cabo durante el desarrollo de un análisis de riesgo de cada etapa del proceso, el cual se divide en pasos individuales, que son luego evaluados basándose en la experiencia pasada a fin de determinar qué paso del proceso pueden llevar a situaciones críticas.

Validación concurrente: Se lleva a cabo durante la manufactura de rutina de un producto a comercializar.

Validación retrospectiva: Involucra la evaluación de experiencias pasadas a través de la documentación de producción, bajo la condición de que la composición, procedimientos y equipos permanezcan sin cambios.

La validación en tiempo real: Es el estudio que se lleva a cabo para demostrar y establecer una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto, basándose en resultados obtenidos lote a lote.

La validación esbelta: Estudio que se lleva a cabo para demostrar y establecer una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto basándose en resultados que se consideran en sus estudios la identificación de atributos críticos de calidad; centrarse en el control de dichos atributos para garantizar el cumplimiento de las especificaciones.

3.5.2 Clasificación del método ⁽⁷⁾

Es importante clasificar e identificar el método de validación, ya que de acuerdo a su clasificación aumentan los parámetros a realizar.

Método Normalizado: Se trata de un método de ensayo normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en referencias reconocidas internacionalmente. Ejemplos de referencias reconocidas: Farmacopea de los estados Unidos (USP), Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), Farmacopea Europea (EP), Farmacopea Británica (BP), Farmacopea Japonesa (JP), Farmacopea India (IP), Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales (AOAC), Estándar Método, Agencia de Protección Ambiental (EPA), Pasivos Ambientales de la Actividad Minera (PAM), Centro de Investigación y Promoción para América Central (CIPAC), Asociación Americana de ensayo de materiales (ASTM), Asociación Americana de Oficiales de Carreteras Estatales y Transporte (AASHTO), Organización Internacional de Normalización (ISO), Codex Alimentarius, Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO).

El objetivo de la validación es comprobar que se domina el ensayo y se realiza correctamente.

Método Normalizado modificado: Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado. Ejemplos: un método de extracción diferente o la aplicación del método en una matriz diferente a la indicada, aplicación del método en rangos distintos trabajo.

El objetivo de la validación es comprobar que la modificación del método original no afecta la capacidad para proporcionar resultados confiables.

Método no normalizado: Se trata de un método de ensayo que no se encuentra en referencias reconocidas internacionalmente.

El objetivo de la validación es comprobar que el método cumple con las características necesarias para dar resultados confiables para el fin propuesto.

3.5.3 Parámetros de validación ⁽⁷⁾

Los parámetros de validación son características de desempeño de los métodos analíticos que necesitan ser evaluados, los cuales son: selectividad/especificidad, linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, robustez e incertidumbre.

-Selectividad / especificidad ^(6, 7,8)

La selectividad analítica se relaciona con el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar.

La selectividad de un procedimiento debe ser establecida para métodos desarrollados internamente en el laboratorio, métodos adaptados de la literatura científica y métodos publicados por organismos de estandarización utilizados fuera del alcance especificado en el método estándar. Cuando los métodos publicados por organismos de normalización son aplicados dentro de su alcance, la selectividad usualmente habrá sido estudiada como parte del proceso de normalización.

En el estudio de la selectividad, como norma general se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas, excipientes (matriz o placebo), y dependiendo del tipo de muestra, tipo de técnica analítica, instrumento de medición. Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias y/o elementos y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Si bien IUPAC recomienda el término “selectividad”, algunas áreas, p. ej. El sector farmacéutico, utiliza “especificidad” o “especificidad analítica”. Este último término es recomendado para evitar confusión con “especificidad diagnóstica”, tal cual se utiliza en medicina de laboratorio.

Tabla N° 1. Elementos a considerar para realizar la selectividad de un método analítico (6, 7,8).

Muestra	Repeticiones	Calcular/determinar	Comentarios
Muestras de ensayo y material de referencia por el método seleccionado y otros métodos independiente	1 repetición	Use los resultados de las técnicas confirmatorias para evaluar la capacidad del método para confirmar la identidad del analito y su capacidad para medir el analito aislado de otras interferencias.	Se deberá de documentar información complementaria que permita definir mejor la selectividad del analito de interés.

Criterio de aceptación: la respuesta del método debe ser únicamente debida al analito. Cualquier desviación encontrada no deberá ser mayor a los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio con respecto a la referencia normativa.

Sin embargo, si la referencia del método establece la forma de evolución de este parámetro de desempeño y sus criterios de aceptación, el laboratorio deberá cumplir lo indicado en dicha referencia.

- Linealidad (6,7,8)

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

La linealidad se refiere a la linealidad de la relación entre la concentración y la medida de valoración. En algunos casos, para lograr la linealidad, es necesario transformar la concentración y/o la medida. La linealidad se evaluará con la determinación de Intervalo lineal e Intervalo de trabajo.

El intervalo lineal es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.

Tabla N° 2. Elementos a considerar para la realización de los parámetros de intervalo de trabajo e intervalo lineal. (7)

Muestra	Repeticiones	Calcular/determinar	Comentarios
Medir un blanco más Estándar de referencia esparcidos uniformemente en el rango de interés.	Se trabajarán 5 niveles como mínimo por triplicado, distribuidos uniformemente en el rango de interés.	Graficar la respuesta (eje y) en función de la concentración (eje x). Calcular las estadísticas de regresión apropiadas, calcular y graficar los residuales (diferencia entre el valor observado de "y" y el valor calculado de "y" pronosticado por la línea recta, para cada valor de "x"). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad o un cambio de varianza con el nivel.	Esta etapa es necesaria para ensayar un intervalo de trabajo, que se considere lineal y especialmente en el que el método utilice una calibración de dos puntos. Si la desviación estándar es proporcional a la concentración, entonces considerar utilizar un cálculo de regresión ponderado en vez de una regresión lineal no ponderada simple. No se deben de eliminar valores atípicos sin verificarlo antes utilizando otras

Tabla N° 2. Continuación

			<p>mediciones a concentraciones cercanas.</p> <p>En ciertas circunstancias, para la calibración de instrumentos, puede ser mejor tratar de ajustar una curva no lineal a los datos. En ese caso, se debe incrementar el número de muestras.</p> <p>Por lo general, no se recomienda el uso de funciones superiores a las cuadráticas</p> <p>En los casos en los cuales la curva no presenta un comportamiento lineal, se debe incrementar el número de niveles de concentración a trabajar.</p>
<p>Medir, de acuerdo con el método documentado, un blanco más material de referencia o blancos de muestra adicionados esparcidos</p>	<p>Se trabajarán 5 niveles como mínimo por triplicado, distribuidos uniformemente en el rango de interés.</p>	<p>Graficar la concentración medida (eje y) en función de la concentración de las muestras de ensayo (eje x).</p> <p>Calcular las estadísticas de regresión apropiadas.</p> <p>Calcular y graficar los</p>	<p>Este paso se requiere para evaluar si el rango propuesto del instrumento y el procedimiento de calibración son aptos para el uso.</p> <p>Si pueden encontrarse</p>

Tabla N° 2. Continuación

uniformemente en el rango de interés.		residuales (la diferencia entre el valor observado de "y" y el valor calculado de "y" pronosticado por la línea recta, para cada valor de "x"). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad	datos en estudios de precisión y sesgo que cubren el rango de interés, quizás no se requiera otro estudio del intervalo de trabajo del método.
---------------------------------------	--	--	--

Criterios de aceptación Intervalo lineal: Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica, datos aleatorios en el gráfico de residuales y el intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero, cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva.

Criterios de aceptación Intervalo de trabajo: $r \geq 0.98$ y el intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad.

- Exactitud ^(6,7,8)

La exactitud de un procedimiento analítico es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese procedimiento y el valor verdadero. La exactitud de un procedimiento analítico debe establecerse en todo su intervalo.

La exactitud puede determinarse mediante la aplicación del procedimiento analítico con respecto a un analito de pureza conocida (por ejemplo, un Estándar de Referencia), o comparando los resultados del procedimiento con

los de un segundo procedimiento bien caracterizado, cuya exactitud se haya comprobado o definido.

Para verificar la Exactitud utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés. Claramente la disponibilidad de éstos materiales es limitada. Los materiales de referencia para una validación pueden ser: preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada; y materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

Tabla N° 3. Elementos a considerar para la realización del parámetro de exactitud (6,7,8).

Muestra	Repeticiones	Calcular/determinar	Comentarios
<p>Se puede utilizar como muestra lo siguiente:</p> <p>Material de referencia certificado.</p> <p>Blanco adicionado.</p> <p>Material de referencia.</p> <p>Matriz adicionada.</p> <p>Comparación con método oficial.</p>	<p>Se trabajarán 3 niveles como mínimo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bajo - Medio - Alto <p>Nivel bajo y alto por triplicado.</p> <p>Y nivel medio sextuplicado.</p> <p>En los niveles seleccionados se debe incluir el rango de trabajo del método.</p>	<p>Determinar el valor de Sesgo, error relativo porcentual o recuperación</p>	<p>Reportar el intervalo de confianza del porcentaje de recobro</p>

Para el cálculo del parámetro de Exactitud utilizando Material de Referencia, se deberá tomar en cuenta las siguientes formulas:

$$b = \bar{X} - X_{ref}$$

$$b\% = \frac{\bar{X} - X_{ref}}{X_{ref}}$$

$$R\% = \frac{\bar{X}}{X_{ref}} \times 100$$

Donde:

\bar{X} : Valor promedio

X_{ref} : Valor de referencia

b: Sesgo

b(%): Error relativo porcentual

R(%): Recuperación aparente

Para el cálculo del parámetro de exactitud utilizando matriz adicionada, se deberá tomar en cuenta la formula siguiente:

$$R'\% = \frac{\bar{X}' - \bar{X}}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

R' (%): Recuperación relativa de adiciones a las diferentes concentraciones.

Criterio de aceptación: se debe tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método y, caso contrario, otras referencias confiables.

- Precisión (6, 7, 8)

La precisión de un procedimiento analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un procedimiento analítico habitualmente se expresa como la desviación

estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones.

La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del procedimiento analítico en condiciones normales de operación. En este contexto, la reproducibilidad se refiere al uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios. La precisión intermedia (también conocida como tolerancia o fortaleza) expresa la variación dentro de un laboratorio, por ejemplo en diferentes días, con diferentes analistas o con equipo diferente dentro del mismo laboratorio. La repetibilidad se refiere a la utilización del procedimiento analítico en un laboratorio durante un periodo de tiempo corto realizado por el mismo analista con el mismo equipo.

Tabla N° 4. Elementos a considerar para la realización del parámetro de precisión (6, 7, 8).

Muestra	Repeticiones	Calcular /determinar	Comentarios
Se puede utilizar como muestra lo siguiente: -Material de referencia certificado -Blanco adicionado -Material de referencia	Al menos tres niveles de concentración (Bajo, medio y alto) y realizar al menos 6 repeticiones en cada nivel bajo condiciones de Repetibilidad. Este parámetro deberá realizarse tomando en cuenta todo el proceso analítico para cada repetición.	Determinar el coeficiente de variación porcentual de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido. Si la referencia tiene otro estadístico de dispersión, justificar su uso.	Determina la Repetibilidad.
-Matriz adicionada -Muestra natural con contenido de analito dentro	Al menos tres niveles de concentración (bajo, medio y alto dentro del rango a validar) y realizar al menos 12 repeticiones en cada nivel bajo condiciones de precisión intermedia, 6 repeticiones por cada condición.	Determinar el CV % de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido y determinar el ANOVA de los datos. Si la referencia tiene	Determinar la precisión intermedia.

Tabla N° 4. Continuación

del rango a validar.	Este parámetro deberá realizarse tomando en cuenta todo el proceso analítico para cada repetición.	otro estadístico de dispersión, justificar su uso.	
	Las condiciones del estudio de reproducibilidad deberán de ser plantadas por el laboratorio y aprobado por la OSA.	Determinar el CV % de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido y determinar el ANOVA de los datos de los laboratorios.	Determinar la reproducibilidad.

Criterio de aceptación: se debe tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método. Otras referencias podrán ser evaluadas.

- Límite de Detección y Límite de Cuantificación ^(6,7,8)

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.

Cuando las mediciones se realizan a concentraciones bajas, existen tres conceptos generales a considerar. En primer lugar, puede ser necesario establecer un valor de resultado que es considerado un nivel de analito significativamente diferente de cero. Regularmente, alguna acción es requerida a este nivel, tal como declarar un material contaminado. Este nivel es conocido como "valor crítico", "límite de decisión". En segundo lugar, es importante conocer la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado. Es decir, ¿a qué concentración real se excederá con seguridad el valor crítico descrito anteriormente? Los

términos como “límite de detección” (LOD), “valor mínimo detectable”. En tercer lugar, es adicionalmente importante establecer el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica. Este tercer concepto usualmente es referido como el límite de cuantificación (LOQ).

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 en la muestra.

También es necesario distinguir entre el límite de detección del instrumento y el límite de detección del método. El límite de detección del instrumento puede basarse en el análisis de una muestra, usualmente un blanco de reactivo, sometido directamente al instrumento (es decir, omitiendo cualquier paso de preparación de muestra), o en la relación señal/ruido en p.ej. un cromatograma.

Para obtener el límite de detección de un método, el LOD debe basarse en el análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de medición obteniendo resultados calculados con la misma ecuación que para las muestras de ensayo. El dato más útil para la Validación del método es el límite de detección del método.

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. Según Un resultado "positivo" no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo

contrario se puede incurrir en un falso positivo: suponer el analito presente en la muestra cuando de hecho no lo está. El límite de Cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable).

Numéricamente es mayor el límite de Cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un % de Coeficiente de Variación y de Recuperación aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse pero no cuantificarse.

El límite de detección y de cuantificación se determinan con las siguientes formulas:

$$LD=3.3 \times S_{bom}$$

$$LC=10 \times S_{bom}$$

Tabla N° 5. Elementos a considerar para determinar el Límite de detección y de cuantificación (6,7,8).

Repeticiones	Calcular / determinar	Comentarios
<p>Para métodos cuantitativos: 10 blancos de muestras independientes medidos una vez cada uno ó 10 blancos de muestras independientes fortificadas a la menor concentración aceptable medidos una vez cada uno.</p>	<p>Desviación estándar de la muestra s de: a) Valores de blanco de muestra ó b) Valores de los blancos de muestra fortificadas</p>	<p>Expresar límite de detección cómo la concentración del analito correspondiente a : a) El valor promedio de los blancos de muestra + 3s ó b) 0 + 3s Expresar límite de cuantificación cómo : Valor promedio de las lecturas de los blancos + 6s ó + 10s. Cualquier otro factor de cobertura utilizado deberá de ser justificado en base a</p>

Tabla N° 5. Continuación

		referencia bibliográfica.
<p>Para métodos cualitativos: Blancos de muestra con adición del analito en al menos 3 niveles de concentración. A cada nivel de concentración, será necesario medir no menos de 10 réplicas independientes.</p>	<p>Construir una curva o tabla de respuesta de porcentaje de resultados (positivos o negativos) contra la concentración.</p>	<p>A partir de la curva o tabla construida, determinar mediante inspección, la concentración mínima a la cual la prueba no es confiable.</p>

- Robustez ^(6,7,8)

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para no resultar afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros enumerados en la documentación del procedimiento, y a la vez, da una idea de su aptitud durante su uso normal. La robustez puede determinarse durante la etapa de desarrollo del procedimiento analítico.

Un "ensayo de robustez" implica hacer cambios deliberados en el método, e investigar el efecto subsiguiente en el desempeño con lo que es posible identificar las variables en el método que tienen el efecto más significativo y garantizar que, cuando se utiliza el método, están controladas estrictamente. Donde hay una necesidad de perfeccionar más el método, las mejoras se pueden probablemente hacer mediante la concentración en aquellas partes del método conocidas por ser críticas.

La robustez de un procedimiento debe ser establecida para los métodos de desarrollo interno, métodos adaptados de la literatura científica y los métodos publicados por organismos de normalización utilizados fuera del alcance especificado en el método estándar.

Cuando se utilizan métodos publicados por organismos de normalización dentro del alcance de aplicación del método, la robustez por lo general ha sido estudiada como parte del proceso de normalización. Por lo tanto un estudio de robustez se encuentra en la mayoría de los casos no necesariamente en el nivel de un solo laboratorio. La información sobre la robustez se debe indicar en el procedimiento del laboratorio en forma de los límites de tolerancia establecidos para los parámetros experimentales críticos.

Tabla N° 6. Elementos a considerar para determinar la robustez (6,7,8).

Muestra	Repeticiones	Calcular /determinar	Comentarios
Identificar las variables que podrían tener un efecto significativo en el desempeño del método. Establecer experimentos (analizando MR o muestras de ensayo) para supervisar el efecto en los resultados de la medida cambiando de forma sistemática las variables.	Evaluado más efectivamente utilizando diseños de experimentos. Verificar al menos 7 variables o parámetros utilizando un modelo de Youden.	Determinar el efecto de cada cambio de condición en los resultados de la medida. Clasificar las variables según el mayor efecto sobre el desempeño del método. Realizar pruebas de significación para determinar si los efectos observados son estadísticamente significativos.	Diseñar el control de calidad o modificar el método para controlar las variables críticas, por ejemplo, indicando los límites de tolerancia adecuados en el método de análisis.

Para determinar la combinación de variables a estudiar, utilizar el modelo de Youden, el cual orienta las posibles combinaciones de factores que pueden afectar al método. Cabe destacar, que si la referencia del método establece las especificaciones y la forma de evaluación de la robustez, debe realizarse de acuerdo a lo indicado en la referencia (6,7).

Tabla N° 7. Modelo de Youden para la determinación de las combinaciones de variables (6,7,8).

Número de corrida	Combinación de factores						
1	A	B	C	D	E	F	G
2	A	B	c	D	e	f	g
3	A	b	c	d	E	f	g
4	A	b	c	d	e	F	G
5	a	B	C	d	e	F	g
6	a	B	c	d	E	f	G
7	a	b	C	D	e	f	G
8	a	b	c	D	E	F	g

- Incertidumbre (6,7,8)

La incertidumbre es un intervalo asociado con un resultado de medida que expresa el intervalo de valores que razonablemente pueden atribuirse a la cantidad que se está midiendo. Una estimación de la incertidumbre debe tener en cuenta todos los efectos reconocidos que operan en el resultado. Las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan de acuerdo con procedimientos bien establecidos

Se describen varios enfoques para obtener una estimación de la incertidumbre de los resultados de las mediciones químicas. Estos tienen en cuenta lo siguiente:

La precisión a largo plazo global del método (precisión intermedia o reproducibilidad).

El sesgo y su incertidumbre, incluyendo la incertidumbre estadística que corresponde a las medidas de sesgo, y la incertidumbre en el valor de referencia.

La calibración de equipos. Las incertidumbres asociadas con la calibración de equipos tales como balanzas, termómetros, pipetas y frascos son a menudo insignificamente pequeña en comparación con la precisión global y la incertidumbre en el sesgo. Si esto se puede verificar entonces las incertidumbres de calibración no necesitan ser incluidas en la estimación de la incertidumbre.

Cualquier efecto significativo que opera además de lo anterior. Por ejemplo, los intervalos de temperatura o el tiempo permitidos por el método no pueden ejecutarse plenamente en los estudios de Validación, y sus efectos pueden necesitar ser añadidos. Tales efectos pueden ser útilmente cuantificados mediante estudios de robustez, o estudios relacionados que establecen el tamaño de un efecto dado en el resultado.

Tener en cuenta que, sujetos a consideración adicional de los efectos fuera del alcance de un estudio colaborativo, la desviación estándar de reproducibilidad configura una estimación de trabajo de la incertidumbre típica combinada siempre que el sesgo del laboratorio, medido en los materiales aplicables, es pequeño con respecto a la desviación estándar de la reproducibilidad, la repetibilidad interna es comparable con la repetibilidad del método estándar, y la precisión intermedia del laboratorio no es mayor que la desviación estándar de la reproducibilidad publicada.

Tabla N° 8. La incertidumbre será evaluada conforme a lo detallado en el siguiente cuadro (6,7,8).

Muestra	Repeticiones	Calcular /determinar	Comentarios
No Aplica	Utilizar la información obtenida en el proceso de confirmación o validación interna	a) Especificar el mensurando b) Identificar las fuentes de incertidumbre c) Cuantificar los componentes de la incertidumbre (u) d) Calcular la incertidumbre estándar combinada (uc) e) Calcular la incertidumbre expandida (uexp)	Reportar la incertidumbre expandida con un factor de cobertura k=2 y un nivel de significancia del 95%.

La Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA) ha clasificado los parámetros a evaluar de acuerdo al tipo de método a validar.

Tabla N° 9. Parámetros a validar para métodos Normalizados (6,7,8).

Parámetros	Cualitativo	Cuantificación de componentes	Propiedad Física
Selectividad / Especificidad	No	No	No
Linealidad	No	Si	+
Exactitud	No	Si	+
Precisión	No	Si	Si
Límite de Detección	SI	+	No
Límite de Cuantificación	No	Si	No
Robustez	No	No	No
Incertidumbre	No	Si	Si

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis o rango a validar.

Tabla N° 10. Parámetros a validar para métodos Normalizados Modificados (6,7,8).

Parámetros	Cualitativo.	Cuantificación de componentes	Propiedad Física
Selectividad / Especificidad	Si	+	No
Linealidad	No	Si	+
Exactitud	No	Si	+
Precisión	No	Si	Si
Límite de Detección	SI	+	No
Límite de Cuantificación	No	Si	+
Robustez	No	+	No
Incertidumbre	No	Si	Si

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis o rango a validar.

Tabla N° 11. Parámetros a validar en métodos no Normalizados (6,7,8).

Parámetros	Cualitativo	Cuantificación de componentes	Propiedad física
Selectividad/ Especificidad	Sí	Sí	No
Linealidad	No	Sí	Si
Exactitud	No	Sí	Si
Precisión	No	Sí	Sí
Límite de Detección	Sí	+	+
Límite de Cuantificación	No	Si	Si
Robustez	Si	Si	Si
Incertidumbre	No	Si	Si

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis o rango a validar.

Sin embargo, para validar un método analítico de un producto para el registro en El Salvador y en Centroamérica, la Dirección Nacional de Medicamentos determina la evaluación de dicho producto de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano para productos farmacéuticos, Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos RTCA 11.03.39:06. Este reglamento técnico clasifica los procedimientos analíticos que son objeto de validación en cuatro categorías:

Categoría I: pruebas cuantitativas del contenido del (los) principio (s) activo (s), constituyen procedimientos químicos que miden el (los) analito (s) presente (s) en una muestra determinada ⁽⁹⁾.

Categoría II: pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas. Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado. Cualquiera de los dos pretende reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba cualitativa de cumplimiento de límite ⁽⁹⁾.

Categoría III: pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo la prueba de disolución. Las características de la validación son diferentes a las de las otras pruebas, aunque las pueden incluir ⁽⁹⁾.

Categoría IV: pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de

referencia, por ejemplo espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas ⁽⁹⁾.

Tabla N° 12. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos fisicoquímicos ⁽⁹⁾.

Categoría de prueba Parámetro de desempeño	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
	Principio(s) activo(s)	Prueba de límite Cuantitativa	Prueba de límite Cualitativa	Físico químico desempeño	Identificación
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de Detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de Cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

*Puede requerirse dependiendo de la naturaleza del ensayo.

Se realizara la validación de la prueba de ensayo para mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases, de acuerdo a los parámetros descritos para la categoría I.

3.6 Requerimientos de la validación de métodos analíticos.

Los principales requisitos que se deben tomar en cuenta en una validación de métodos analíticos son los siguientes:

- Cumplir con los requerimientos de BPL y BPM.
- Instrumentos calificados y calibrados.
- Personal estrenado y calificado.

Calificación: Es una etapa previa y de preparación de los elementos que intervienen en la validación; evaluación de las características de los elementos del proceso. Ejemplo: calificación del instrumento (fabricante, modelo y

manuales, modificaciones, instalación, programas de calibración y cronogramas de mantenimiento. La calificación se clasifica en cuatro etapas:

Calificación de diseño: Es la verificación documentada de los documentos de planificación y las especificaciones técnicas para la conformidad del diseño con el proceso, la fabricación, BPM y los requisitos reglamentarios.

Calificación de las instalaciones: Verificación documentada de que los aspectos claves de la instalación cumplen las especificaciones técnicas y las recomendaciones del fabricante. Asegura que el equipo está instalado adecuadamente. En esta etapa se recolecta toda la información de identificación, la ubicación, los requisitos de servicios básicos, las conexiones y toda medida de seguridad del equipo que sea preciso documentar.

Calificación de la operación: Verificación a través de la puesta en marcha del equipo que funciona adecuadamente, es decir, cumple con los parámetros de operación para los que ha sido diseñado. Demuestra que funciona según lo previsto. En esta etapa se someten a prueba todos los controles de operación bajo condiciones normales y bajo condiciones extremas como por ejemplo el reinicio de un equipo después de un corte de luz, todos los puntos de alarma, interruptores, dispositivos visualizadores y cualquier otra indicación de operación y función.

Calificación de desempeño: Verificación a través del control de parámetros críticos de funcionamiento que el equipo trabaja en forma efectiva y estable en el tiempo. Demuestra la efectividad y reproducibilidad del funcionamiento del equipo en el tiempo. Es la verificación que el equipo funciona en la forma esperada y es capaz de operar satisfactoriamente en el rango de los parámetros operacionales para el que ha sido diseñado.

Calibración: Conjunto de operaciones que determinan bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia, es simplemente el procedimiento de comparación entre lo que indica un instrumento y lo que debiera indicar de acuerdo a un patrón de referencia con valor conocido. Los certificados de calibración evidencian la trazabilidad de un instrumento, material volumétrico, y material o estándar de referencia.

3.6.1 Protocolo de validación (PV) ^(1, 7, 8)

El protocolo de validación, describe las pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados y que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistentes.

El protocolo de validación debe contener lo siguiente: Objetivos, alcance, responsables, parámetros a estudiar, muestras o matrices, equipo involucrado, descripción del método analítico, estándares primarios o estándares secundarios, preparación de reactivos, procedimientos y cálculos.

3.6.2 Informe de validación (IV) ^(1, 7, 8)

El informe de validación debe contener toda la información necesaria para poder concluir acerca de la validación del método desarrollado. El informe de validación tendrá que incluir: referencia al protocolo utilizado, parámetros validados y los criterios de aceptación, resultados analíticos, resultados estadísticos, interpretación de resultados, conclusiones, cuadro resumen de los resultados obtenidos, declaración de aptitud del método, datos crudos de la validación y nombre y firma de las personas asignadas por el laboratorio.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1. Tipo de estudio

- Experimental: Porque se realizó la validación del ensayo de Mentol y Alcanfor por el método de Cromatografía de Gases.
- Prospectiva: El método analítico validado será un apoyo para futuras investigaciones, en el uso del equipo cromatógrafo de gases como en la elaboración del protocolo e informe de validación.

4.2. Investigación Bibliográfica

Para la elaboración del presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica en:

- Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Digital Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
- Internet.

4.3. Investigación de Campo

Se seleccionó el producto de Vick Vaporub debido a que es el producto más reconocido comercialmente y, además, se encuentra fácilmente en cualquier tienda, farmacia o supermercado de todo el país. Este producto contiene en su formulación los activos mentol y alcanfor que son de interés para realizar la validación del método de análisis. No se realizó un estudio de mercado debido, a que el objetivo de la investigación es el método a validar y no el producto.

Para lograr una mejor homogenización en la muestra se seleccionaron 20 tarros al azar del mismo lote en la presentación de 50 g de ungüento, los cuales se adquirieron en la despensa de Don Juan en el centro comercial Las Terrazas, por ser un lugar ubicado en una zona céntrica de fácil acceso.

Se realizó una validación tipo esbelta, ya que se demuestra y evidencia por la documentación de que el proceso es previsto basado en resultados, que garantizan el cumplimiento de los resultados.

Según el Reglamento Técnico Centroamericano para productos farmacéuticos, Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos RTCA 11.03.39:06, clasifica los procedimientos analíticos en cuatro categorías, y la validación de mentol y alcanfor en ungüento, cumple con la categoría I para pruebas cuantitativas del contenido de principios activos.

4.3.1. Universo

El universo lo constituyen los productos ungüentos que contengan en su formulación mentol y alcanfor.

4.3.2. Muestra

Para obtener una mejor homogenización de la muestra, se seleccionaron al azar 20 tarros de marca comercial Vick vaporub ungüento que contenga en su formulación mentol y alcanfor e igual número de lote en presentación de 50 g. La muestra se trasladó al laboratorio en una bolsa plástica y se rotuló con el nombre Vick Vaporub ungüento. Dentro del laboratorio la muestra se conservó a temperatura controlada entre 22 °C – 25 °C.

Formula detallada en la etiqueta: Cada 100 g del producto contiene alcanfor 5.26 g; mentol 2.82 g; aceite de eucalipto 1.33 g; excipientes csp 100 g.

4.4. Parte Experimental

Consumibles, cristalería y equipo utilizado ver anexo N° 1.

4.4.1. Procedimiento para la valoración de mentol y alcanfor

-Abrir la llave de los gases Hidrogeno, Helio y Aire.

-Encender el equipo cromatógrafo de gases y la computadora que conecta el equipo.

-Colocar la columna en el horno del equipo, asegurándose de fijarla bien para evitar posible fuga de gas.

-Abrir el software en la computadora del equipo cromatógrafo de gases, y realizar el chequeo interno. El equipo verifica su buen funcionamiento y se asegura que no se encuentre fugas de gas en la columna.

-Programar la temperatura del horno del equipo y esperar hasta que el equipo indique que está listo para ser utilizado.

4.4.1.1. Condiciones cromatografías

Modo: Cromatografía de Gases

Detector: Ionización de llama (FID) a 250 °C

Columna: G43

Dimensiones de Columna: 30 m de largo x 0.25 mm de ancho x 1.4 µm Film.

Gas Carrier: Helio

Flujo: 2.01 mL / min

Makeup flow (He): 30.8 mL / min

Flujo de Columna + Hidrogeno: 31.2 mL / min

Flujo de Columna + Aire: 42.6 mL / min

Flujo de venteo: 29.8 mL / min

Purga: 2.58 mL / min

Tipo de inyección: Split

Temperatura de inyector: 250 °C

Temperatura Horno inicial: 70 °C, tiempo: 1 minuto

Rampa 1: 75 °C / min

Temperatura Horno final: 180 °C, tiempo: 9 minutos

Volumen: 1.0 µL

4.4.1.2. Preparación de las soluciones de trabajo para la valoración de mentol y alcanfor ⁽⁹⁾.

- Preparación de las soluciones estándar (ver anexo N° 4)

- Preparación de la solución muestra (ver anexo N° 4)

Programar el equipo con las condiciones cromatográficas y colocar los viales con la solución estándar y la solución muestra en el automuestreador. En el software del equipo se programa el método, data, y secuencia colocando el número correspondiente a la ubicación en el automuestreador.

Esperar que termine de leer la secuencia y realizar el cálculo de la muestra con respecto al estándar, colocando la concentración real y tomando en cuenta que la cuantificación se realiza de punto a punto para poder obtener la

concentración de la muestra en porcentaje. El equipo calcula la concentración de la muestra, presentando un reporte con el cromatograma.

4.4.2. Protocolo de Validación de Mentol y Alcanfor Ungüento

1. Objetivo

Validar la prueba de ensayo para Mentol y alcanfor en ungüento por método de Cromatografía de Gases.

2. Alcance

La validación del método por Cromatografía de Gases se realizará en ungüento que rotulen mentol y alcanfor.

3. Responsables

Rosa Erlinda Luna Portillo

Lisbeth Concepción Ortega López

4. Parámetros a realizar

Por ser un método no normalizado, corresponde a la categoría I, los parámetros a estudiar serán los siguientes:

- Exactitud del método
- Precisión intermedia del método
- Linealidad del sistema y del método
- Especificidad

- Intervalo

5. Muestras

Estará conformada por una muestra de 20 tarros de producto terminado de Vick vaporub ungüento que rotule mentol y alcanfor e igual número de lote, presentación de 100g.

6. Equipos utilizados en la validación

- Cromatógrafo de Gases

- Balanza analítica

- Ultrasonido

7. Nombre del Método

Cromatografía de Gases.

8. Descripción del método

Los ensayos se realizan en un Cromatógrafo de Gases con un detector de ionización de llama (FID) y una columna G16 de 60 m x 0.25 mm x 0.5 μ m, con un flujo de aire de 42.6mL/min, hidrógeno de 31.2mL/min y Makeup flow (He) de 30.8mL/min a una temperatura del inyector de 250°C, del horno inicial de 70°C/1 min, de la rampa 1 de 75°C/1 min y la temperatura horno final de 180°C/9 min, con un volumen de inyección de 1 μ L.

- Reactivos

Metanol

Cloroformo

- Estándares

Estándares de Mentol y Alcanfor USP

- Materiales

Probeta de 10 mL, 25 mL y 250 mL

Beaker de 100 mL, 250 mL y 600 mL

Pipeta volumétrica de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL y 10 mL.

Balones volumétricos de 25 mL, 50 mL y 100 mL

Jeringas de 10 mL

Filtros de 0.45 μm

Perilla

- Condiciones ambientales

La validación de mentol y alcanfor en ungüentos se realizará a una temperatura controlada; condición lograda por el sistema de aire acondicionado del laboratorio en el cual se efectuará el estudio.

- Cristalería

La cristalería que se usará es de clase A, debidamente calibrada y cumple con las condiciones de lavado de cristalería.

Procedimiento

- Preparación del estándar

Pesar por separado aproximadamente 100.0mg de estándar de mentol y 100.0mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0mL, solubilizar con 20mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μ m, colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar.

- Preparación de la muestra

Pesar un equivalente a 100.0mg de mentol y alcanfor de muestra, en un balón volumétrico de 50.0mL, solubilizar con 20mL de cloroformo y colocarlo en baño maría hasta obtener una solución homogénea, llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0mL de la solución muestra y colocarla en un balón volumétrico de 50.0mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μ m, colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar.

- Parámetros de validación y Criterio de aceptación

1. Especificidad

Preparar una solución estándar al 100 % y solución muestra al 100%, de igual forma como se indica en la preparación de solución estándar y solución muestra, e inyectar por duplicado.

Criterio de aceptación: El tiempo de retención que presenta el pico principal de la solución muestra coincide con el tiempo de retención del pico principal de la solución estándar.

2. Linealidad del Sistema

Preparar 5 niveles del estándar distribuidos uniformemente en el rango de interés. Leer cada nivel por triplicado.

Criterios de aceptación: Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica (área), datos aleatorios en el gráfico de residuales, intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero, cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva y r mayor o igual a 0.98.

3. Linealidad del método

Preparar 5 niveles de muestra más estándar agregado distribuidos uniformemente en el rango de interés. Leer cada nivel por triplicado.

Criterio de aceptación: Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica (área); datos aleatorios en el gráfico de residuales; intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero, cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva; y r mayor o igual a 0.98.

4. Exactitud

Preparar de la misma forma que la linealidad del sistema, 3 niveles de concentración del estándar bajo y alto por triplicado e intermedio por sextuplicado. Incluir el rango de trabajo del método.

Criterio de aceptación: Porcentaje de recuperación cercano al 100 %.

5. Precisión

Preparar de la misma forma que la linealidad del sistema, 3 niveles de concentración del estándar; bajo, medio y alto por sextuplicado bajo condiciones de repetibilidad.

Criterio de aceptación: Determinar el coeficiente de variación.

6. Intervalo

Se trabajará en un rango de trabajo del 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 % sobre lo rotulado, para mentol y alcanfor.

4.4.3. Informe de Validación de Mentol y Alcanfor Ungüento

Introducción

La validación del método analítico para la cuantificación de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases, seguir los requerimientos de validación del RTCA 11.03.39:06 Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos, para un método analítico no normalizado, evaluando los parámetros: especificidad, exactitud, precisión, linealidad del sistema, linealidad del método e intervalo.

1. Objetivo

Validar la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por Cromatografía de Gases.

2. Alcance

La validación del método por Cromatografía de Gases se realizará en ungüento que rotulen mentol y alcanfor.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

Cromatógrafo de gases

Balanza analítica

Metanol

Cloroformo

Muestra (Código, lote, fecha de vencimiento)

Estándares de Mentol y Alcanfor USP

Probeta de 10 mL, 25 mL y 250 mL

Beaker de 100 mL, 250 mL y 600 mL

Pipeta volumétrica de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL y 10 mL.

Balones volumétricos de 25 mL, 50 mL y 100 mL

Jeringas de 10 mL

Filtros de 0.45 μm

4. Resultados y Discusión de resultados

5. Resumen de resultados

6. Conclusiones

7. Recomendaciones

8. Resumen de resultados

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE MENTOL Y ALCANFOR
UNGÜENTO.

PRESENTADO POR:

ROSA ERLINDA LUNA PORTILLO

LISSETH CONCEPCION ORTEGA LOPEZ

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JUNIO, 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

INDICE

1. Objetivo
2. Alcance
3. Responsables
4. Parámetros a realizar
5. Muestras
6. Equipos utilizados en la validación
7. Nombre del método
8. Descripción del método
9. Procedimiento de validación
10. Anexos

5.1. Protocolo de Validación de Mentol y Alcanfor Ungüento

1. Objetivo

Validar la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por el método de Cromatografía de Gases.

2. Alcance

La validación del método por Cromatografía de Gases se realizará en ungüento de mentol y alcanfor.

3. Responsables

Rosa Erlinda Luna Portillo

Lisseth Concepción Ortega López

4. Parámetros a realizar

Por ser un método no normalizado, corresponde a la categoría I del Reglamento Centroamericano RTCA 11.03.39:06, los parámetros a estudiar serán los siguientes:

- Exactitud
- Precisión
- Linealidad del sistema
- Linealidad del método
- Especificidad
- Intervalo

5. Muestras

Estará conformada por una muestra de 20 tarros de producto terminado de Vick vaporub ungüento que contenga en su formulación mentol y alcanfor e igual número de lote, presentación de 50 g.

Formula: Cada 100 g del producto contiene alcanfor 5.26 g; mentol 2.82 g; aceite de eucalipto 1.33 g; excipientes csp 100 g.

6. Equipos utilizado en la validación

- Cromatógrafo de Gases
- Balanza analítica
- Ultrasonido

7. Nombre del Método

Cromatografía de Gases.

8. Descripción del método

Los ensayos se realizan en un Cromatógrafo de Gases con un detector de ionización de llama (FID) y una columna G43 de 30 m x 0.25 mm x 1.4 μ m, con un flujo de aire de 42.6 mL / min, hidrogeno de 31.2 mL / min y Makeup flow (He) de 30.8 mL / min a una temperatura del inyector de 250 °C, del horno inicial de 70 °C / 1 min, de la rampa 1 de 75 °C / 1 min y la temperatura horno final de 180 °C / 9 min, con un volumen de inyección de 1 μ L.

- Reactivos

Metanol

Cloroformo

- Estándares

Estándares de Mentol y Alcanfor USP

- Materiales

Probeta de 10 mL, 25 mL y 250 mL

Beaker de 100 mL, 250 mL y 600 mL

Pipeta volumétrica de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL y 10 mL.

Balones volumétricos de 25 mL, 50 mL y 100 mL

Jeringas de 10 mL

Filtros de 0.45 μm

Perilla

- Condiciones de laboratorio

La validación de mentol y alcanfor en ungüentos se realizará a una temperatura controlada, condición lograda por el sistema de aire acondicionado del laboratorio en el cual se efectuará el estudio.

- Cristalería

La cristalería que se usara es de clase A, debidamente calibrada y cumple con las condiciones de lavado de cristalería.

9. Procedimiento de validación

Encender el equipo cromatógrafo de gases, esperar que el equipo realice el chequeo interno de conexión y fuga

9.1. Preparación del estándar

Pesar por separado aproximadamente 150.0 mg de estándar de mentol y 279.8.0 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

9.2. Preparación de la muestra

Pesar el equivalente a 150.0 mg de mentol y 279.8 mg de alcanfor (pesando aproximadamente 5.3191 g de muestra) en un balón volumétrico de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y colocarlo en baño maría hasta obtener una solución homogénea, llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de la solución muestra y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra en un vial con septa e inyectar. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

9.3. Parámetros de validación y Criterio de aceptación

9.3.1. Especificidad/Selectividad

Solución estándar al 100 %: Pesar por separado aproximadamente 150.0 mg de estándar de mentol y 279.80 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol,

homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por sextuplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Solución al 100 %: Pesar por separado 2.5517 g de muestra (equivalente a 75.0 mg de mentol y 139.9 mg alcanfor) y adicionar aproximadamente 75.0 mg de estándar de mentol y 139.9 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por sextuplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Criterio de aceptación: Determinar el porcentaje de coeficiente de variación (%CV menor o igual al 3.0 %) y la diferencia relativa porcentual (%DRP menor o igual al 5.0 %)

9.3.2. Linealidad del Sistema

Preparar 5 niveles de concentración del estándar distribuidos uniformemente por triplicado.

Solución estándar al 50 %: Pesar por separado aproximadamente 75.0 mg de estándar de mentol y 139.9.0 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.15 mg/mL de mentol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 80 %: Pesar por separado aproximadamente 120.0 mg de estándar de mentol y 223.8 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.24 mg/mL de mentol y 0.4477 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 100 %: Pesar por separado aproximadamente 150.0 mg de estándar de mentol y 279.8.0 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 120 %: Pesar por separado aproximadamente 180.0 mg de estándar de mentol y 335.8 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.36 mg/mL de mentol y 0.6716 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 160 %: Pesar por separado aproximadamente 240.0 mg de estándar de mentol y 447.7 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol.

Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.48 mg/mL de mentol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

Criterios de aceptación: Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica, datos aleatorios en el gráfico de residuales, intervalo de confianza del intercepto (IC) debe incluir el cero, cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva; y coeficiente de correlación (r) mayor o igual a 0.98.

9.3.3. Linealidad del método

Preparar 5 niveles de concentración de muestra más estándar adicionado distribuido uniformemente por triplicado. Las soluciones se preparan a concentraciones de 50 %, 80 %, 100 %, 120 % y 160 %.

Solución al 50 %: Pesar 1.2759 g de muestra (37.5 mg de mentol y 69.95 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 37.5 mg de estándar de mentol (equivalente a 37.5 mg de mentol) y 71.7 mg de estándar de alcanfor (69.95 mg de alcanfor) y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución estándar). Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar, en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.15 mg/mL de mentol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

Solución al 80 %: Pesar 2.0414 g de muestra (60.0 mg de mentol y 111.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 59.9mg de mentol (60.0 mg de estándar de mentol) y 114.65 mg de alcanfor (111.9 mg de estándar de alcanfor), solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.24 mg/mL de mentol y 0.4477 mg/mL de alcanfor.

Solución al 100 %: Pesar 2.5517 g de muestra (75.0 mg de mentol y 139.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 74.9 mg de mentol (75.0 mg de estándar de mentol) y 143.3 mg de alcanfor (139.9 mg de estándar de alcanfor), solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Solución al 120 %: Pesar 3.06204 g de muestra (90.0 mg de mentol y 167.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 89.9 mg de mentol (90.0 mg de estándar de mentol) y 172.0 mg de alcanfor (167.9 mg de estándar de alcanfor), solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol.

Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.36 mg/mL de mentol y 0.6716 mg/mL de alcanfor.

Solución al 160 %: Pesar 4.0827 g de muestra (120.0 mg de mentol y 223.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 119.9 mg de mentol (120.0 mg de estándar de mentol) y 229.4 mg de alcanfor (223.9 mg de estándar de alcanfor), solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.48 mg/mL de mentol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

Criterio de aceptación: Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica; datos aleatorios en el gráfico de residuales; intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero, cuando de incluyan concentraciones bajas en la curva; y coeficiente de correlación (r) mayor o igual a 0.98.

9.3.4. Exactitud

Preparar 3 niveles de concentración del estándar bajo y alto por triplicado e intermedio por sextuplicado. Incluir el rango de trabajo del método.

Solución estándar al 50 %: Pesar por separado aproximadamente 75.0 mg de estándar de mentol y 139.9.0 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.15 mg/mL de mentol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 100 %: Pesar por separado aproximadamente 150.0 mg de estándar de mentol y 279.8.0 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por sextuplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Solución estándar al 160 %: Pesar por separado aproximadamente 240.0 mg de estándar de mentol y 447.7 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.48 mg/mL de mentol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

Criterio de aceptación: Porcentaje de recuperación del 93.0 % al 107.0 %.

9.3.5. Precisión

Preparar 3 niveles de concentración de muestra más estándar; bajo, medio y alto por sextuplicado bajo condiciones de repetibilidad.

Solución al 50 %: Pesar 1.2759 g de muestra (37.5 mg de mentol y 69.95 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 37.5 mg de estándar de mentol y 69.95 mg de estándar de alcanfor y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución estándar). Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar, en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.15 mg/mL de mentol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

Solución al 100 %: Pesar 2.5517 g de muestra (75.0 mg de mentol y 139.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 75.0 mg de estándar de mentol y 139.9 mg de estándar de alcanfor, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Solución al 160 %: Pesar 4.0827 g de muestra (120.0 mg de mentol y 223.9 mg alcanfor) en un balón volumétrico de 50.0 mL y solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol (solución muestra). En un segundo balón volumétrico de 50.0 mL, pesar aproximadamente 120.0 mg de estándar de mentol y 223.9 mg de estándar de alcanfor, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de solución muestra y solución estándar en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución muestra más estándar en un vial con septa e inyectar por triplicado. Concentración final: 0.48 mg/mL de mentol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

Criterio de aceptación: Determinar el coeficiente de variación (% CV menor o igual a 3 %).

9.3.6. Intervalo

Se realizará en un rango de trabajo para el mentol de 0.15 mg/mL, 0.24 mg/mL, 0.30 mg/mL, 0.36 mg/mL y 0.48 mg/mL; y un rango de trabajo para el alcanfor de 0.2798 mg/mL, 0.4477 mg/mL, 0.5596 mg/mL, 0.6716 mg/mL y 0.8954 mg/mL. Y del 50.0 %, 80.0 %, 100.0 %, 120.0 % al 160 % sobre lo rotulado para mentol y alcanfor.

Tabla N° 1. Resumen de criterios de aceptación para los parámetros de Desempeño involucrados en la Validación.

Parámetros	Descripción	Especificación
Especificidad/Selectividad	Determinar el porcentaje de coeficiente de variación (%CV) y la diferencia relativa porcentual (%DRP)	%CV menor o igual al 3.0 % y %DRP menor o igual al 5.0 %
Linealidad del sistema	Comportamiento lineal en la gráfica, datos aleatorios en el gráfico de residuales; y coeficiente de correlación (r)	r mayor o igual a 0.98.
Linealidad del método		
Exactitud	Porcentaje de recuperación e intervalo de confianza del intercepto incluye el 100%	93.0 % - 107.0 % IC incluye 100%
Precisión	% Coeficiente de variación	%CV menor o igual a 3.0%
Intervalo	Rango de trabajo	50.0%-160.0%

10. Anexos

Anexo N° 1: Cálculos realizados en la metodología analítica para la preparación de las soluciones en la validación de mentol y alcanfor ungüento.

Preparación de soluciones a diferentes niveles de concentración

-Cascada de dilución soluciones estándar de mentol al 100.1 % y alcanfor al 97.6 %

$x = [(150.0 \text{ mg mentol}) \times (100 \%)] / (100.1 \%) = 149.9 \text{ mg estándar de mentol, equivalente a } 150.0 \text{ mg de mentol.}$

$x = [(279.8 \text{ mg alcanfor}) \times (100 \%)] / (97.6 \%) = 286.7 \text{ mg estándar de alcanfor, equivalente a } 279.8 \text{ mg de alcanfor.}$

Se prepararon 5 niveles de concentración del estándar para linealidad del sistema.

74.9mg mentol+143.3mg alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)
 ↓
 5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 50%; concentración final: 0.150 mg/mL de metanol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

119.9mg mentol+229.3mg alcanfor → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)
 ↓
 5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 80%; concentración final: 0.240mg/mL de metanol y 0.4477 mg/mL de alcanfor.

149.9mg mentol+286.7mg alcanfor → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)
 ↓
 5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 100%; concentración final: 0.300mg/mL de metanol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

179.8mg mentol+344,0mg alcanfor → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 120%; concentración final: 0.360mg/mL de metanol y 0.6716 mg/mL de alcanfor.

239.8mg mentol+458.7mg alcanfor → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 160%; concentración final: 0.480mg/mL de metanol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

-Cascada de dilución de solución muestra más estándar de mentol al 100.1 % y alcanfor al 97.6 %

$x = [(37.5 \text{ mg mentol}) \times (100 \%)] / (100.1 \%) = 37.5 \text{ mg estándar de mentol, equivalente a } 37.5 \text{ mg de mentol.}$

$x = [(69.95 \text{ mg alcanfor}) \times (100 \%)] / (97.6 \%) = 71.7 \text{ mg estándar de alcanfor, equivalente a } 69.95 \text{ mg de alcanfor.}$

Se prepararon 5 niveles de concentración de muestra más estándar para linealidad del método.

1.2759 g Muestra → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

37.5mg St.mentol+71.7mg St.alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución al 50% de muestra + estándar; concentración final: 0.150 mg/mL de metanol y 0.2798 mg/mL de alcanfor.

2.0414 g Muestra → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

59.9mg St.mentol+114.65mg St.alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 80%; concentración final: 0.240mg/mL de metanol y 0.4477 mg/mL de alcanfor.

2.5517 g Muestra → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

74.9mg St.mentol+143.3mg St.alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 100%; concentración final: 0.300mg/mL de metanol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

3.06204 g Muestra → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

89.9mg St.mentol+172.0mg St.alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)



5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 120%; concentración final: 0.360mg/mL de metanol y 0.6716 mg/mL de alcanfor.

4.0827 g Muestra → 50.0mL (20mL cloroformo+30mL metanol)
↓
5.0mL → 50.mL (metanol)

119.9mg St.mentol+229.4mg St.alcanfor → 50.0mL(20mL cloroformo+30mL metanol)
↓
5.0mL → 50.mL (metanol)

Solución estándar al 160%; concentración final: 0.480mg/mL de metanol y 0.8954 mg/mL de alcanfor.

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



**INFORME DE VALIDACIÓN DE MENTOL Y ALCANFOR
UNGÜENTO.**

PRESENTADO POR:

ROSA ERLINDA LUNA PORTILLO

LISSETH CONCEPCION ORTEGA LOPEZ

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO, 2021

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

INDICE

1. Objetivo
2. Alcance
3. Equipos, materiales y reactivos
4. Resultados y discusión de resultados
5. Resumen de resultados
6. Conclusiones
7. Recomendaciones
8. Bibliografía
9. Anexos

4.6. Informe de Validación de Mentol y Alcanfor Ungüento

Introducción

La validación del método analítico para la cuantificación de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases, ha seguido los requerimientos de validación del RTCA 11.03.39:06 Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos, para un método analítico no normalizado, evaluando los parámetros: especificidad/selectividad, exactitud, precisión, linealidad del sistema, linealidad del método e intervalo.

1. Objetivo

Validar la prueba de ensayo para Mentol y Alcanfor en ungüento por Cromatografía de Gases.

2. Alcance

La validación del método por Cromatografía de Gases se realizará en ungüento de mentol y alcanfor.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

Cromatógrafo de gases

Balanza analítica

Metanol

Cloroformo

Muestra: Vick Vaporub, ungüento, lote: 90714354M1, vencimiento: febrero/2021,
Ensayo: mentol 109.8 % y alcanfor 104.0 %.

Estándar secundario de Mentol, lote: 117006, pureza: 100.1%, fecha de reanálisis: 09/2019, trazable al estándar primario USP lote: R00640

Estándar secundario de Alcanfor, lote: 140117, pureza: 97.6 %, fecha de reanálisis: 11/2019, trazable al estándar primario USP lote: R02450 Probeta de 25 mL

Beaker de 250 mL y 600 mL

Pipeta volumétrica de 5 mL

Balones volumétricos de 50 mL

Viales y septas

Jeringas de 10 mL

Filtros de 0.45 μm

Perilla

4. Resultados y Discusión de resultados

4.1 Especificidad/Selectividad

El parámetro de Especificidad/selectividad se determinó al 100 % de concentración. Los resultados de especificidad/selectividad obtenidos cumplen con el criterio de aceptación con un porcentaje de coeficiente de variación (% CV) para el mentol de 1.58 % y para el alcanfor de 2.41 %; al igual que con la diferencia relativa porcentual (% DRP) se obtuvo un valor de 2.80 % para el mentol y 2.40 % para el alcanfor.

El % CV y el % DRP se calculan a través de la siguiente fórmula.

$$\%CV = S/\bar{Y} * 100\%$$

$$\%DRP = (\text{valor mayor} - \text{valor menor}) / ((\text{valor mayor} + \text{valor menor}) / 2)$$

Tabla N° 13. Especificidad/Selectividad para mentol y alcanfor

Especificidad/Selectividad				
Mentol			Alcanfor	
No.	Área sin interferencia	Área con interferencia	Área sin interferencia	Área con interferencia
1	35020010	35032371	63575135	62360017
2	35014435	34370506	63677754	63135561
3	34594132	34261956	63212558	63114494
4	35999286	34384201	64747927	63326234
5	35244091	34989051	66510993	64135859
6	35939628	32923451	66791892	63245438
Promedio	35301930.33	34326922.67	64752709.83	63219600.50
s	558465.71	763571.21	1559751.69	567196.92
% CV	1.58	2.22	2.41	0.90
% CV Global	1.58		2.41	
% DRP	2.80		2.40	

4.2 Linealidad del sistema

El parámetro de linealidad del sistema se determinó en un amplio rango de concentración. Para lo cual se prepararon soluciones estándar a 5 niveles de concentración: 50%, 80%, 100%, 120%, 160% (preparación de soluciones Ver protocolo de validación). Seguidamente las soluciones una vez preparadas recibieron un previo tratamiento para luego ser inyectadas en el Cromatógrafo de gases; cada una de ellas se inyectó por triplicado (proceso de inyección ver protocolo de validación) obteniéndose un total de 15 datos de área de los respectivos cromatogramas; las cuales se introdujeron en la fórmula de la ley de Beer y determinar el Promedio de los porcentajes de Recuperación de las concentraciones obtenidas (\bar{Y}), la Desviación Estándar, el CV y el r , la Pendiente con respecto al origen (b_0), el Intercepto (b_1), la Desviación Estándar de Regresión ($S_{y/x}$), la Desviación Estándar con respecto al Intercepto (S_{b1}); la Desviación Estándar con Respecto al Origen (S_{b0}). Obteniendo una ecuación

para mentol $y = 114938768X + 134639.24$; y para el alcanfor $y = 115858086X + 445957.89$.

El coeficiente de correlación (r) indica el grado de relación entre la variable X (concentración) y la variable Y (respuesta), un valor cercano a 1 significa que existe correlación con una probabilidad elevada. El valor obtenido para el coeficiente de correlación es 0.9994 para el mentol y de 0.9995 para el alcanfor.

El %CV del método debe de ser menor o igual al 3%. Y el r mayor o igual al 0.98.

Tabla N° 14. Linealidad del sistema para mentol

Concentración teórica	Área	Concentración práctica	% recuperación	Desviación	Promedio	% CV
0.15	17432600	0.150	100.33	0.92	101.32	0.91
0.15	17631205	0.152	101.48			
0.15	17745602	0.153	102.15			
0.24	27439512	0.238	98.98	1.24	100.25	1.24
0.24	28125612	0.244	101.47			
0.24	27799646	0.241	100.29			
0.30	34502290	0.299	99.67	2.10	99.24	2.11
0.30	34992995	0.303	101.09			
0.30	33568999	0.291	96.96			
0.36	41346500	0.359	99.60	0.66	99.10	0.66
0.36	40834405	0.354	98.36			
0.36	41245420	0.358	99.35			
0.48	55638468	0.483	100.60	0.20	100.61	0.20
0.48	55531686	0.482	100.41			
0.48	55753593	0.484	100.81			

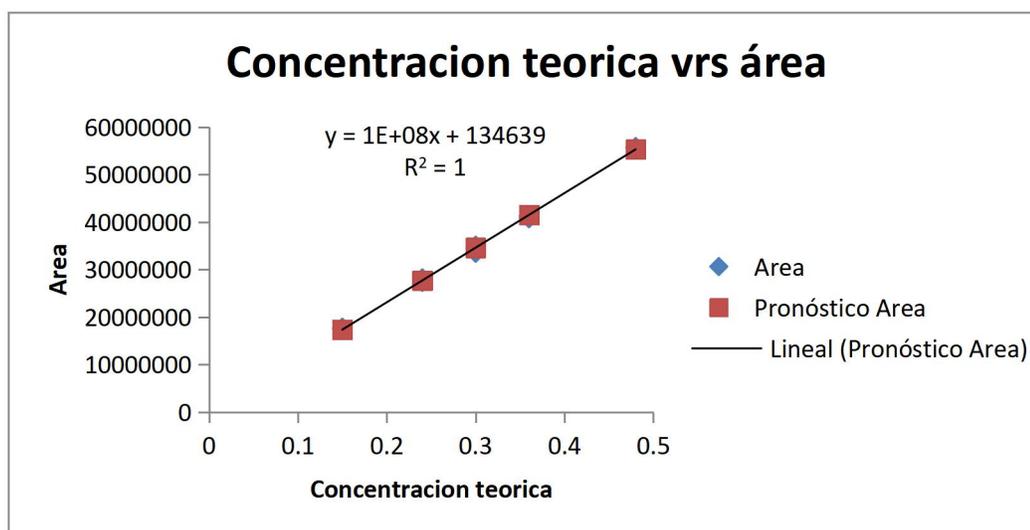


Figura N° 1. Gráfico concentración teórica vrs área para mentol. Fuente: Elaboración propia.

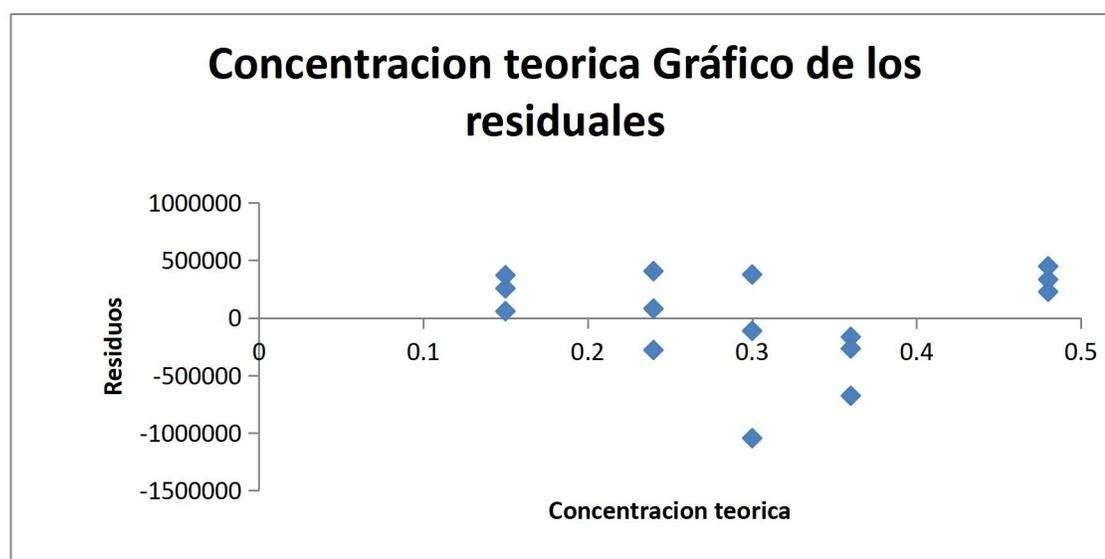


Figura N° 2. Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para mentol. Fuente: Elaboración propia.

En la figura de gráfico de residuales para el mentol se observa que se encuentran distribuidos aleatoriamente.

Tabla N° 15. Linealidad del sistema para alcanfor

Concentración teórica	Área	Concentración practica	% recuperación	Desviación	Promedio	% CV
0.2798	32928490	0.2804	100.20	1.07	101.42	1.05
0.2798	33460970	0.2850	101.84			
0.2798	33578286	0.2860	102.21			
0.4477	51707731	0.4425	98.83	1.20	100.11	1.20
0.4477	52940599	0.4531	101.20			
0.4477	52462772	0.4490	100.28			
0.5596	64884184	0.5562	99.39	1.46	99.44	1.47
0.5596	65880844	0.5648	100.93			
0.5596	63987594	0.5484	98.01			
0.6715	77760437	0.6673	99.38	0.79	98.93	0.80
0.6715	76701527	0.6582	98.02			
0.6715	77784733	0.6675	99.41			
0.8954	104870958	0.9013	100.66	0.11	100.65	0.11
0.8954	104741648	0.9002	100.54			
0.8954	104975529	0.9022	100.76			

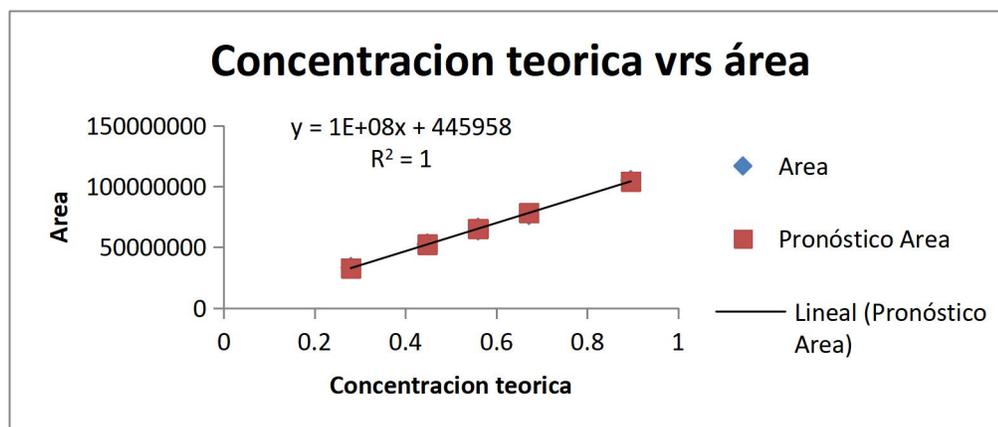


Figura N° 3. Gráfica concentración teórica vrs área para el alcanfor. Fuente: Elaboración propia.

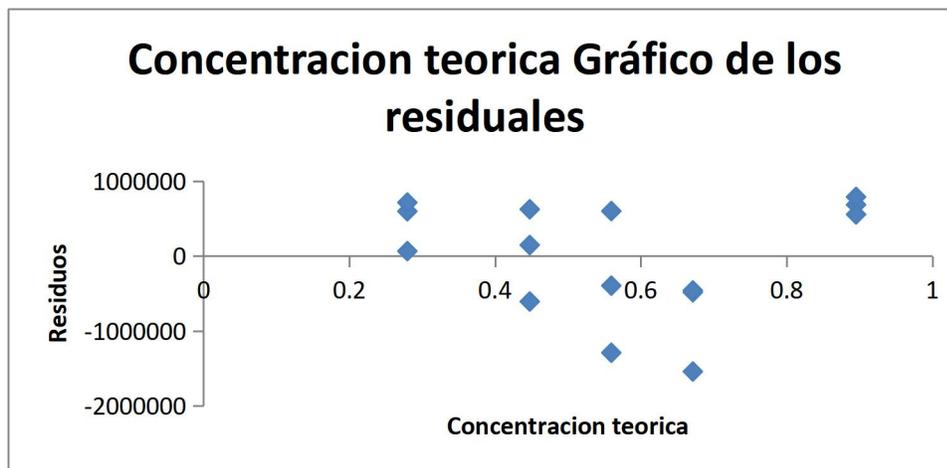


Figura N° 4. Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para alcanfor.
Fuente: Elaboración propia.

En la figura de gráfico de residuales para alcanfor se observa que se encuentran distribuidos aleatoriamente.

4.3 Linealidad del método

El parámetro de linealidad del método se determinó en un amplio rango de concentración. Para lo cual se prepararon soluciones directamente del producto a 5 niveles de concentración: 50%, 80%, 100%, 120%, 160% (preparación de soluciones Ver protocolo de validación). Seguidamente las soluciones una vez preparadas recibieron un previo tratamiento para luego ser inyectadas en el cromatógrafo de gases; cada una de ellas se inyectó por triplicado (proceso de inyección ver protocolo de validación) obteniéndose un total de 15 datos de área de los respectivos cromatogramas; las cuales se introdujeron en la ley de Beer y poder determinar el Promedio de los porcentajes de Recuperación de las concentraciones obtenidas (\bar{Y}), la Desviación Estándar (s), el CV y el r , la Pendiente con respecto al origen (b_0), el Intercepto (b_1), la Desviación Estándar

de Regresión (Sy/x), la Desviación Estándar con respecto al Intercepto ($Sb1$); la Desviación Estándar con Respecto al Origen ($Sb0$)). Obteniendo una ecuación para mentol $y = 115605770.35X + 155433.61$; y para el alcanfor $y = 112990596.05X + 74045.31$.

El coeficiente de correlación (r) indica el grado de relación entre la variable X (concentración) y la variable Y (respuesta), un valor cercano a 1 significa que existe correlación con una probabilidad elevada. El valor obtenido para el coeficiente de correlación en mentol es 0.9988 y para el alcanfor es 0.9992.

Tabla N° 16. Linealidad del método para mentol

Concentración teórica	Área	Concentración practica	% recuperación	Desviación	Promedio	% CV
0.15	17364968	0.149	99.24	1.48	98.51	1.51
0.15	17406041	0.149	99.48			
0.15	16941415	0.145	96.80			
0.24	27531888	0.237	98.67	2.92	101.37	2.88
0.24	29141597	0.251	104.47			
0.24	28169174	0.242	100.97			
0.30	35093274	0.302	100.74	1.69	99.68	1.70
0.30	34048930	0.293	97.73			
0.30	35035278	0.302	100.57			
0.36	42184670	0.364	100.99	0.62	100.29	0.62
0.36	41803497	0.360	100.07			
0.36	41688279	0.359	99.80			
0.48	56751891	0.490	101.99	2.11	99.77	2.12
0.48	55382678	0.478	99.53			
0.48	54418410	0.469	97.79			

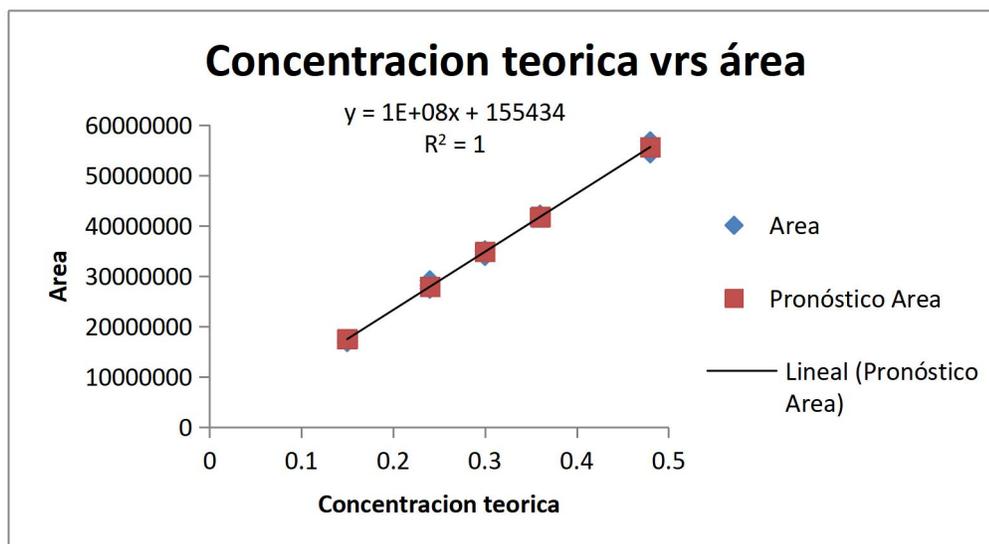


Figura N° 5. Gráfico concentración teórica vrs área para el mentol. Fuente: Elaboración propia.

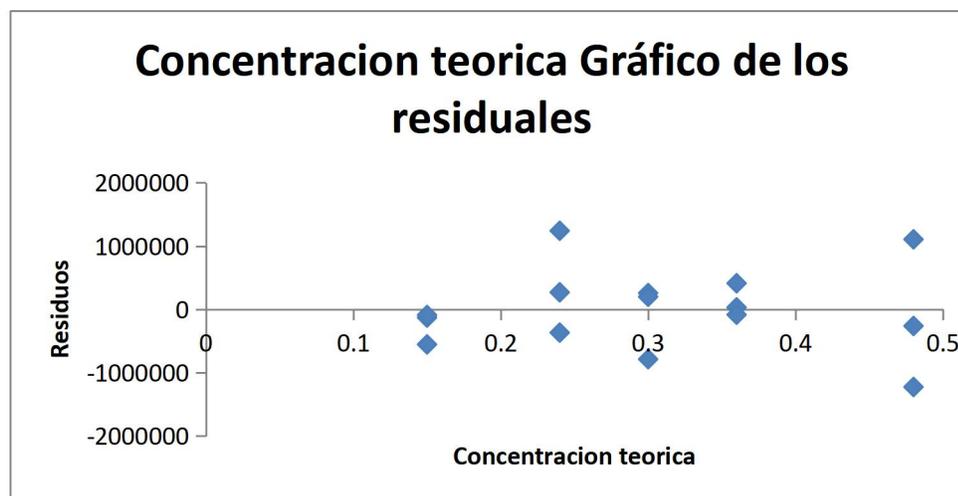


Figura N° 6. Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para mentol. Fuente: Elaboración propia.

En la figura de gráfico de residuales para mentol se observa que se encuentran distribuidos aleatoriamente.

Tabla N° 17. Linealidad del método para alcanfor

Concentración teórica	Área	Concentración practica	% recuperación	Desviación	Promedio	% CV
0.2798	31848687	0.2812	100.51	1.47	99.56	1.48
0.2798	31789008	0.2807	100.32			
0.2798	31014783	0.2738	97.87			
0.4477	50152029	0.4432	99.00	2.09	100.70	2.07
0.4477	52190802	0.4612	103.03			
0.4477	50696648	0.4480	100.07			
0.5596	63396391	0.5604	100.15	2.00	99.45	2.01
0.5596	61529697	0.5439	97.19			
0.5596	63935350	0.5652	101.00			
0.6715	76356000	0.6751	100.54	0.26	100.26	0.26
0.6715	76111386	0.6730	100.22			
0.6715	75967334	0.6717	100.03			
0.8954	103089084	0.9117	101.82	1.86	99.94	1.86
0.8954	101137695	0.8944	99.89			
0.8954	99321269	0.8784	98.10			

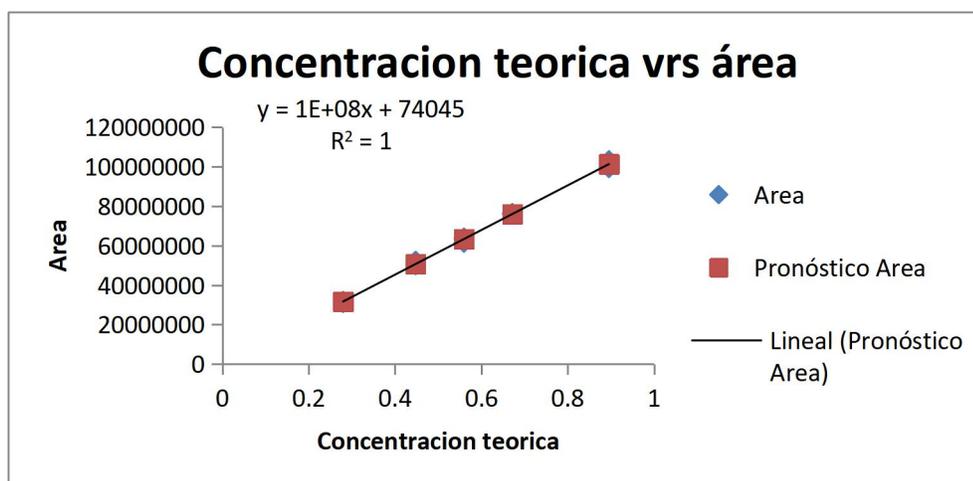


Figura N° 7. Gráfico concentración teórica vrs área para alcanfor. Fuente: Elaboración propia.

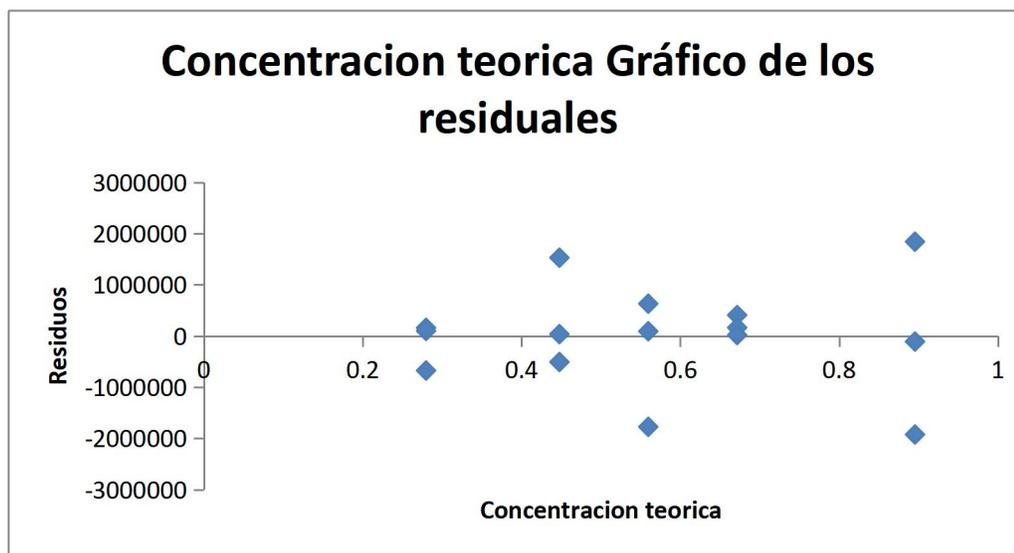


Figura N° 8. Concentraciones teóricas de gráfico de los residuales para alcanfor.
Fuente: Elaboración propia.

En la figura de gráfico de residuales para alcanfor se observa que se encuentran distribuidos aleatoriamente.

4.4. Exactitud

La exactitud se expresa como porcentaje de recobro. Este parámetro es un procedimiento analítico que busca expresar la proximidad entre el valor que es considerado como verdadero y el valor encontrado experimentalmente. Se realizó mediante el análisis de 3 niveles de concentración del estándar bajo (50%) y alto (160%) por triplicado e intermedio (100%) por sextuplicado.

La exactitud se expresó como porcentaje de recuperación, el cual se obtuvo un resultado entre 93 % al 107 % para mentol y alcanfor.

El porcentaje de recobro se calculó utilizando la siguiente fórmula.

$$\% \text{ RECOBRO} = \text{Cantidad Recuperada (mg)} / \text{Cantidad Adicionada (mg)} \times 100\%$$

El intervalo de confianza se calculó utilizando la siguiente formula:

$$IC = \text{Promedio} \pm \text{valor de tabla de t student (0.05)} \times \text{Raíz de N}$$

Tabla N° 18. Exactitud para mentol

Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
0.15	17432600	0.151	100.66	101.65	0.90
0.15	17631205	0.153	101.81		
0.15	17745602	0.154	102.47		
0.30	34502290	0.299	99.63	99.25	1.68
0.30	34992995	0.303	101.05		
0.30	33568999	0.291	96.94		
0.30	34266977	0.297	98.95		
0.30	34987928	0.303	101.03		
0.30	33892686	0.294	97.87		
0.48	55638468	0.482	100.42	100.43	0.20
0.48	55531686	0.481	100.23		
0.48	55753593	0.483	100.63		

El intervalo de confianza para el mentol incluye el 100 %, obteniéndose como resultado inferior de 99.15 % y como resultados superior de 101.14 %.

Promedio (%): 100.14

Desviación estándar: 1.58

N: 12.00

Raíz de N: 3.46

t student: 2.1788

IC inferior (%): 99.15

IC superior (%): 101.14

Tabla N° 19. Exactitud para alcanfor

Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
0.2798	32928490	0.2809	100.40	101.61	1.05
0.2798	33460970	0.2855	102.03		
0.2798	33578286	0.2865	102.39		
0.5596	64884184	0.5556	99.28	99.26	1.35
0.5596	65880844	0.5641	100.81		
0.5596	63987594	0.5478	97.90		
0.5596	64538497	0.5526	98.75		
0.5596	65948723	0.5647	100.91		
0.5596	64013418	0.5481	97.94		
0.8954	104870958	0.8992	100.43	100.42	0.11
0.8954	104741648	0.8981	100.30		
0.8954	104975529	0.9001	100.53		

El intervalo de confianza para el alcanfor incluye el 100 %, obteniéndose como resultado inferior de 99.24 % y como resultados superior de 101.04 %.

Promedio (%):	100.14
Desviación estándar:	1.43
N:	12.00
Raíz de N:	3.46
t student:	2.1788
IC inferior (%):	99.24
IC superior (%):	101.04

4.5. Precisión

La precisión determina el grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas por múltiples inyecciones de una muestra homogénea. Para este

parámetro se realizaron los siguientes niveles en los que se divide la Precisión del Método: la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

La repetibilidad y reproducibilidad se expresa matemáticamente mediante el coeficiente de variación de una serie de medidas.

La precisión intermedia se determinó la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, en un mismo laboratorio pero en condiciones operativas diferentes, y cambiando de analista.

Los valores de coeficiente de variación para métodos cromatográficos para cada analista, deberán estar por debajo del 3% y con mínima diferencia con respecto a dichos analistas.

Tabla N° 20. Precisión intermedia, reproducibilidad y repetibilidad de mentol

Condición	Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
Analista 1	0.15	17364968	0.149	99.61	100.40	1.59
	0.15	17406041	0.150	99.84		
	0.15	16941415	0.146	97.21		
	0.15	18063156	0.155	103.55		
	0.15	17508217	0.151	100.41		
	0.15	17755471	0.153	101.81		
Analista 2	0.15	17874555	0.154	102.48	101.01	
	0.15	17689113	0.152	101.44		
	0.15	17517484	0.151	100.47		
	0.15	17602873	0.151	100.95		
	0.15	17413215	0.150	99.88		
	0.15	17580442	0.151	100.82		

Tabla N° 20. Continuación

Condición	Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
Analista 1	0.30	35093274	0.300	99.86	98.81	2.06
	0.30	34048930	0.291	96.92		
	0.30	35035278	0.299	99.70		
	0.30	34630161	0.296	98.56		
	0.30	34626822	0.296	98.55		
	0.30	34886320	0.298	99.28		
Analista 2	0.30	35369578	0.302	100.64	99.90	
	0.30	34099767	0.291	97.06		
	0.30	35110795	0.300	99.91		
	0.30	34762388	0.297	98.93		
	0.30	36829562	0.314	104.77		
	0.30	34454918	0.294	98.06		
Analista 1	0.48	56751891	0.483	100.64	98.79	
	0.48	55382678	0.471	98.22		
	0.48	54418410	0.463	96.52		
	0.48	56176003	0.478	99.62		
	0.48	55557356	0.473	98.53		
	0.48	55931753	0.476	99.19		
Analista 2	0.48	59567331	0.507	105.61	101.58	
	0.48	58372242	0.497	103.50		
	0.48	55738040	0.474	98.85		
	0.48	59219404	0.504	105.00		
	0.48	55221024	0.470	97.94		
	0.48	55581675	0.473	98.58		

Tabla N° 21. Precisión intermedia, reproducibilidad y repetibilidad de alcanfor

Condición	Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
Analista 1	0.2798	31848687	0.2811	100.45	100.38	1.27
	0.2798	31789008	0.2805	100.27		
	0.2798	31014783	0.2738	97.86		
	0.2798	32493383	0.2867	102.46		
	0.2798	31691703	0.2797	99.96		
	0.2798	32111245	0.2833	101.27		
Analista 2	0.2798	32583464	0.2875	102.74	101.42	
	0.2798	32287584	0.2849	101.82		
	0.2798	32030042	0.2826	101.02		
	0.2798	32114533	0.2834	101.28		
	0.2798	31849288	0.2811	100.45		
	0.2798	32091829	0.2832	101.21		
Analista 1	0.5596	63396391	0.5553	99.24	98.78	1.69
	0.5596	61529697	0.5391	96.34		
	0.5596	63935350	0.5600	100.07		
	0.5596	63279414	0.5543	99.06		
	0.5596	63315544	0.5546	99.11		
	0.5596	63165137	0.5533	98.88		
Analista 2	0.5596	63622805	0.5573	99.59	99.57	
	0.5596	62208581	0.5450	97.39		
	0.5596	63662956	0.5576	99.65		
	0.5596	63247701	0.5540	99.01		
	0.5596	66075737	0.5786	103.40		
	0.5596	62852719	0.5506	98.39		
Analista 1	0.8954	103089084	0.9004	100.56	99.06	2.27
	0.8954	101137695	0.8834	98.66		
	0.8954	99321269	0.8677	96.90		
	0.8954	102437777	0.8947	99.93		
	0.8954	101099831	0.8831	98.63		
	0.8954	102161758	0.8923	99.66		

Tabla N° 21. Continuación

Condición	Concentración teórica	Área	Concentración practica	% Recuperación	Promedio	% CV
Analista 2	0.8954	107117967	0.9354	104.47	101.41	
	0.8954	105017874	0.9172	102.43		
	0.8954	102329918	0.8938	99.82		
	0.8954	106482172	0.9299	103.85		
	0.8954	100810581	0.8806	98.35		
	0.8954	102041094	0.8913	99.54		

4.6. Intervalo

El intervalo se trabajó en un rango de trabajo de concentraciones para el mentol de 0.15 mg/mL, 0.24 mg/mL, 0.30 mg/mL, 0.36 mg/mL y 0.48 mg/mL; y un rango de trabajo para el alcanfor de 0.2798 mg/mL, 0.4477 mg/mL, 0.5596 mg/mL, 0.6716 mg/mL y 0.8954 mg/mL. Representando el 50.0 %, 80.0 %, 100.0 %, 120.0 % al 160 % sobre lo rotulado para cada uno de los activos.

5. Resumen de resultados

En la siguiente tabla se presenta el resumen de resultados obtenidos en cada parámetro realizado en la validación de mentol y alcanfor ungüento por el método de Cromatografía de Gases.

Tabla N° 22. Resumen de resultados para mentol y alcanfor

Parámetros	Resultado	Especificación
Especificidad/Selectividad	El %CV para mentol es 1.58% y para alcanfor es 2.41% y la %DRP para mentol es 2.80% y para alcanfor es 2.40%.	%CV \leq 3.0 % y %DRP menor o igual al 5.0 %
Linealidad del sistema	Comportamiento lineal en la gráfica, datos aleatorios en el gráfico de residuales; r para mentol es 0.9994 y para alcanfor es 0.9995 y %CV es menor al 3 % en ambos activos	r \geq 0.98 y %CV \leq 3%
Linealidad del método	Comportamiento lineal en la gráfica, datos aleatorios en el gráfico de residuales; r para mentol es 0.9988 y para alcanfor es 0.9992 y %CV es menor al 3 % en ambos activos	
Exactitud	Porcentaje de recuperación para mentol y alcanfor esta debajo del 93.0 % al 107.0 %. Y El IC para mentol y alcanfor incluye el 100%.	% recuperación: 93.0 % - 107.0 % IC: 99.15%-101.04%
Precisión	%CV para mentol y alcanfor está por debajo del 3.0 %	%CV \leq 3.0%
Intervalo	Rango: 50%, 80%, 100%, 120%, 160%.	50.0%-160.0%

6. Conclusiones

- 6.1. El método de análisis por cromatografía de gases, para la cuantificación de mentol y alcanfor para el producto de Vick vaporub ungüento que rotula mentol y alcanfor, cumple con los criterios de aceptación definidos por el RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.
- 6.2. Los parámetros de validación evaluados como especificidad/selectividad, linealidad del sistema, linealidad del método, exactitud, precisión y rango de trabajo cumplen con las especificaciones planteadas, por lo que el método de validación para mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases es selectivo, lineal, exacto, preciso y cuantificable al rango de concentraciones definidas.
- 6.3. La metodología analítica validada proporciona datos confiables, ya que cumplen con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.

7. Recomendaciones

- 7.1. Es importante mantener las buenas prácticas de laboratorio para garantizar el trabajo y los resultados en un análisis.
- 7.2. Efectuar la calibración y/o calificación y mantenimientos preventivos vigentes de los instrumentos y equipos, para asegurar los resultados de los análisis realizados.

- 7.3. Para asegurar la trazabilidad del método validado se sugiere, utilizar estándares primarios o estándares secundarios con su respectivo certificado de análisis.

8. Bibliografía

- 8.1. Criterios para la verificación de métodos fisicoquímicos farmacopèicos. COFEPRIS. Clave CCAYAC-CR-04/0 2014.
- 8.2. Criterios para la verificación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos. COFEPRIS. Clave CCAYAC-CR-03/0. 2014.
- 8.3. Guía de Validación de métodos analíticos. Editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México, A. C.
- 8.4. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, EURACHEM, 2da Edición Inglesa, 1ra Edición Española, Eurolab España, 2016.
- 8.5. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA). Sistema de Gestión de Calidad. G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos, Versión 2. 2017.

9. Anexos

Anexo N°1: Ejemplos de cálculos realizados en informe de validación.

-Linealidad del método; Ejemplo de solución al 50% de muestra más estándar

5.1034 g de muestra contiene: 150.0mg mentol + 279.8mg alcanfor

$X = 37.5\text{mg mentol} \times 5.1034\text{g} / 150.0 \text{ mg mentol} = 1.2759 \text{ g de muestra}$

$X = 69.95\text{mg alcanfor} \times 5.1034\text{g} / 279.8\text{mg alcanfor} = 1.2759 \text{ g de muestra}$

1.2759g Mx+37.5mg st mentol+71.7mg st alcanfor \longrightarrow 50mL
 \downarrow
 5mL \longrightarrow 50mL

Concentración final: 0.150mg/mL mentol + 0.2798mg/mL alcanfor.

-Linealidad del método; Ejemplo de cálculo al 50%, equivalente a 0.150 mg/mL de mentol.

Concentración practica = (área – intercepto) / (pendiente)

Área: 17364968

Intercepto: 155433.61

Pendiente: 115605770.35

Concentración practica = $(17364968 - 155433.61) / (115605770.35) = 0.14886$

% de recuperación = $(\text{Concentración práctica} / \text{concentración teórica}) \times 100$

% de recuperación = $(0.14886 / 0.150) \times 100 = 99.24 \%$

Promedio = (sumatoria de los tres % de recuperación del nivel 1) / total de resultados

% recuperación 1: 99.24 %

% recuperación 2: 99.48 %

% recuperación 3: 96.80 %

Promedio = (99.24 % + 99.48 % + 96.80 %) / 3 = 98.51 %

%CV = $S/\bar{Y} \cdot 100\%$

Desviación estándar (S) = $\sqrt{\frac{\sum (xi-\bar{x})^2}{N}}$

$$S = \sqrt{\frac{(99.24\% - 98.51\%)^2 + (99.48\% - 98.51\%)^2 + (96.80\% - 98.51\%)^2}{2}} = 1.483$$

%CV = (1.483)(100) / (98.51 %) = 1.51 %

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

6.0. CONCLUSIONES

- 6.1. Con la elaboración del protocolo de validación de la prueba de ensayo para mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases, ha sido posible describir y definir los criterios de aceptación que el RTCA 11.03.39:06 "Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos" considera necesarios para validar un método de análisis.
- 6.2. Los parámetros de validación evaluados como especificidad/selectividad, linealidad del sistema, linealidad del método, exactitud, precisión y rango de trabajo cumplen con las especificaciones planteadas, por lo que el método de validación para mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases cumple con dichos parámetros.
- 6.3. Mediante la elaboración del informe de validación fueron evaluados los parámetros de desempeño establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 para el ensayo de mentol y alcanfor en ungüento, se determinó que el método analítico es válido para evaluar la calidad de dichos medicamentos en forma de ungüentos.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Es importante para los laboratorios de control de calidad cumplir y mantener las buenas prácticas de laboratorio para garantizar el trabajo, los resultados y las validaciones de un método analítico.
- 7.2. Se recomienda a los laboratorios de control de calidad que deben mantener los equipos utilizados calibrados y/o calificados y en mantenimiento preventivos vigentes, para asegurar los resultados en los análisis efectuados.
- 7.3. A la asignatura de control de calidad de productos farmacéuticos, cosméticos y veterinarios que para asegurar la trazabilidad de los métodos validados se pueden, utilizar estándares primarios o estándares secundarios debidamente estandarizados con su respectivo certificado de análisis.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Criterios para la verificación de métodos fisicoquímicos farmacopèicos. COFEPRIS. Clave CCAYAC-CR-04/0 2014.
2. Criterios para la verificación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos. COFEPRIS. Clave CCAYAC-CR-03/0. 2014.
3. National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Annotation Record for CAMPHOR, Source: Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Retrieved February 23, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/37#section=Preventive-Measures>.
4. National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Annotation Record for MENTHOL, Source: Hazardous Substances Data Bank (HSDB). Retrieved February 23, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/593#section=Overview>.
5. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, EURACHEM, 2da Edición Inglesa, 1ra Edición Española, Eurolab España, 2016.
6. Moffat, CA., Olssenton, M D., Watts, J. y Widdop, B. Clarkes Analisis of Drugs and Poisons. London Chicago: Advisory Board. Fourth ed,. Vol II. 2011.
7. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA). Sistema de Gestión de Calidad. G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos, Versión 2. 2017.

8. RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos. Anexo de la resolución N° 188 – 2006 (COMIECO-XL).
9. The United States Pharmacopeial Convention Inc. The United States Pharmacopeia. Forty Revisión and the National Formulary. Thirty five Edition. 2017.
10. Vargas Marquina, P. R. y Vásquez Pérez, G. C. Validación del método analítico por cromatografía de gases para cuantificar mentol en ungüento. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Perú, 2012.

GLOSARIO

Especificidad o selectividad: Capacidad de evaluar, medir e identificar simultánea o separadamente, los analitos de interés de forma inequívoca sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles presentes en la matriz de la muestra.

Exactitud o veracidad: Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese método y el valor verdadero.

Intervalo: amplitud entre las concentraciones inferior y superior de analito (incluyendo esos niveles), en la cual se puede determinar el analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método según se describe

Linealidad: capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado.

Método analítico: Adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado, en la cual se identifican los recursos materiales y el procedimiento.

Precisión: Expresa el grado de concordancia entre una serie de mediciones individuales obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea original o bien a partir de varias muestras obtenidas por dilución de la muestra bajo condiciones establecidas. Existen tres formas de determinación: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

Procedimiento analítico no oficial: Descripción detallada de los pasos necesarios para aplicar un método analítico desarrollado por el fabricante para la verificación de la calidad de su producto.

Validación: Establecimiento de la evidencia documental que un procedimiento analítico conducirá con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos.

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

ANEXOS

ANEXO N°1

Consumibles y equipos utilizados

- Aire grado cero
- Hidrogeno ultra puro
- Cloroformo
- Helio
- Metanol
- Columna capilar
- Viales y septas
- Jeringas
- Filtros PDVF 0.45 μ
- Cromatógrafo de gases
- Balones volumétricos
- Pipetas volumétricas
- Balanza analítica
- Baño de ultrasonido

ANEXO N° 2

RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos

REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO

RTCA 11.03.39: 06

ANEXO DE LA RESOLUCIÓN No. 188-2006 (COMIECO-XL)

**REGLAMENTO
TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.03.39: 06

PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

Correspondencia: No hay correspondencia con ninguna norma internacional

ICS 11.120.01

RTCA 11.03.39:06

Reglamento Técnico Centroamericano editado por:

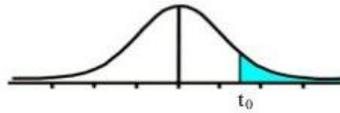
- **Ministerio de Economía, MINECO**
 - **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT**
 - **Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC**
 - **Secretaría de Industria y Comercio, SIC**
 - **Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC**
-

Figura N° 9. RTCA 11.03.39:06 Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.

ANEXO N° 3

Tablas estadísticas.

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7970
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500
31	0.6825	1.3095	1.6955	2.0395	2.4528	2.7440
32	0.6822	1.3086	1.6939	2.0369	2.4487	2.7385
33	0.6820	1.3077	1.6924	2.0345	2.4448	2.7333
34	0.6818	1.3070	1.6909	2.0322	2.4411	2.7284
35	0.6816	1.3062	1.6896	2.0301	2.4377	2.7238
36	0.6814	1.3055	1.6883	2.0281	2.4345	2.7195
37	0.6812	1.3049	1.6871	2.0262	2.4314	2.7154
38	0.6810	1.3042	1.6860	2.0244	2.4286	2.7116
39	0.6808	1.3036	1.6849	2.0227	2.4258	2.7079
40	0.6807	1.3031	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045
41	0.6805	1.3025	1.6829	2.0195	2.4208	2.7012
42	0.6804	1.3020	1.6820	2.0181	2.4185	2.6981
43	0.6802	1.3016	1.6811	2.0167	2.4163	2.6951
44	0.6801	1.3011	1.6802	2.0154	2.4141	2.6923
45	0.6800	1.3007	1.6794	2.0141	2.4121	2.6896
46	0.6799	1.3002	1.6787	2.0129	2.4102	2.6870
47	0.6797	1.2998	1.6779	2.0117	2.4083	2.6846
48	0.6796	1.2994	1.6772	2.0106	2.4066	2.6822
49	0.6795	1.2991	1.6766	2.0096	2.4049	2.6800

Figura N° 10. Tabla de distribución T –student₍₁₀₎

Distribución F de Fisher-Snedecor. Si la variable X es una F de Fisher-Snedecor con u y v grados de libertad, entonces la tabla contiene los valores $F_{\alpha,u,v}$ tales que $P(X > F_{\alpha,u,v}) = \alpha = 0,05$

v/u	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	60	∞
1	161,45	199,50	215,71	224,58	230,16	233,99	236,77	238,88	240,54	241,88	243,91	245,95	248,01	250,10	252,20	254,31
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,46	19,48	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,62	8,57	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,75	5,69	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,50	4,43	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,81	3,74	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,38	3,30	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,08	3,01	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,86	2,79	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,70	2,62	2,54
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,47	2,38	2,30
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,25	2,16	2,07
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,04	1,95	1,84
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,84	1,74	1,62
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,65	1,53	1,39
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,46	1,32	1,00

Figura N° 11. Tabla de Distribución Fischer₍₁₀₎

ANEXO N° 4

Cascada de dilución de Estándar y Muestra para la valoración de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases.

- **Cascada de dilución del Estándar de Mentol**

Pesar por separado aproximadamente 150.0 mg de estándar de mentol y 279.80 mg de estándar de alcanfor en balones volumétricos de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de cada solución estándar y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45 μm , colocar la solución estándar en un vial con septa e inyectar. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

150.0 mg Estándar Mentol ----- 50.0 mL (20 mL cloroformo + metanol)

|

5.0 mL -----50.0 mL (metanol)

279.8 mg Estándar Alcanfor ----- 50.0 mL (20 mL cloroformo + metanol)

|

5.0 mL -----50.0 mL (metanol)

- **Cascada de la muestra**

Pesar el equivalente a 150.0 mg de mentol y 279.8 mg de alcanfor (pesando aproximadamente 5.3191 g de muestra) en un balón volumétrico de 50.0 mL, solubilizar con 20 mL de cloroformo y colocarlo en baño maría hasta obtener una solución homogénea, llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 5.0 mL de la solución muestra y colocarla en un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar a volumen con metanol, homogenizar y filtrar a través de filtro PDVF 0.45

μm , colocar la solución muestra en un vial con septa e inyectar. Concentración final: 0.30 mg/mL de mentol y 0.5596 mg/mL de alcanfor.

Pesar 5.3191 g de muestra equivalente a:

150.0mg de Mentol+279.8mg Alcanfor --- 50.0 mL (20 mL cloroformo + metanol)

I

5.0 mL ----- 50.0 mL (metanol)

ANEXO N° 5

Ejemplos de cálculos realizados en la validación

Ejemplos de cálculos realizados en la validación

-Linealidad del método; Ejemplo de solución al 50% de muestra más estándar

5.1034 g de muestra contiene: 150.0mg mentol + 279.8mg alcanfor

$$X = 37.5\text{mg mentol} \times 5.1034\text{g} / 150.0 \text{ mg mentol} = 1.2759 \text{ g de muestra}$$

$$X = 69.95\text{mg alcanfor} \times 5.1034\text{g} / 279.8\text{mg alcanfor} = 1.2759 \text{ g de muestra}$$

$$1.2759\text{g Mx} + 37.5\text{mg st mentol} + 71.7\text{mg st alcanfor} \rightarrow 50\text{mL}$$

$$\downarrow$$

$$5\text{mL} \rightarrow 50\text{mL}$$

Concentración final: 0.150mg/mL mentol + 0.2798mg/mL alcanfor.

-Linealidad del método; Ejemplo de cálculo al 50%, equivalente a 0.150 mg/mL de mentol.

$$\text{Concentración practica} = (\text{área} - \text{intercepto}) / (\text{pendiente})$$

Área: 17364968

Intercepto: 155433.61

Pendiente: 115605770.35

$$\text{Concentración practica} = (17364968 - 155433.61) / (115605770.35) = 0.14886$$

$$\% \text{ de recuperación} = (\text{Concentración práctica} / \text{concentración teórica}) \times 100$$

$$\% \text{ de recuperación} = (0.14886 / 0.150) \times 100 = 99.24 \%$$

Promedio = (sumatoria de los tres % de recuperación del nivel 1) / total de resultados

% recuperación 1: 99.24 %

% recuperación 2: 99.48 %

% recuperación 3: 96.80 %

Promedio = (99.24 % + 99.48 % + 96.80 %) / 3 = 98.51 %

%CV = $s/\bar{Y} \cdot 100\%$

Desviación estándar (s) = $\sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{N}}$

$$s = \sqrt{\frac{(99.24\% - 98.51\%)^2 + (99.48\% - 98.51\%)^2 + (96.80\% - 98.51\%)^2}{2}} = 1.483$$

%CV = (1.483)(100) / (98.51 %) = 1.51 %

ANEXO N° 6

Cromatogramas de la valoración de mentol y alcanfor en unguento por cromatografía de gases

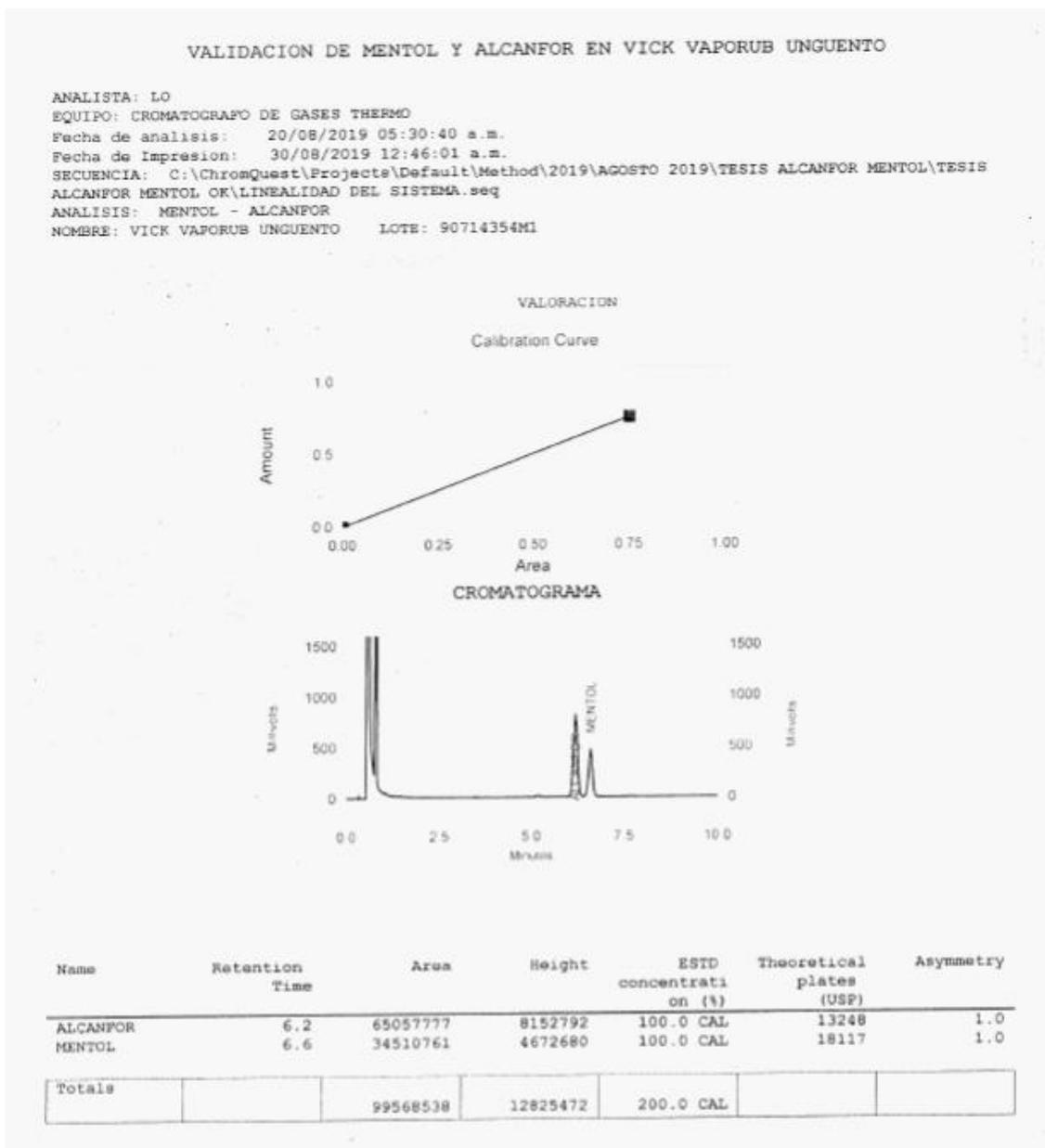


Figura N° 12: Ejemplo de Cromatograma de estándar mentol y alcanfor. Fuente: Elaboración propia.

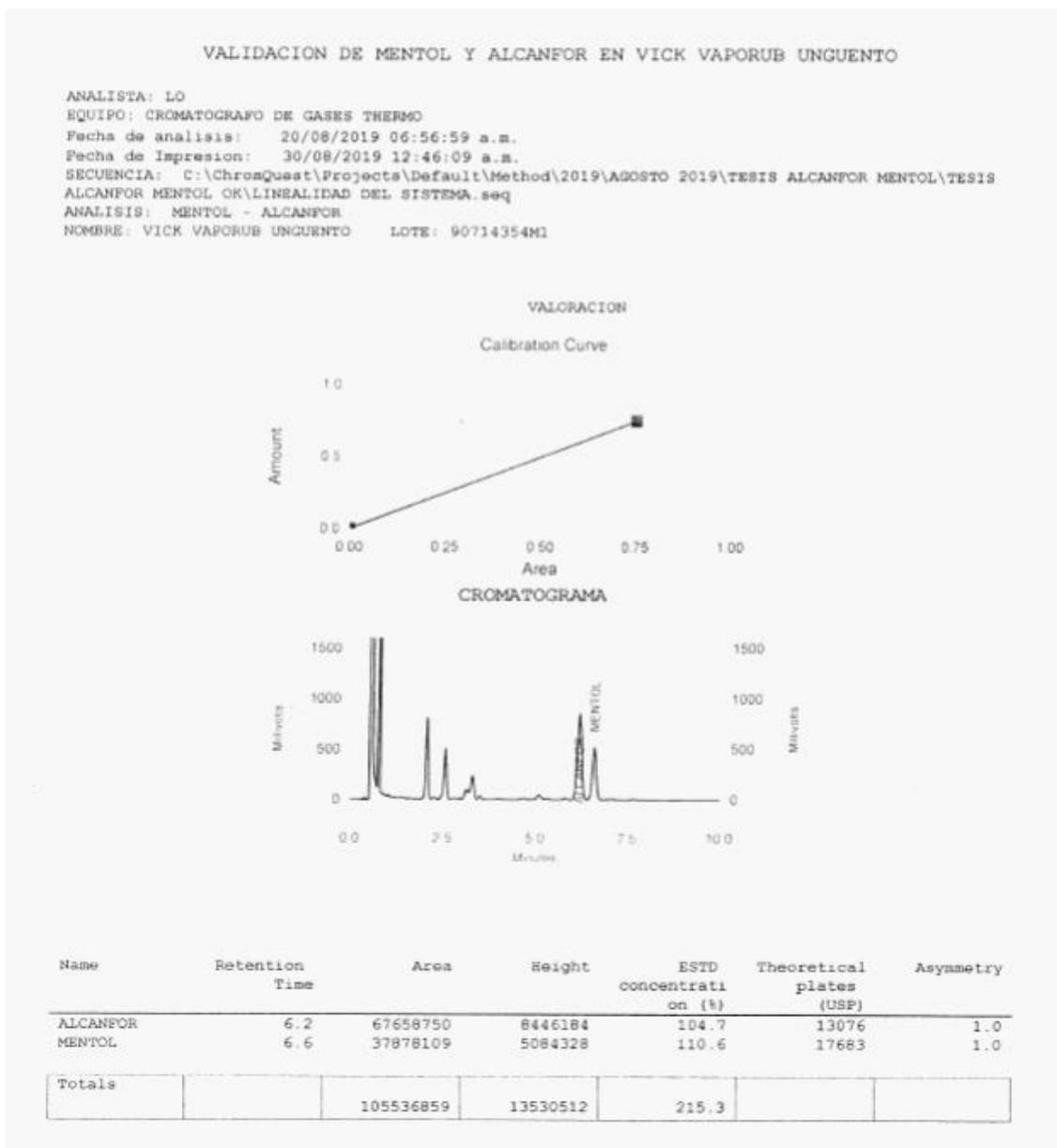


Figura N° 13: Ejemplo de cromatograma de muestra. Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 7

Cromatogramas de la validación de mentol y alcanfor en ungüento por cromatografía de gases

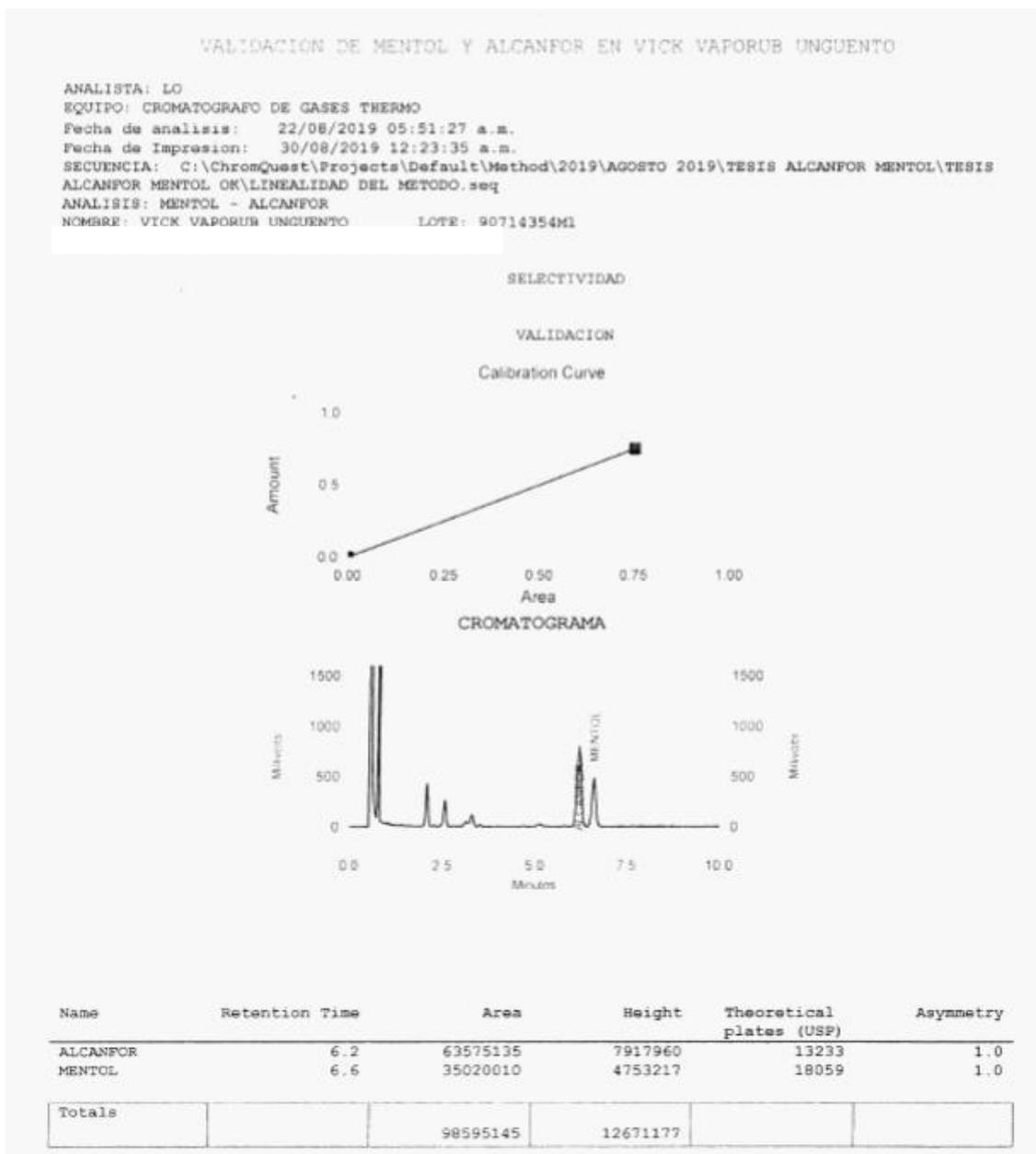


Figura N° 14: Ejemplo de Cromatograma de Selectividad. Fuente: Elaboración propia.

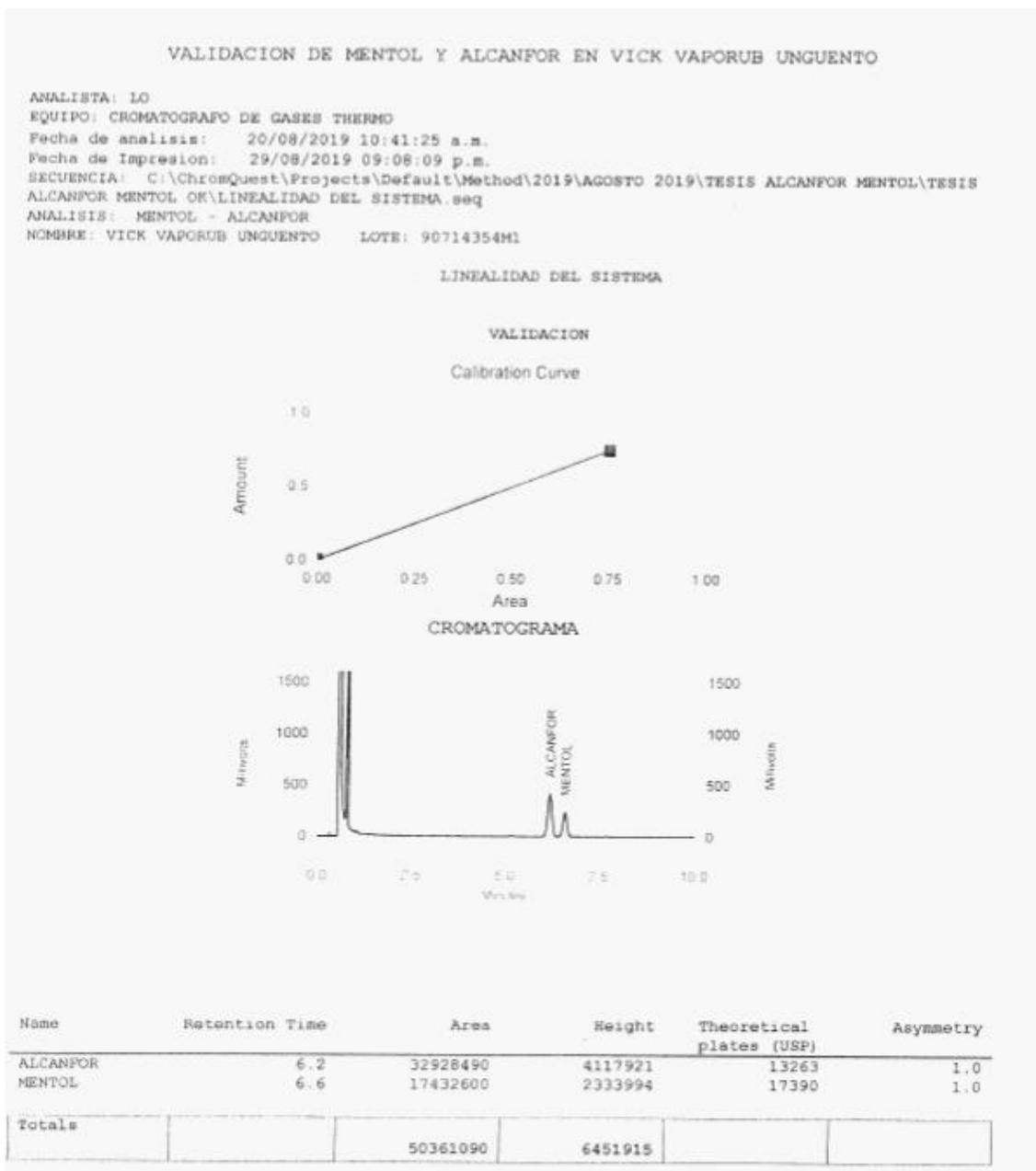


Figura N° 15: Ejemplo de Cromatograma de Linealidad del sistema. Fuente: Elaboración propia.

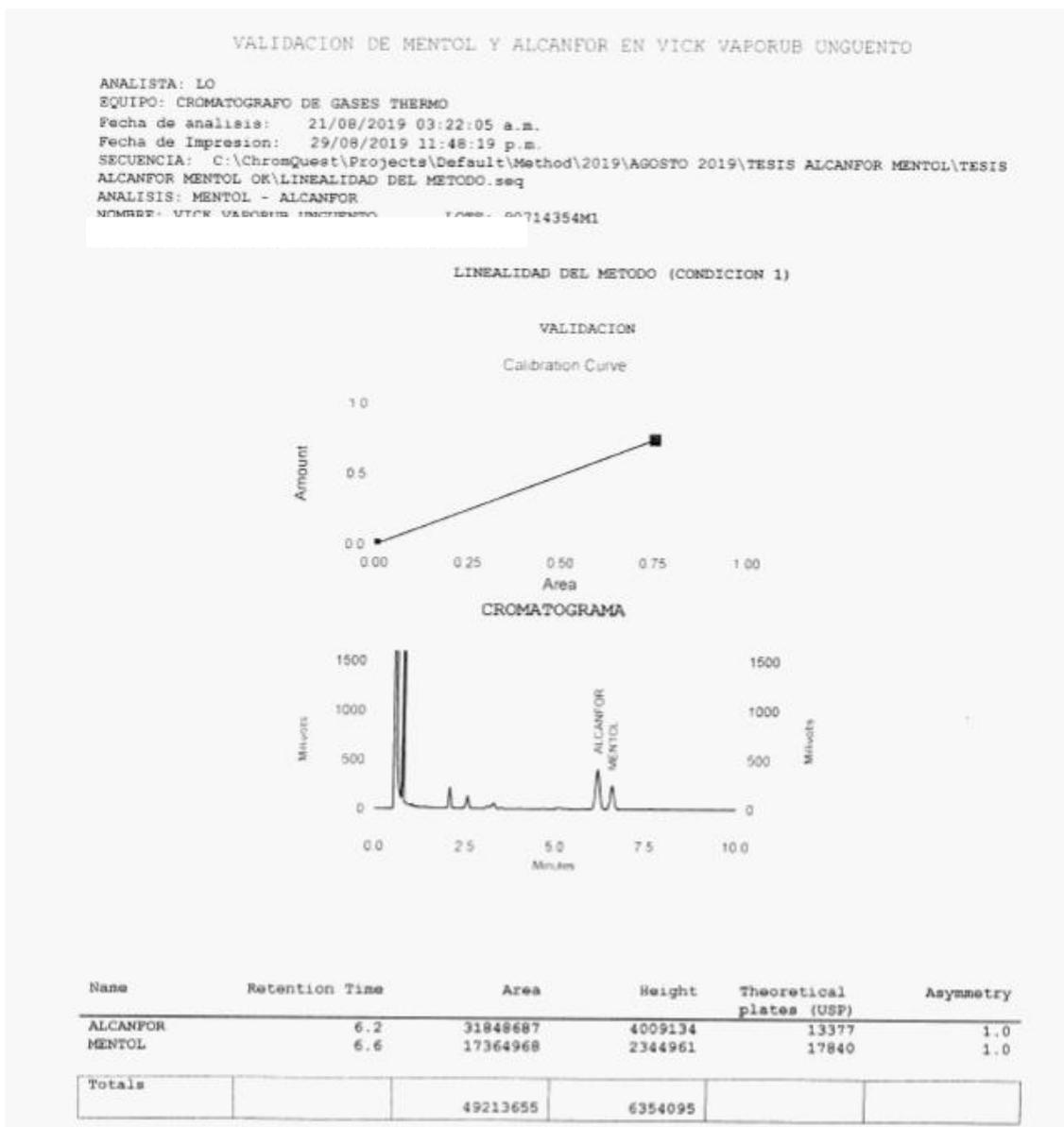


Figura N° 16: Ejemplo de Cromatograma de linealidad del método (condición 1).

Fuente: Elaboración propia.

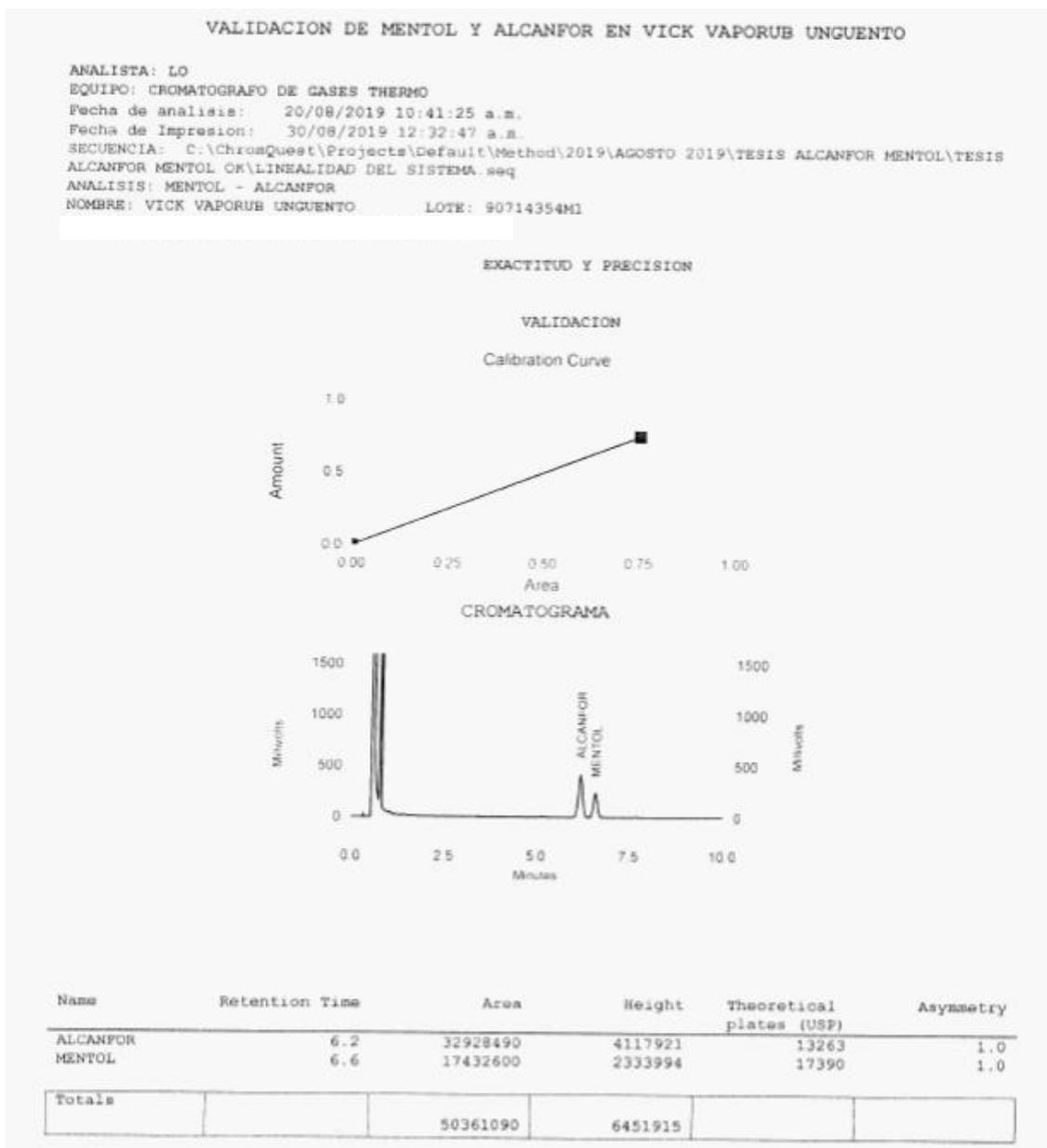


Figura N° 17: Ejemplo de Cromatograma de exactitud y precisión. Fuente: Elaboración propia.

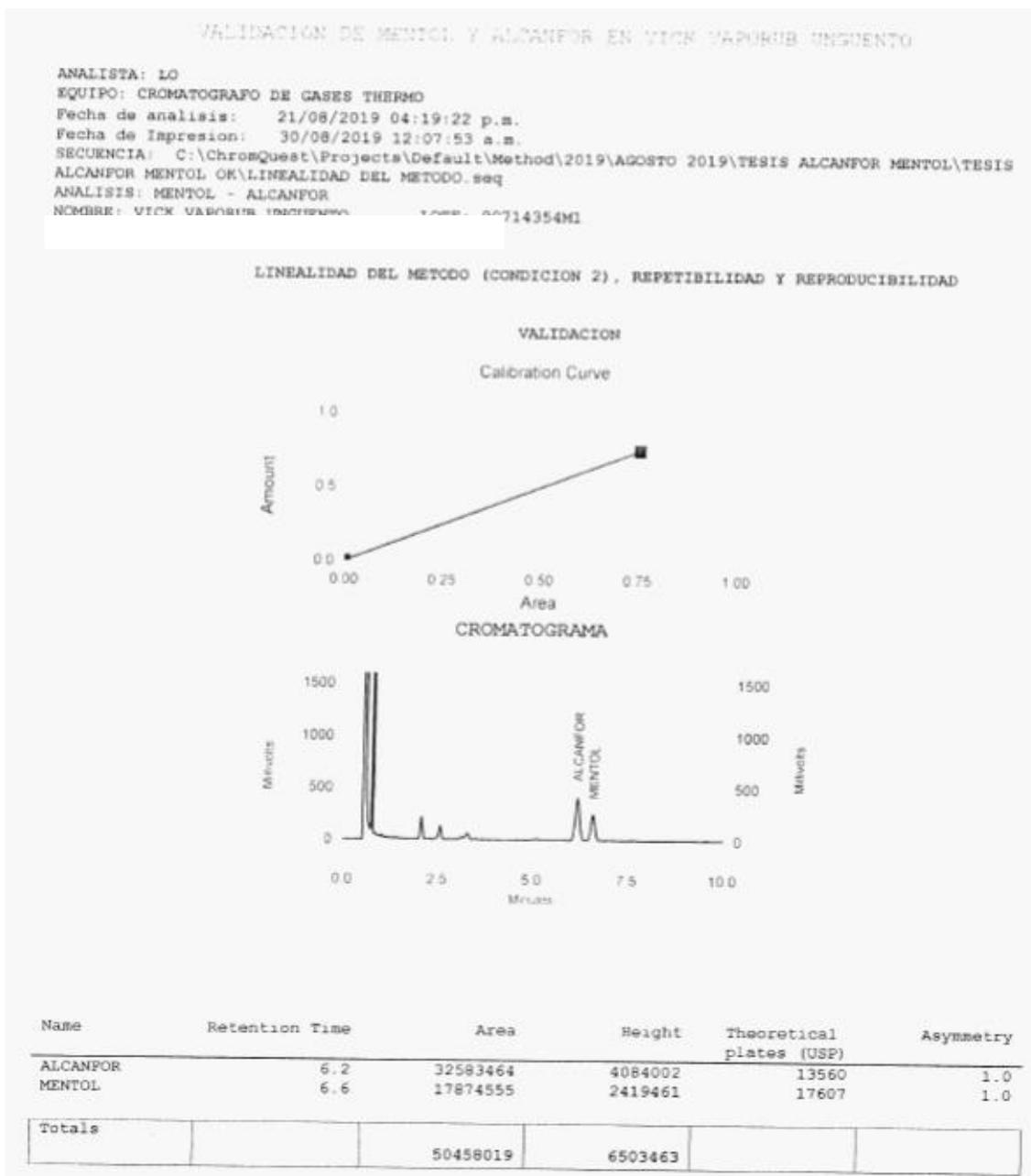


Figura N° 18: Ejemplo de Cromatograma de Linealidad del método (condición 2), repetibilidad y reproducibilidad. Fuente: Elaboración propia.