

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



Universidad de El Salvador

Hacia la libertad por la cultura

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO
TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE
SULFONAMIDAS EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS TÓPICOS.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

LUIS ENRIQUE CASTELLANOS MONGE.

ANA GUADALUPE HERNÁNDEZ LOPEZ.

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUÍMICA Y FARMACIA

AGOSTO 2007

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA



©2004, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA:

Dra. Maria Isabel de Rodríguez.

SECRETARIA:

Licda. Alicia Margarita Rivas de Recinos.

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO:

Lic. Salvador Castillo Arévalo.

SECRETARIA:

MSc. Miriam del Carmen Ramos de Aguilar.

COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN

COORDINADORA GENERAL:

Licda. Maria Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORES DE AREA DE BIOQUÍMICA Y CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

MSc. Sonia Maricela Lémus Martínez.

ASESORA DE TECNOLOGIA INDUSTRIA FARMACÉUTICA COSMÉTICA
Y VETERINARIA.

Licda. Rossana Brito de Gamez.

DOCENTE DIRECTORA:

MSc. Rocío Ruano de Sandoval.

Licda. Zenia Ivonne Arévalo De Márquez.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO Y A NUESTRA MADRE MARIA, por habernos regalado sabiduría y guiarnos en el desarrollo de nuestros estudios.

A NUESTRAS DOCENTES DIRECTORAS: MSc. Rocío Ruano y Lic Ivonne Arévalo, por orientarnos con paciencia y comprensión durante la realización de nuestro trabajo.

A NUESTRAS ASESORAS DE AREA: MSc. Maricela Lemus, Lic. Rossana Brito de Gamez.

A NUESTRAS COORDINADORA GENERAL: Lic Odette Rauda.

A la Licda. Cruz Jodvinda González, Jefe de Control de Calidad de Laboratorios Aرسال, por colaborarnos para la elaboración de nuestros análisis.

Al Lic. Eliseo Ayala, por su colaboración y apoyo.

A todas las personas que directa o indirectamente colaboraron en la realización de nuestro trabajo de graduación

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, por haberme dado la fortaleza para poder culminar con éxitos todas mis metas propuestas.

A MI MADRE: Maria Trinidad Monge Vda. de Castellanos, Por haberme brindado todo su apoyo, amor, confianza y sacrificio para poder culminar mis estudios. Por incentivarme en mis estudios todo momento y no permitir que retrocediera.

A MI QUERIDA HERMANA: Carmen Elena Castellanos Monge, Por todo el cariño, solidaridad y apoyo que me brindo.

A MIS ABUELOS Y TIOS: por su apoyo y ánimo que siempre me dieron, por sus oraciones y creer siempre que un día terminaría mis estudios Universitarios.

A MIS PRIMOS: Por todo su apoyo y comprensión que tuvieron siempre y por darme palabras de ánimo para terminar este trabajo.

Luis Enrique Castellanos

DEDICATORIA

A Dios y La Santísima Virgen de Guadalupe: por darme fortaleza, salud y vida para perseverar hasta el culmen de mi carrera.

A mi Familia:

Mis padres Ricardo Hernández y María Esperanza López, por sus consejos, su apoyo y por los valores que solo juntos lograron inculcar en mi persona para seguir el camino correcto.

Mis abuelos †Ricardo Humberto Hernández , † María de Hernández (Q.D.D.G) y Carlos Alberto López por sus consejos y su amor desde la niñez.

A Eduardo Elías por su colaboración desinteresada y todo su amor.

A mis amigas:

Blanca Andrade, Nerys Mejía, Andi Sanchez, Alicia Dubon y Samantha Solís por su amistad y por darme aliento durante los años de mi carrera.

Ana Guadalupe Hernández.

INDICE

Resumen	
Capitulo I	
1.0 Introducción	xv
Capitulo II	
2.0 Objetivos	18
Capitulo III	
3.0 Marco Teórico	20
3.1 Validación de Métodos Farmacopeicos.	20
3.2 Tipos de Validación.	20
3.3 Características de Desempeño Analítico.	23
3.4 Datos Requeridos para la Validación de una Determinación.	35
3.5 Métodos Aplicados en la Cuantificación de Sulfonamidas.	37
3.6 Otros Métodos Aplicados en la Cuantificación de Sulfas.	40
Capitulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	43
4.1 Tipo de Estudio	43
4.2 Investigación Bibliográfica.	43
4.3 Investigación de Campo	44
4.4 Investigación Experimental	47

Capitulo V	
5.0 Resultados e Interpretación de Resultados	56
Capitulo VI	
6.0 Conclusiones	114
Capitulo VII	
7.0 Recomendaciones	117
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1. Datos requeridos para la validación de los análisis ⁽²⁾
2. Composición química de acuerdo a lo que rotula la muestra del producto farmacéutico tópico elegido.
3. Listado de material y equipo para realizar el ensayo de valoración por diazoación y estandarización de nitrito de sodio.
4. Listado de reactivos para el ensayo de valoración por diazoación y estandarización del nitrito de sodio.
5. Ensayo de sulfonamidas (USP XVI)₍₁₀₎
6. Preparación de nitrito de sodio 0.1m vs (USPXVI)₍₁₀₎
7. Preparación de pasta de yoduro de almidón T.S (USP XVI)
8. Tabla estadística de la distribución t de Student. ⁽³⁾
9. Laboratorios farmacéuticos existentes en zona metropolitana de San Salvador
10. Apartado <1225> Validación de Métodos Farmacopeicos.
11. Certificados de Calibración

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pagina
1. Parámetros de desempeño a evaluar y condiciones de trabajo	52
2. Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en productos tópicos para la exactitud.	60
3. Resultado de los miligramos de sulfas presentes en peso de muestra de 1,9802 con carga de 40,0 mg en el producto tópico para la exactitud.	66
4. Resultados del porcentaje de recobro en las muestras cargadas con la mezcla de sulfas totales en el producto tópico para la exactitud.	69
5. Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en el productos tópicos para la evaluación de repetibilidad.	72
6. Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en el productos tópicos para la reproducibilidad.	76
7. Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en productos tópicos para la robustez.	81
8. Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en productos tópicos para la linealidad y rango.	85
9. Cuadro resumen de comparación de la evaluación de parámetros de desempeño realizados y los requerimientos para la validación según la farmacopea de los Estados Unidos (USP 29). (3) (5) (8) (11)	112

INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pagina
1. Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en Productos Tópicos para la Linealidad y Rango.	97

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

- CV:** coeficiente de variación o desviación estándar relativa
- g:** Gramos
- ICH:** Conferencia Tripartita de Armonización
- IC (β_1):** Intervalo de confianza para la pendiente poblacional
- IC (μ):** Intervalo de confianza para la media poblacional.
- mg:** Miligramos
- mL:** Mililitros
- NF:** National Formulary.
- PNO:** Procedimiento Normalizado de Operación.
- r^2 :** Coeficiente de determinación.
- S:** desviación estándar
- S_{b_1} :** Desviación estándar de la pendiente.
- $S_{y/x}$:** Desviación estándar de regresión.
- $t_{0.975}$:** Valor de la distribución t de Student, asociado a una confianza del 95% y a grados de libertad (gl) establecidos.
- USP:** United States Pharmacopeia.
- Σ :** Término estadístico que indica sumatoria.
- %:** Porcentaje o por ciento.

RESUMEN

El presente trabajo comprende la evaluación de los parámetros de desempeño del método titrimétrico de diazoación, que es un método utilizado para la cuantificación de sulfonamidas en productos tópicos, y se realiza con el fin de asegurar la confiabilidad de su aplicación con fines de docencia para el laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

El objetivo que se persigue es comprobar el desempeño del método propuesto originalmente en la edición XVI de la Farmacopea de los Estados Unidos, en el cual se utiliza pasta de yoduro de almidón TS como indicador externo, a diferencia de los métodos publicados en las ediciones actuales de la Farmacopea de los Estados Unidos, en los cuales se evalúa por medio de técnicas cromatográficas (Cromatografía Líquida de Alta Presión).

Así también se persigue la aplicación del método a un producto tópico y la posterior evaluación de cada parámetro establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos USP 29 de acuerdo a las características del método, así como la elaboración de un informe en un protocolo propuesto con la metodología utilizada.

I. INTRODUCCIÓN.

I. INTRODUCCIÓN.

La importancia de la aplicación y uso de diversos métodos analíticos en muchos ámbitos tales como, médicos, industriales, farmacéuticos y otros, hace necesario asegurar que los resultados obtenidos mediante la aplicación de estos métodos sean confiables y por lo tanto de valor para tomar decisiones correctas sobre el producto en análisis

Los costos derivados por resultados erróneos pueden llegar a ser muy altos y afectar en gran manera al laboratorio fabricante y al consumidor. De ahí la necesidad de obtener resultados correctos y confiables basados en la demostración de que el método analítico aplicado es confiable e idóneo para el fin al que se destina. Por lo tanto para dar cumplimiento a las normativas vigentes que constituyen un requisito legal para la validación es necesario realizar la evaluación de ciertos parámetros de desempeño de validación del método y estimar la incertidumbre de los resultados para obtener un nivel de confianza que justifique la aplicación del método.

En particular, es de interés la evaluación de los parámetros de desempeño del método analítico: titulación por nitritos (diazoación) utilizado para la cuantificación de las sulfonamidas en preparados tópicos.

Las sulfonamidas fueron las primeras drogas eficaces empleadas para el tratamiento sistémico de infecciones bacterianas en el ser humano gracias a su amplio espectro frente a bacterias gram positivas y gram negativas.

Las sulfonamidas se caracterizan por poseer una estructura química similar al ácido para-amino-benzoico (PABA). Su aplicación en el campo clínico es principalmente en el tratamiento de infecciones en vías urinarias.

Debido al uso delicado de estas sustancias y por su margen terapéutico, es necesaria la evaluación de los productos que los incluyan en su composición, utilizando para ello métodos analíticos adecuados y confiables.

Para la cuantificación de estas sustancias existe diversidad de métodos, sin embargo el objetivo principal de este trabajo radica en la titulación por nitritos, la cual resulta ser ventajosa debido a que es un método práctico y sencillo y que en términos económicos es accesible y no utiliza equipo sofisticado. Por lo tanto se expone en el presente trabajo de graduación la evaluación de los parámetros de desempeño: precisión, robustez, exactitud, linealidad y rango del método titrimétrico de diazoación, los resultados obtenidos al evaluar el desempeño del método, demostrándose el cumplimiento de las especificaciones para métodos Químicos, estableciéndose por medio de ellos que el método es preciso, exacto, robusto y lineal, en las condiciones de evaluación y por lo tanto se recomienda su aplicación con fines de docencia en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

II. OBJETIVOS.

II. OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar los parámetros de desempeño del método titrimétrico de diazoación para la cuantificación de sulfonamidas en productos farmacéuticos tópicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 2.2.1 Aplicar el método titrimétrico de diazoación en la muestra seleccionada según la especificación de la USP XVI.
- 2.2.2 Determinar los parámetros de desempeño requeridos en la validación del método analítico de diazoación de sulfas: precisión (repetibilidad y reproducibilidad), robustez, exactitud, linealidad y rango.
- 2.2.3 Comparar los parámetros de desempeño exigidos por la bibliografía oficial y otros para la validación de un método analítico.
- 2.2.4 Elaborar el informe de evaluación de parámetros de desempeño para la cuantificación de sulfonamidas por medio de un método titrimétrico en la muestra seleccionada.

III. MARCO TEÓRICO.

III. MARCO TEÓRICO.

3.1 VALIDACIÓN DE MÉTODOS FARMACOPEICOS⁽⁵⁾

Los procedimientos para la evaluación de los niveles de calidad de los productos farmacéuticos están sujetos a diversos requisitos. Según el Artículo 501 de la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, los análisis y especificaciones de las monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos y el Formulario Nacional constituyen normas legales. Los reglamentos sobre Principios de Buenas Prácticas de Fabricación Vigentes [21 CFR 211.194(a)] requieren que los métodos de prueba, que se utilizan para evaluar el cumplimiento de los productos farmacéuticos con las especificaciones establecidas, cumplan normas adecuadas de exactitud y confiabilidad. Sin embargo, según esta normativa [21 CFR 211.194(a)(2)] no se exige que los usuarios de los métodos analíticos descritos en la USP y en el NF validen la exactitud y confiabilidad de estos métodos, sino que solamente comprueben su aptitud bajo las condiciones concretas de uso. Al reconocer el carácter legal de las normas USP y NF, es esencial que las propuestas para adoptar los métodos analíticos farmacopeicos nuevos o solicitar la revisión de los ya existentes, estén respaldadas por suficientes datos de laboratorio que documenten su validez.

Según GMP⁽⁴⁾ y la norma Internacional ISO/IEC 17025 ⁽⁷⁾, cualquier método analítico debe ser validado, aunque se acepta de forma general que un método que aparece descrito en algún libro oficial como farmacopeas,



Formulario Nacional, Métodos AOAC, etc, solamente necesita una comprobación de que el método sigue siendo valido en las condiciones particulares del laboratorio en que se ensayen.

Dicha validación puede realizarse siguiendo dos tipos de procedimientos distintos:

- a) Validación retrospectiva
- b) Validación prospectiva

Validación Retrospectiva

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

Validación Prospectiva.

La validación prospectiva es el caso mas frecuente de validación de métodos de análisis y debe de realizar cada vez que se adopte métodos analíticos nuevos o se haga revisiones importantes a los métodos.⁽⁵⁾

VALIDACIÓN.⁽⁵⁾

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

Las características típicas de desempeño analítico que deben considerarse en la validación de métodos son:

Exactitud

Precisión

Especificidad

Límite de detección

Límite de cuantificación

Linealidad

Intervalo

En el caso de métodos farmacopeicos, puede resultar necesaria una nueva validación en las siguientes circunstancias:

Presentación a la USP de un método analítico revisado o utilización de un método general establecido con un nuevo producto o materia prima (ver mas adelante en *Datos Necesarios para Validación de Análisis*).

Los documentos de La Conferencia Internacional Tripartita Sobre Armonización (ICH), aconsejan sobre la necesidad de realizar una nueva validación en las siguientes circunstancias:

Cambios en la síntesis del fármaco.

Cambios en la composición del producto farmacéutico.

Cambios en el procedimiento analítico.

3.3 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO⁽⁵⁾

Exactitud.

Definición:

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

Determinación:

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

En la valoración de un fármaco en un producto formulado, la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del método analítico a mezclas sintéticas de los componentes del producto farmacéutico al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del método.

Si no resulta posible obtener muestras de todos los componentes del producto farmacéutico, se puede aceptar tanto el agregado de cantidades conocidas del analito a producto farmacéutico ("spike") como la comparación de los resultados con los de un segundo método bien caracterizado, cuya exactitud haya sido comprobada o definida.

En el análisis cuantitativo de impurezas, la exactitud debe evaluarse en muestras del fármaco o del producto farmacéutico las que se hayan agregado cantidades conocidas de impurezas.

Cuando no sea posible obtener muestras de algunas impurezas productos de degradación, los resultados deben compararse con los obtenidos mediante un método independiente. En ausencia de otra información, puede resultar necesario calcular la cantidad de una impureza basándose en la comparación de su respuesta con la del fármaco; pero el cociente entre las respuestas de cantidades iguales de la impureza y del fármaco (factor de respuesta) debe ser utilizado siempre que se lo conozca.

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

Los documentos ICH recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración)

Precisión.

Definición:

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el método

repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un método analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del método analítico en condiciones normales de operación. En este contexto, la reproducibilidad se refiere al uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios, como por ejemplo en un estudio en colaboración. Una precisión intermedia 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. En la mayoría de los casos, la repetibilidad es el criterio de mayor interés en los procedimientos analíticos de la USP, aunque la reproducibilidad entre laboratorios o la precisión intermedia puede considerarse durante la normalización de un procedimiento.

Determinación:

La precisión de un método analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente; al menos 9 réplicas de una muestra homogénea que permita calcular estadísticamente estimaciones válidas de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Los análisis en este contexto son análisis independientes de muestras que se han llevado a cabo mediante el procedimiento analítico completo, desde la preparación de las muestras hasta el resultado final de las pruebas.

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

Especificidad.

Definición:

Los documentos de ICH definen especificidad como la capacidad de evaluar de manera inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible, como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz la falta de especificidad de un procedimiento analítico individual puede compensarse usando otros procedimientos analíticos complementarios. [Otras autoridades internacionales de reconocido prestigio (IUPAC, AOAC) han preferido el termino "selectividad," reservando "especificidad" para procedimientos que resulten completamente selectivos.)] Para los métodos de prueba o valoración que se indican a continuación, la definición anterior tiene las siguientes consecuencias:

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN: garantizan la identidad del analito.

PRUEBAS DE PUREZA: garantizan que todos los procedimientos analíticos efectuados permiten declarar con exactitud el contenido de impurezas de un analito (por ejemplo, prueba de sustancias relacionadas, límite de metales pesados, límite de impurezas volátiles orgánicas).

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

Determinación: En análisis cualitativos (pruebas de identificación), debe demostrarse la capacidad de distinguir compuestos de estructura estrechamente relacionada cuya presencia resulta probable. Esta capacidad debería confirmarse mediante la obtención de resultados positivos a partir de muestras que contengan el analito mediante comparación con un material de referencia conocido), junto con resultados negativos de muestras que no contengan dicho analito, y mediante la confirmación de que no se obtiene una respuesta positiva de materiales con estructura similar o estrechamente relacionada a la del analito.

En un procedimiento analítico para impurezas, la especificidad puede establecerse mediante la adición al fármaco o producto farmacéutico de una cantidad conocida de impurezas en concentraciones adecuadas, y la demostración de que esas impurezas se determinan con exactitud y precisión adecuadas. En una valoración, la demostración de especificidad requiere evidencia de que el procedimiento no resulta afectado por la presencia de impurezas o excipientes. En la práctica, esto puede hacerse agregando al fármaco o producto farmacéutica una cantidad conocida de excipientes o de impurezas en concentraciones adecuadas, y demostrando que el resultado del análisis no resulta afectado por la presencia de estos materiales extraños.

Si no se dispone de estándares de impureza o de los productos de degradación, puede demostrarse la especificidad comparando los resultados

de las pruebas de muestras que contengan impurezas o productos de degradación con los de un segundo procedimiento bien caracterizado (por ejemplo, un procedimiento farmacopeico u otro procedimiento validado). Estas comparaciones deberían incluir muestras sometidas a condiciones forzadas relevantes (por ejemplo, luz, calor, humedad, hidrólisis ácida y alcalina, oxidación); En una valoración, deben compararse los resultados; en pruebas de impureza cromatográfico, deben compararse los perfiles de impurezas.

Limite de Detección.

Definición:

El límite de detección es una característica de las pruebas límite. Es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede detectarse, aunque no necesariamente cuantificarse, en las condiciones experimentales indicadas.

Las pruebas límite simplemente comprueban que la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un nivel determinado. El límite de detección se expresa habitualmente en forma de concentración de analito (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) en la muestra.

Determinación:

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

Para procedimientos instrumentales, se puede utilizar el mismo método que para los no instrumentales. En el caso de métodos presentados como candidatos a métodos farmacopeicos oficiales, casi nunca es necesario determinar el límite de detección real. Por el contrario, debe demostrarse que el límite de detección es lo suficientemente bajo para el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito superiores o inferiores al nivel de detección requerido. Por ejemplo, si se requiere detectar una impureza con una concentración del 0,1%, debería demostrarse que el procedimiento detectará de modo confiable la impureza a esa concentración.

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

Límite de Cuantificación.

Definición:

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

Determinación:

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

Para procedimientos instrumentales, se puede utilizar el mismo método que para los no instrumentales. En el caso de métodos presentados como candidatos a métodos farmacopeicos oficiales, casi nunca resulta necesario determinar el límite de cuantificación real. Por el contrario, debe mostrarse que el límite de cuantificación es lo suficientemente bajo mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito superiores e inferiores al nivel de cuantificación requerido.

Por ejemplo, si se requiere analizar un analito a una concentración de 0,1 mg por tableta, debería demostrarse que el procedimiento cuantificara de modo confiable el analito a esa concentración.

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

Linealidad e Intervalo.

Definición de Linealidad:

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

Definición de Intervalo:

El intervalo de un método analítico es la amplitud entre la concentración inferior y superior de analito (incluyendo esos niveles) en la cual se puede determinar

al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método según se describe por escrito. El intervalo se expresa normalmente en las mismas unidades que los resultados de la prueba (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) obtenidos mediante el método analítico

Determinación de Linealidad e Intervalo:

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

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

Se deberían presentar el coeficiente de correlación, la intersección con el eje de ordenadas, la pendiente de la línea de regresión y la suma de los cuadrados residuales.

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

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

–VALORACIÓN DE UN FÁRMACO (o de un producto terminado): de 80% a 120% de la concentración de prueba.

–DETERMINACIÓN DE UNA IMPUREZA: de 50% a 120% de la especificación

–PARA UNIFORMIDAD DEL CONTENIDO: un mínimo de 70% a 130% de la concentración de prueba, a no ser que se justifique un intervalo más amplio o más apropiado, basándose en la naturaleza de la forma farmacéutica (por ejemplo, inhaladores de dosis fija).

–PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN: $\pm 20\%$ por encima del intervalo especificado (por ejemplo, si las especificaciones de un producto de liberación controlada cubren una región que varía de 20% después de 1 hora a 90% después de 24 horas, el intervalo validado sería de 0% a 110% del valor especificado en la etiqueta).

Tolerancia, también conocida como Fortaleza o Resistencia (Ruggedness)

Definición:

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados de las pruebas obtenidos mediante el análisis de las mismas muestras en diversas condiciones, como por ejemplo en diferentes laboratorios, con diferentes analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempo transcurrido

durante la valoración, temperaturas de valoración o días. La tolerancia se expresa normalmente como la carencia de influencia de las variables operativas y ambientales del método analítico sobre los resultados de las pruebas. La tolerancia es una medida de la reproducibilidad de los resultados de las pruebas sometidas a la variación de condiciones que se esperarían normalmente entre distintos laboratorios o distintos analistas.

Determinación:

La tolerancia de un método analítico se determina mediante el análisis de alícuotas de lotes homogéneos en diferentes laboratorios, por diferentes analistas, utilizando condiciones operativas y ambientales que pueden ser diferentes pero que continúan encontrándose dentro de los parámetros especificados del análisis. El grado de reproducibilidad de los resultados de la prueba se determina entonces como una función de las variables del análisis. Esta reproducibilidad se puede comparar a la precisión de la valoración en condiciones normales para obtener una medida de la resistencia del método analítico.

Robustez.

Definición:

La robustez de un método analítico es una medida de su capacidad para no resultar afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Aptitud del Sistema.

Si las mediciones son susceptibles a variaciones en condiciones analíticas, estas deben controlarse adecuadamente o incluirse en el método una declaración preventiva. Una consecuencia de la evaluación de la tolerancia y la robustez sería el establecimiento de una serie de parámetros de aptitud del sistema que garantizan que se mantenga la validez del método analítico siempre que se utilice. Las variaciones típicas son la estabilidad de las soluciones y equipo analítico, y de los analistas.

Las pruebas de aptitud del sistema se basan en el concepto de que el equipo, el sistema electrónico, las operaciones analíticas y las muestras a analizar constituyen un sistema integral que puede evaluarse como tal. Los parámetros de prueba de la aptitud del sistema que deben establecerse para un método específico dependen del tipo de método que se está evaluando.

DATOS REQUERIDOS PARA LA VALIDACIÓN DE UNA DETERMINACIÓN

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

Este capítulo cubre solo las categorías más habituales para las que se exigen datos de validación. Estas categorías se indican a continuación.

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

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

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

Categoría IV: Pruebas de identificación.

Para cada categoría de análisis, se requiere diferente información analítica. En el anexo 1 se indican los elementos de datos que normalmente se requieren para cada una de las categorías de análisis.

Los métodos generales de prueba y valoración ya establecidos (por ejemplo, método volumétrico de determinación de agua, prueba de endotoxinas bacterianas) deben revalidarse para comprobar su exactitud (y la ausencia de posibles interferencias) cuando se utilizan para un producto nuevo o materia prima nueva.

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

MÉTODOS APLICABLES EN LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS⁽¹⁾

3.5 MÉTODOS TITRIMÉTRICOS APLICABLES EN LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS.

3.5.1 Titulación en medio no acuoso.

La titulación en medio no acuoso puede ser aplicada a las sulfonamidas. Por el grupo SO_2NH_2 pueden valorarse con un titulante básico. Los solventes usados incluyen alcohol, acetona, dimetilformamida y dibutilamina.

Usando álcali acuoso, metóxido de sodio anhidro o bases cuaternarias como titulantes. Algunas sulfonamidas pueden ser tituladas como bases en ácido acético glacial, usando ácido perclórico como titulante.

En este tipo de valoración el punto final se determina potenciométricamente.

3.5.2 Titulación por Brominación

Las sulfonamidas reaccionan con bromo el cual puede sustituirse en el anillo de benceno. Dos tipos de procedimientos son usados:

La sulfonamida puede ser titulada directamente con bromato en presencia de bromo y el punto final determinarse potenciométricamente o por medio de un indicador semejante al rojo de metilo, en el otro procedimiento un pequeño exceso de bromato es adicionado y después este exceso es retrovalorado con un titulante como arsénico.

3.5.3 Titulación Argentométrica.

Algunas sulfonamidas forman sales insolubles de plata, entre ellas: Sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina, sulfapiridina, sulfatiazol, sulfadimetina y succinilsulfatiazol, estas pueden determinarse cuantitativamente con nitrato de plata.

En este método la sulfonamida es disuelta en hidróxido de sodio y luego tratada con nitrato de plata; posteriormente se filtra y en el filtrado se retrovalora el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio y se usa como indicador aluminio férrico.

3.5.4 Diazoación (Método de Titulación por Nitritos)

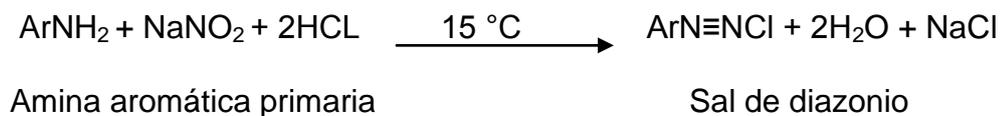
Las sulfonamidas contienen un grupo amino, a parte de la función sulfonamida, y este grupo amino suministra un método analítico adecuado.

Las aminas alifáticas son lo suficientemente básicas para poder valorarse con ácido fuerte en solución acuosa; mientras que las aminas aromáticas son demasiado débiles para valorarlas en disolución acuosa.

La baja solubilidad de estas sustancias en agua obliga al uso de solventes hidroalcohólicos. El alcohol no afecta marcadamente la nitidez del punto final de las bases neutras. La adición de alcohol al medio de valoración resulta útil al dar puntos finales más pronunciados para estas sustancias.

Diazoación de las aminas primarias aromáticas:

El ácido nitroso reacciona con el grupo amino primario aromático para dar una sal de diazonio.



El Ion de diazonio puede acoplarse con otra molécula para producir un color apropiado para la medición colorimétrica.

La reacción de diazoación sirve como un proceso analítico vía valoración directa de la amina con ácido nitroso.

Puesto que las soluciones de ácido nitroso son inestables, se realiza el análisis valorando una solución ácida de la amina aromática con una solución de nitrito de sodio.

Se detecta el punto final con un indicador "externo"; después del punto final, una gota de la solución de valoración produce un color azul con engrudo de almidón-yoduro. El exceso de ácido nitroso oxida al Ioduro presente en el indicador hasta Iodo, el cual produce el color azul con el almidón.

Para evitar una alta concentración de ácido nitroso en la solución de valoración esta última debe estar bien agitada. El método oficial de determinación para muchas drogas sulfonamidas específicas la valoración con nitrito a baja temperatura, para minimizar la pérdida del ácido nitroso.

EL punto final puede determinarse también potenciométricamente usando un sistema de electrodo platino-calomel o platino-platino.

Los valores a un intervalo de tiempo fijo con cada adición de nitrito de sodio, puede obtenerse resultados considerablemente mas precisos que cuando el punto final visual es empleado.

3.6 OTROS MÉTODOS APLICABLES EN LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS. (1).

3.6.1 Métodos Colorimétricos.

En general este método es usado para la determinación de pequeñas cantidades de sulfonamidas. El método consiste en la diazoación de la sulfonamida con nitrito de sodio en ácido diluido, descomponiendo el exceso de nitrito con ácido sulfámico y copulando el diazocompuesto con N- (1- naftil)-etilendiamino, la intensidad de color rosado obtenido es también comparado por el estándar producido por cantidades conocidas de sulfonamidas tratadas de modo similar o es medido espectrofotométricamente. En caso contrario la absorción es generalmente determinada en la región de 540 - 550 m μ .

La copulación debe ocurrir en solución ácida. la acidificación es requerida para la diazoación.

El complejo coloreado obtenido debe ser soluble en ácido diluido y el compuesto usado para copular debe ser fácil de purificar.

3.6.2 Cromatografía de Papel.

Este método consiste en el descendimiento de un papel cromatográfico en un flujo de una mezcla de solventes sobre una mancha de material depositado en una columna de papel filtro. Cuando la mezcla de solventes fluye sobre la mancha el sistema de extracción líquido-líquido está establecido, y los solutos presentes son transportados a lo largo de una columna de papel. Las características son determinadas por sus respectivos coeficientes de

distribución. Para cada compuesto existe un sistema determinado de distancia cubierta, es una fracción constante, llamada R_f de la distancia total cubierta por el solvente. Después de un tiempo cada componente de la mezcla se separa en forma de una mancha, en caso que el sistema de solventes usado sea el adecuado.

3.6.3 Espectrofotometría Ultravioleta.

El espectro ultravioleta de todas las sulfonamidas comunes es bastante similar y directamente la espectrofotometría ultravioleta no es de mucho valor en el análisis de mezclas, sin embargo es bastante diferente en el espectro de absorción ultravioleta de compuestos únicos lo que lo hace valioso con fines de identificación.

3.6.4 Método Infrarrojo.

El espectro infrarrojo es particularmente valioso para identificación de las sulfonamidas, pero es de utilidad limitada para medida cuantitativa.

3.6.5 Método de difracción de rayos X

El diseño de los rayos X son también característico de cada compuesto y son por lo tanto adecuado para la identificación.

Las sulfonamidas pueden ser determinadas cuantitativamente por este método en mezcla siempre que los componentes que estén presentes en aproximadamente iguales cantidades.

VI. DISEÑO METODOLÓGICO.

VI. DISEÑO METODOLÓGICO.

4.1 Tipo de Estudio.

Retrospectivo, prospectivo y experimental.

Retrospectivo, porque parte de algo existente y no se proponen variables a esta información.

Prospectivo, porque a partir de lo existente, propone algo que puede servir para obtener datos más exactos en análisis o investigaciones futuras.

Experimental, porque se evaluaron los parámetros de desempeño de la cuantificación de sulfonamidas en productos tópicos por el método titrimétrico diazoación según los requerimientos Farmacopeicos de la XVI edición de la Farmacopea de los Estados Unidos.

El presente trabajo consta de:

- Investigación bibliográfica**
- Investigación de campo**
- Investigación experimental**

4.2 Investigación bibliográfica:

Consistió en la búsqueda de información en libros oficiales y no oficiales acerca de validación de métodos analíticos. Así como también información acerca de sulfonamidas y el método titrimétrico utilizado para su cuantificación (diazoación).

Para esta revisión será necesario visitar las bibliotecas de universidades del país, en cuyo plan de estudios contempla la carrera de Licenciatura en Química y Farmacia:

- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (UES)
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador (UES)
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM)
- Biblioteca de la Universidad Nueva San Salvador (UNSSA)
- Internet.

4.3 Investigación de campo:

Comprendió la visita a la Junta de Vigilancia de la Profesión Químico Farmacéutica (J.V.P.Q.F), para investigar el número de Laboratorios Farmacéuticos ubicados en el área de San Salvador y a su vez por medio de consultas telefónicas conocer cuales elaboran productos tópicos que contengan, dentro de su composición sulfonamidas, pero a su vez se Seleccionó el producto más representativo para realizar la evaluación de parámetros de desempeño y cumplir con los criterios de aceptación requeridos.⁽⁵⁾⁽⁴⁾ (Ver anexo 9)

4.3.1 Universo:

El universo de esta investigación está constituido por siete (7) Productos Farmacéuticos tópicos (cremas Vaginales) que contienen sulfonamidas en su

composición y son elaborados únicamente por siete (7) Laboratorios Farmacéuticos del total de sesenta (60) Laboratorios del área Metropolitana de San Salvador.

4.3.2 Muestra:

En la presente investigación se llevó a cabo un muestreo aleatorio simple dirigido a los siete (7) productos tópicos de los siete (7) Laboratorios Farmacéuticos del área de San Salvador que elaboran formas farmacéuticas tópicos que contienen sulfonamidas en su composición, de los cuales se seleccionó uno para evaluar los parámetros de desempeño y los criterios de aceptación antes mencionados, dicha muestra tiene tres sulfas dentro de su composición.⁽⁵⁾⁽⁴⁾ (ver composición en anexo 2)

4.4 Investigación Experimental:

Comprendió las siguientes etapas:

Realizar la evaluación de los parámetros de desempeño del método titrimétrico diazoación para la cuantificación de sulfonamidas presentado en la XVI edición de la Farmacopea de los Estados Unidos.

Dentro de esta se considerarán los parámetros siguientes:

4.4.1 Exactitud.⁽⁴⁾

Se evaluó mediante la adición de una concentración conocida del analito al producto farmacéutico, la muestra representa el 100% de la concentración de sulfonamidas y a éstas se les agregó la cantidad correspondiente de una mezcla de sulfas previamente preparada, para cargar las muestras hasta

concentraciones que represente el 120%. Para la determinación de dicho parámetro se evaluaron una (1) muestra que contiene tres sulfas, a los niveles de concentración mencionados, y los resultados obtenidos se expresaron en términos de porcentaje de recuperación del analito presente en la muestra.

El tratamiento de los resultados se hizo por medio de la distribución de t de Student.

Fórmulas y Procedimiento de cálculo para exactitud y repetibilidad:

Media Aritmética.⁽³⁾

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = valores obtenidos del ensayo

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

Desviación Estándar⁽³⁾

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}} \quad (3)$$

donde:

S = Desviación estándar

y = valores obtenidos del ensayo

n = número de mediciones, recobros o determinaciones.

Coefficiente de Variación.⁽³⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

Intervalo de Confianza para la Media Poblacional⁽³⁾

$$IC (\mu) = \bar{y} \pm t_{0,975 \ n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

$t_{0,975 \ n-1}$ = Refiérase al anexo 8, para determinar el valor de la t de Student.

n = número de mediciones, recobros o determinaciones, donde el coeficiente de variación no debe ser mayor al 2%.⁽³⁾

4.4.2 Precisión.⁽⁵⁾

Se expresa como la desviación estándar o preferiblemente por la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Y se determina en base a tres estudios simultáneos.

Repetibilidad del método analítico en condiciones normales de operación, la determinación de este parámetro se hizo en condiciones normales de laboratorio, utilizará una muestra que contiene tres sulfas en su composición con un total de nueve (9) determinaciones que representen el 100% de la muestra.

Reproducibilidad del método analítico determinándose por medio de la comparación de datos obtenidos por dos diferentes analistas, diferentes días, diferente equipo de laboratorio, en las mismas instalaciones.

Para dicha determinación se realizaron con una muestra que contiene tres sulfas, por triplicado cada una de ellas y si repitió variando el equipo de laboratorio, el día y el analista que realiza la determinación.

4.4.3 Robustez.⁽⁵⁾

La determinación de este parámetro se realizó variando la temperatura requerida para la valoración que es de 15° Según La Farmacopea XVI, a temperaturas de 10°, 12° y 15°. Haciendo uso de la muestra que contiene tres diferentes sulfas por triplicado.

Para la determinación de este parámetro se calculó la media aritmética de la condición normal de operación (\bar{y}_0) y la media aritmética de cada condición de operación diferente (variación de temperatura) (\bar{y}_i).

Calculando la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la condición normal ($|d_i|$) y el criterio de aceptación para dicho valor debe ser: $|d_i| \leq 3\%_{(8)}$

Media aritmética del análisis inicial ⁽⁸⁾

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0} \quad (8)$$

donde:

\bar{y}_0 = media aritmética de la condición normal de operación.

n_0 = número de muestras de el análisis inicial.

y_0 = condición normal de operación.

Media aritmética del análisis de cada condición diferente (8)

$$\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i} \quad (8)$$

donde:

\bar{y}_i = media aritmética de cada condición de operación diferente.

n_i = numero de muestras de el análisis en condición diferente.

y_i = condición de operación diferente.

Las diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición diferente con respecto a la inicial. ($|d_i|$) (8) es:

$$|d_i| = |y_i - y_0| \text{ y debe de ser } \leq 3\% \quad (8)$$

Linealidad y Rango.(5)

La linealidad y el rango están estrechamente relacionados, por lo cual, para fines de la evaluación de los parámetros de desempeño se determinan juntos.

Este intervalo se determinó por la amplitud entre las concentraciones inferiores y superiores del analito en el cual se determinó el analito en forma exacta y precisa.

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

Para este estudio se utilizó las concentraciones de 80%,90%,100%,110%,120%. del analito, utilizando un sustituto del excipiente de la crema para tener las concentraciones que representen el 80% y 90% y agregando una mezcla de sulfas para cargar la muestra hasta las concentraciones del 110% y 120%.

El análisis se realizó en la muestra que contiene tres sulfas, por triplicado cada concentración.

La linealidad se determinó con la siguiente fórmula: ⁽³⁾.

$$Y = b_1X + b_0 \quad (3)$$

Siendo:

X = concentración de la muestra analizada

b₁= valor de la pendiente

Y = respuesta

b₀= termino independiente (ordenada al origen) .

Para determinar la pendiente (b₁) se utilizará la siguiente fórmula:⁽³⁾

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (3)$$

n = número de mediciones (concentración–respuesta analítica)

Para determinar la constante b_0 (ordenada al origen) se utilizó la siguiente fórmula. (3)

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n} \quad (3)$$

Para la interpretación estadística de la regresión lineal se determinó:

El coeficiente de determinación (r^2) (3)

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)} \quad (3)$$

Intervalo de Confianza para la Pendiente.

$$CI(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b1}$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \frac{1}{\sqrt{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}} \quad (3)$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}} \quad (3)$$

$t_{0.975, n-2}$ = referirse al anexo 8, para determinar el valor de t de Student.

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

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

Método Analítico al cual se le evaluaron parámetros de desempeño.⁽¹⁾

La Valoración por Diazoación

Modalidad: Adición de Hielo a la Muestra de Valoración.

La valoración se llevó acabo de la siguiente manera:

1. Pesar un beaker de 250 mL en balanza analítica.
2. Pesar en el beaker anterior la cantidad de muestra equivalente a 200 mg de sulfonamida materia prima o en caso de producto a sulfonamidas totales en balanza analítica.
3. Agregar dentro del beaker 8 mL de ácido clorhídrico en cámara extractora de Gases.
4. Agitar con agitador de vidrio.
5. Agregar 20 mL de agua, homogenizar y agitar.
6. Agregar 25 g de hielo triturado al contenido dentro del beaker.
7. Homogenizar y chequear que la temperatura este 15°C.
8. Valorar con Nitrito de Sodio 0.1 M VS agitando con agitador de vidrio continuamente.
9. Introducir el agitador empleado en la muestra dentro del indicador externo de pasta de yoduro de almidón T.S para determinar si ya llegó al punto final (color azul).

10. Lavar el agitador antes de introducirlo nuevamente a la muestra, continua valorando hasta obtener una coloración azul inmediatamente.

Cuando la titulación ésta completa el punto final es reproducible después de que la mezcla se ha mantenido en reposo por un minuto. (1)

Cálculos

Calculo para la cantidad de sulfonamidas en 100g de muestra.(1)

Volumen corregido (Vc) = mL x Factor de Corrección (F)

$$\frac{1 \text{ mL gastado de NaNO}_2 \text{ 0.1M}}{\text{Volumen Gastado en mL (Vc)}} = \frac{\text{meq de Sulfas Totales}}{X}$$

$$\frac{\text{g de sulfas totales}}{y} = \frac{\text{Peso de Muestra}}{100\text{g de Crema}}$$

Porcentaje Sobre lo Rotulado

$$\frac{\text{g rotulados de sulfas totales en la crema}}{\text{g encontrados}} = \frac{100\%}{X}$$

donde:

mL = mililitros de la solución de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

F = Factor de Corrección del Nitrito de Sodio 0.1 M VS

meq = miliequivalentes de sulfas totales (sumatoria de miliequivalentes de cada una de las sulfas en gramos)

P.M = Peso de Muestra. (1)

Vc = Volumen corregido

V. RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

V. RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

CÁLCULOS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA APLICACIÓN DEL METODO DE VALORACIÓN POR DIAZOACIÓN EN PRODUCTOS TÓPICOS.

PRODUCTOS TÓPICOS

COMPOSICION CADA 100 g CONTIENEN:

N-Benzoilsulfanilamida.....	3,70 g
N-Acetilsulfanilamida.....	2,90 g
Sulfadiazina.....	3,50 g
	10,10 g
:	Peso de sulfas totales.

PESOS MOLECULARES DE LAS SULFAS

276,31 g/mol N-Benzoilsulfanilamida

214,24 g/mol N-Acetilsulfanilamida

250,28 g/mol Sulfadiazina

CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS MILIEQUIVALENTES PARA CADA UNA DE LAS SULFONAMIDAS.

N-Benzoilsulfanilamida

276,310 g — 1,0 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

27,631 g — 0,1 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

0,028 g — 0,1 M — 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

27,631 mg — 0,1 M — 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

27.631 mg de N-Benzoilsulfanilamida Ξ 1.0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

N-Acetilsulfanilamida

214,240 g — 1,0 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

21,424 g — 0,1 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

0,021 g — 0,1 M — 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

21,424mg — 0,1 M — 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

21,424 mg de N-Acetilsulfanilamida Ξ 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

Sulfadiazina

250,280 g — 1,0 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

25,028 g — 0,1 M — 1000 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

0,025 g — 0,1 M — 1, mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

25,028 mg — 0,1 M — 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

25,028 mg de Sulfadiazina Ξ 1,0 mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS

CALCULO PARA DETERMINAR LA CANTIDAD DE MUESTRA A PESAR PARA TENER UN PESO DE MUESTRA EQUIVALENTE A 200 mg DE SULFAS TOTALES.

El peso de sulfas totales de acuerdo a la composición de la crema es = 10.10 g
en 100 g de crema.

10,10 g peso total de sulfas ————— 100 g de crema.

0,20 g peso de sulfas totales ————— X

X= 1,9802 g Cantidad de crema a pesar

**DETERMINACIÓN DE LOS mg DE CADA UNA DE LAS SULFAS EN LOS
200,0 mg (\equiv 0,20g) DE SULFAS TOTALES**

N-Benzoilsulfanilamida

10,10g peso de sulfas totales ————— 3,70 g de N-Benzoilsulfanilamida

0,20 g sulfas totales ————— X

$$X = 0,0733 \text{ g} = 73,30 \text{ mg de N-Benzoilsulfanilamida}$$

N-Acetilsulfanilamida

10,10g peso de sulfas totales ————— 2,90 g de N-Acetilsulfanilamida

0,20 g sulfas totales ————— X

$$X = 0,0574 \text{ g} = 57,40 \text{ mg de N-Acetilsulfanilamida}$$

Sulfadiazina

10,10g peso de sulfas totales ————— 3,50 g de Sulfadiazina

0,20 g sulfas totales ————— X

$$X = 0,0693 \text{ g} = 69,30 \text{ mg de Sulfadiazina}$$

**DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN TEÓRICO A GASTAR DE NITRITO DE
SODIO 0.1 M PARA CADA SULFONAMIDA.**

N-Benzoilsulfanilamida

27,631 mg N-Benzoilsulfanilamida ————— 1,0 mL Nitrito de Sodio 0.1 M VS

73,300 mg N-Benzoilsulfanilamida ————— X

$$X = 2,65 \text{ mL de Nitrito de Sodio 0.1 M VS}$$

N-Acetilsulfanilamida

21,424 mg N-Acetilsulfanilamida ————— 1,0 mL Nitrito de Sodio 0.1 M VS

57,400 mg N-Acetilsulfanilamida ————— X

X = 2,68 mL de Nitrito de Sodio 0,1 M VS

Sulfadiazina

25,028 mg Sulfadiazina ————— 1,0 mL Nitrito de Sodio 0.1 M VS

69,310 mg Sulfadiazina ————— X

X = 2,77 mL de Nitrito de Sodio 0,1 M VS

DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN TEÓRICO A GASTAR DE NITRITO DE SODIO 0.1 M VS PARA SULFAS TOTALES (1,9802 DE CREMA).

- Sumatoria de los volúmenes a gastar de nitrito de sodio 0,1 M para cada sulfonamida.

$\Sigma = 2.65 \text{ mL} + 2.68 \text{ mL} + 2.77 \text{ mL} = 8.10 \text{ mL}$ de Nitrito de Sodio. 0.1 M VS para 200 mg de sulfas totales.

- Determinación Teórica del miliequivalente de Sulfas Totales .

200 mg sulfas totales ————— 8,10 mL Nitrito de Sodio 0,1 M VS

X ————— 1,00 mL Nitrito de Sodio 0,1 M VS

X = 24,69 mg de sulfas totales, equivalente a 1.00mL de Nitrito de sodio 0,1M

Miliequivalente a utilizar para los cálculos de las valoraciones:

24.69 mg de sulfas totales Ξ 1.0 mL Nitrito de Sodio 0.1 M VS

RESULTADOS DE EXACTITUD.

La Exactitud se evaluó a concentraciones que representen el 100,0% y cargando la muestra al 120,0%.

Cuadro Nº 2 Resultados de la cuantificación de sulfonamidas presentes en productos tópicos para la Exactitud.

Nº de valoración	Peso Muestra	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales recobrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Valoraciones que representan el 100,00%					
1	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
3	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
2	1,9802	7,90	8,23	10,26	101,58%
4	1,9802	7,90	8,23	10,26	101,58%
5	1,9802	7,90	8,23	10,26	101,58%
6	1,9802	7,90	8,23	10,26	101,58%
Valoraciones que representan el 120,00%					
Nº de valoración	Peso Muestra + 40,00 mg de mezcla de sulfas	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales encontrados en 100 g de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Valoraciones que representan el 120,00%					
7	1,9802 + 40,01	9,50	9,90	12,34	122,19%
8	1,9802 + 40,08	9,50	9,90	12,34	122,19%
9	1,9802 + 41,46	9,60	10,00	12,47	123,47%
10	1,9802 + 40,07	9,50	9,90	12,34	122,19%
11	1,9802 + 40,08	9,50	9,90	12,34	122,19%
12	1,9802 + 40,09	9,50	9,90	12,34	122,19%

FC de NaNO₂ 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Muestra al 100,0%

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado de Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 2 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 1 Volumen gastado de NaNO_2 0,1 M VS = 8,00 mL

Valoración N° 2 Volumen gastado de NaNO_2 0,1 M VS = 8,00 mL

Valoración N° 3 Volumen gastado de NaNO_2 0,1 M VS = 7,90 mL

Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°1

Volumen corregido = 8,00 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 8,33 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0,1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

8,33 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 206,67 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 206,67 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 10356,32 mg = 10,38 g de sulfas totales

Porcentaje sobre lo rotulado de la valoración N° 1

10,10 g de sulfas totales ————— 100%

10,38 g de sulfas totales ————— X

X = 102,77 % sobre lo rotulado

PREPARACIÓN DE MEZCLA DE SULFAS TOTALES PARA CARGAR LAS MUESTRAS. (Parámetro de Exactitud)

Cantidad a preparar: 2,0g de mezcla de sulfas totales la cual se utilizara para cargar las muestras que representen el 120%

N-Benzoil Sulfonamida

10,10g de sulfas totales ————— 3,7g de N-Benzoil Sulfonamida

2,0g de sulfas totales ————— x

X = 0,7327g a pesar de N-Benzoil Sulfonamida para tener el equivalente a lo rotulado por la crema en 2,0g de sulfas totales.

- Cálculos para la determinación de la cantidad a pesar con respecto a la pureza de la sulfa.

- Pureza de N-Benzoil Sulfonamida = 99,48% \equiv % P/P

99,48g N-Benzoil Sulfonamida ————— 100,0g N-Benzoil Sulfonamida

0,7327g de N-Benzoil Sulfonamida ————— x

x = 0,7365g

Se pesaron 0,7365g de N-Benzoil Sulfonamida al 99,48% para tener el equivalente a 0,7327g de N-Benzoil Sulfonamida al 100,0%.

N-acetil sulfonamida

$$\begin{array}{l} 10,10\text{g de sulfas totales} \quad \text{—————} \quad 2,90\text{g de N-acetil sulfonamida} \\ 2,0\text{g de sulfas totales} \quad \text{—————} \quad x \end{array}$$

X = 0,5743g a pesar de N-acetil sulfonamida para tener el equivalente a lo rotulado por la crema en 2,0g de sulfas totales

- Cálculos para la determinación de la cantidad a pesar con respecto a la pureza de la sulfa.

Pureza de N-acetil sulfonamida = 100,06% \equiv % P/P

$$\begin{array}{l} 100,06\text{g N-acetil sulfonamida} \quad \text{—————} \quad 100,0\text{g N-acetil sulfonamida} \\ 0,5343\text{g de N-acetil sulfonamida} \quad \text{—————} \quad x \end{array}$$

$$x = 0,5740\text{g}$$

Se pesaron 0,5740g de N-acetil sulfonamida al 100,06% para tener el equivalente a 0,5343g de N-acetil sulfonamida al 100,0%.

Sulfadiazina.

$$\begin{array}{l} 10,10\text{g de sulfas totales} \quad \text{—————} \quad 3,5 \text{ g de Sulfadiazina.} \\ 2,0\text{g de sulfas totales} \quad \text{—————} \quad x \end{array}$$

X = 0,6931g a pesar de Sulfadiazina para tener el equivalente a lo rotulado por la crema en 2,0g de sulfas totales.

- Cálculos para la determinación de la cantidad a pesar con respecto a la pureza de la sulfa.

Pureza de Sulfadiazina = 99,78% \equiv % P/P

$$\begin{array}{rcl} 99,78\text{g de Sulfadiazina} & \text{—————} & 100,0\text{g de Sulfadiazina} \\ 0,6931\text{g de Sulfadiazina} & \text{—————} & x \\ x = 0,6946\text{g} \end{array}$$

Se pesaron 0,6946g de Sulfadiazina al 99,78% para tener el equivalente a 0,6931g de Sulfadiazina al 100,0%.

Resultados de Muestra al 120%

- En 1,9802g de muestra hay 200,0 mg de sulfas totales según lo rotulado

$$\begin{array}{rcl} 200,0 \text{ mg de sulfas totales} & \text{—————} & 100,0\% \text{ Sobre lo rotulado} \\ X & \text{—————} & 120,0\% \text{ Sobre lo rotulado} \end{array}$$

$$X = 240,0 \text{ mg de sulfas totales} \equiv 0,24\text{g de sulfas totales}$$

$$0,2400\text{g} - 0,2000\text{g} = 0,0400\text{g} \equiv 40,00\text{mg de sulfas totales}$$

- 40,00mg de exceso adicionado de sulfas totales para cargar un peso de muestra de 1,9802g de crema para tener el equivalente al 120,0%.

*Para obtener el 120% se peso el equivalente a 200mg de sulfas totales que están en 1.9802g de crema y se cargo la muestra con 40.0mg de sulfas totales, preparada como anteriormente se detalla.

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 2 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 7 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,60 mL

Valoración N° 8 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,50 mL

Valoración N° 9 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,70 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales recobrados en la Valoración N° 7

Volumen corregido = 9,50 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 9,90 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

9,90 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 244,43 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 244,43 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 12343,70 mg = 12,34 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la valoración Nº 7

10,10 g de sulfas totales ————— 100,0%

12,34 g de sulfas totales ————— X

X = 122,19% sobre lo rotulado

Para este parámetro se realizaron 6 valoraciones que representan el 100,0% que están en un peso de muestra de 1,9802g y se pesaron 6 muestras más a las cuales se agregó 40,0 mg de la mezcla de sulfas totales que fue preparada con anterioridad que representan el 120,0%, para determinar cuanto es recuperado de estos 40,0 mg se le restará el promedio de los valores que representan el 100,0%.

Cuadro Nº 3 Resultado de los miligramos de sulfas presentes en peso de muestra de 1,9802 con carga de 40,0 mg en el Producto Tópico para la Exactitud.

Numero de valoración	Valoraciones que representan el 100,0%. (mg) encontrados	Numero de valoración	Valoraciones que representan el 100,0% + 40,0mg (120,0%) mg recuperados
1	206,67	7	244,43
2	206,67	8	244,43
3	203,20	9	246,90
4	203,20	10	244,43
5	203,20	11	244,43
6	203,20	12	244,43

Determinación de \bar{x} de los mg encontrados en el peso de muestra de 1,9802g

$$\bar{X} = \frac{206,67\text{mg} + 206,67\text{mg} + 203,20\text{mg} + 203,20\text{mg} + 203,20\text{mg} + 203,20\text{mg}}{6}$$

$\bar{X} = 204,36\text{mg}$ encontrados en un peso de muestra de 1,9802g * que representa el 100%

*Para determinar la cantidad recuperada se le restará el promedio obtenido de las 6 valoraciones que representan el 100,0% a cada una de las 6 valoraciones que se le adicionaron los 40,0 mg de carga de mezcla de sulfas totales, que representan el 120,0%

Cantidad de sulfas totales adicionadas a las muestras: 40,0 mg

Ejemplo de cálculos:

Cantidad recuperada en la valoración N° 7.

Cantidad recuperada = Miligramos recuperados – Promedio recuperados en el peso de muestra (1,9802g)

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 244,43\text{mg} - 204,36\text{mg} \\ &= 40,07 \text{ mg.} \end{aligned}$$

Cantidad recuperada en la valoración N° 8.

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 244,43\text{mg} - 204,36\text{mg} \\ &= 40,07 \text{ mg.} \end{aligned}$$

Cantidad recuperada en la valoración N° 9.

$$\begin{aligned} \text{Cantidad recuperada} &= 246,90\text{mg} - 204,36\text{mg} \\ &= 42,54 \text{ mg.} \end{aligned}$$

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

Donde:

C_1 : Concentración recobrada en la muestra adicionada

C_2 : Concentración adicionada a la muestra.

- **% de recobro de la valoración N° 7**

$$\% \text{ de recobro} = \frac{40,07\text{mg}}{40,01\text{mg}} \times 100\% = 100,15\%$$

- **% de recobro de la valoración N° 8**

$$\% \text{ de recobro} = \frac{40,07\text{mg}}{40,08 \text{ mg}} \times 100\% = 99,98\%$$

- **% de recobro de la valoración N° 9**

$$\% \text{ de recobro} = \frac{42,54\text{mg}}{41,46 \text{ mg}} \times 100\% = 102,60\%$$

Cuadro N° 4 Resultados del porcentaje de recobro en las muestras cargadas con la mezcla de sulfas totales en el Producto Tópico para la exactitud.

Placebo analítico adicionado	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% de recobro (%)
7	40,01	40,07	100,15
8	40,08	40,07	99,98
9	41,46	42,54	102,60*
10	40,07	40,07	100,00
11	40,08	40,07	99,98
12	40,09	40,07	99,95

* El porcentaje de recobro obtenido en el placebo analítico 9 fue mayor, debido a que la cantidad adicionada de mezcla de sulfas totales fue mayor al de los demás placebos.

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

$$\sum y = 100,15 + \dots + 99,98 = 602,66$$

$$\sum y^2 = 100,15^2 + \dots + 99,98^2 = 60538,79$$

$$n = 6$$

2. Calcular \bar{y} y S:

Media Aritmética.⁽³⁾

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

$$\bar{y} = \frac{100,15\% + 99,98\% + 102,60\% + 100,00\% + 99,98\% + 99,95\%}{6}$$

$$\bar{y} = \frac{602,66}{6} = 100,44$$

3. Desviación Estándar⁽³⁾

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}} \quad (3)$$

donde:

S = Desviación estándar

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

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

$$S = \sqrt{\frac{6(60538,79) - (602,66)^2}{6 \times (6 - 1)}} =$$

$$S = 1,0593$$

4. Calcular CV

Coeficiente de Variación.⁽³⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

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

$$S = 1,0593$$

$$n = 6$$

$$CV = \frac{1,0593}{100,44} \times 100\% = 1,0547\% \equiv 1,1\% \text{ (Ver cuadro N}^\circ \text{ 9)}$$

el CV no es mayor al 2%

5. Determinar $t_{0,975 \ n-1}$ por la tabla del anexo 8 y calcular IC (μ).

Intervalo de Confianza para la Media Poblacional⁽³⁾

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0,975 \ n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

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

$$IC(\mu) = 100,44 \pm 2,571 \times \frac{1,0593}{\sqrt{6}} = 99,33 - 101,55^*$$

* el intervalo, debe incluir el valor de 100%

En el rango seleccionado en el estudio de la exactitud los valores de porcentaje de recobro estuvieron dentro de los límites de establecidos para los métodos químicos (97.0% - 103.0%).⁽³⁾ Y los valores de coeficiente de variación para los niveles estudiados resultan menores al 2%. La curva de recuperación reportada de porcentaje teórico contra los porcentajes prácticos, demostró un comportamiento simétrico.

RESULTADOS DE PRECISIÓN.

La precisión comprende en la evaluación de la Repetibilidad y la Reproducibilidad.

CUADRO Nº 5 Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en el Productos Tópicos para la evaluación de Repetibilidad.

Nº de Valoración	Peso Muestra	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales encontrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
1	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
2	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
3	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
4	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
5	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
6	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
7	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
8	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
9	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%

FC de NaNO₂ 0,1 M VS = 1,04167. (Ver Anexo 6)

REPETIBILIDAD.

Bureta: Nº 1 (Ver Anexo Nº 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo Nº 2 Composición Química).

Analista: Nº 1 (Ver Cuadro Nº 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 1 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 2 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 3 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,20 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales encontrado en la Valoración N° 1

Volumen corregido = 8,10 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 8,44 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

8,44 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 208,38 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 208,38 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 10523,18 mg = 10,52 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N° 1

10,10 g de sulfas totales ————— 100,0%

10,52 g de sulfas totales ————— X

X = 104,16 % sobre lo rotulado

Cálculos para la evaluación de Repetibilidad.

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

$$\sum y = 104,16 + \dots + 102,77 = 941,21$$

$$\sum y^2 = 104,16^2 + \dots + 102,77^2 = 98437,71$$

$$n = 9$$

1. Calcular \bar{y} y S:

Media Aritmética.(3)

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

$$\bar{y} = \frac{104,16\% + 104,16\% + 105,45\% + 105,45\% + 104,16\% + 104,16\% + 105,45\% + 105,45\% + 102,77\%}{9}$$

$$\bar{y} = 104,58\% \text{ sobre lo rotulado}$$

3. Desviación Estándar(3)

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}} \quad (3)$$

donde:

S = Desviación estándar

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

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

$$S = \sqrt{\frac{9(98437.71) - (941,21)^2}{9 \times (9 - 1)}} =$$

$$S = 0.9363$$

4. Calcular CV

Coefficiente de Variación.⁽³⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

$$CV = \frac{0,9363}{104,58} \times 100\% = 0,8953 \% \equiv 0,9\% \text{ (Ver cuadro N}^\circ \text{ 9)}$$

El CV no es mayor al 1,5%⁽³⁾

En el estudio de la repetibilidad se alcanzó un coeficiente de variación adecuado lo que asegura la buena precisión del método según el límite, que para los métodos físico químicos debe de ser un CV $\leq 2\%$ ⁽³⁾.

REPRODUCIBILIDAD.

Para la evaluación de este parámetro se realizó por dos analistas en diferentes días y variando el equipo utilizado.

CUADRO Nº 6 Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en el Productos Tópicos para la Reproducibilidad.

Nº de valoración	Peso Muestra Real (g)	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales encontrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Resultados obtenidos por el analista - Nº 1					
1	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
2	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
3	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
4	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
5	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
6	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
Resultados obtenidos por el analista - Nº 2					
7	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
8	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
9	1,9802	8,20	8,54	10,65	105,45%
10	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
11	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
12	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%

FC de NaNO₂ 0,1 M VS = 1,04167. (Ver Anexo 6)

Bureta: N° 2 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 y 2 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 1 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 2 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 3 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

FC de NaNO_2 0.1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°1

Volumen corregido = 8,10 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 8,44 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

8,44 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 208,38 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 208,38 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 10523.18 mg = 10.52 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la valoración N° 1

10,10 g de sulfas totales ————— 100%

10,52 g de sulfas totales ————— X

X = 104,16 % sobre lo rotulado

Para la determinación del coeficiente de variación de este parámetro se tabularon los resultados obtenidos por ambos analista, en los cuales se tomó como variable el equipo y día de análisis.

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

$$\sum y = 104,16 + \dots + 104,16 = 1249,62$$

$$\sum y^2 = 104,16^2 + \dots + 104,16^2 = 130139,96$$

$$n = 12$$

2. Calcular \bar{y} y S:

Media Aritmética.⁽³⁾

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

$$\bar{y} = \frac{1249,62}{12} = 104,13$$

3. Desviación Estándar⁽³⁾

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}} \quad (3)$$

donde:

S = Desviación estándar

y = valores obtenidos del ensayo (% de recobros)

n = número de mediciones, recobros o determinaciones.

$$S = \sqrt{\frac{12 (130139.96) - (1249.62)^2}{12 \times (12 - 1)}} =$$

$$S = 0.9900$$

4. Calcular CV

Coeficiente de Variación.⁽³⁾

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100 \quad (3)$$

donde:

\bar{y} = Media aritmética

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estándar

$$CV = \frac{0.9900}{104.13} \times 100\% = 0.9507 \% \equiv 0.9\% \text{ (Ver cuadro N}^\circ \text{ 9)}$$

el CV no es mayor al 1.5% ⁽³⁾

Con el objetivo de evaluar la reproducibilidad del método analítico se variaron los días de análisis, los analistas e instrumentos obteniéndose resultados de coeficiente de variación de los datos obtenidos por ambos analistas de 0.9% y el CV especificado para métodos analíticos es de 1.5%₍₃₎ por lo cual se establece que la variación en los valores obtenidos por ambos analistas no es significativa por lo cual este método analítico es reproducible en las condiciones evaluadas.

RESULTADOS DE ROBUSTEZ.

A continuación se muestran los resultados obtenidos a partir del análisis del parámetro de desempeño: Robustez, el análisis de muestras a diferentes temperaturas, demostrando que aun cuando el parámetro temperatura varié, los porcentajes encontrados se encuentran entre los valores esperados según el análisis estadístico.

La evaluación de la robustez se realizó a temperatura de 10,0, 12,0, 15,0 °C Siendo la temperatura de 15,0°C₍₁₁₎ la requerida para la valoración Según La Farmacopea XVI.

CUADRO N° 7 Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en Productos Tópicos para la Robustez.

N° de valoración	Peso Muestra (g)	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales encontrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Análisis a 15°C					
1	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
3	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
2	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
Análisis a 12°C					
4	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
5	1,9802	8,00	8,33	10,38	102,77%
6	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
Análisis a 10°C					
7	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
9	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%
8	1,9802	8,10	8,44	10,52	104,16%

FC de NaNO₂ 0.1 M VS = 1,04167. (Ver Anexo 6)

Temperatura de trabajo 10°C

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 2 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 1 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 2 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mL

Valoración N° 3 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,00 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°1

Volumen corregido = 8,10 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 8,44 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

8,44 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 208,38 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 208,38 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 10523,18 mg = 10,52 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la valoración N° 1

10,10 g de sulfas totales ————— 100,0%

10,52 g de sulfas totales ————— X

X = 104,16 % sobre lo rotulado

Determinación de la media aritmética del análisis de cada condición diferente.

Media aritmética del análisis inicial a 15°C

$$\bar{y}_0 = \frac{311,09}{3} = 103,70\%$$

Análisis a 12°C

$$\bar{y}_i = \frac{309,70}{3} = 103,23\%$$

Análisis a 10°C

$$\bar{y}_i = \frac{312,48}{3} = 104,16\%$$

Determinación de la diferencia absoluta $|d_i|$

$$|d_i| = |y_i - y_0| \text{ y debe de ser } \leq 3\% \text{ (8)}$$

($|d_i|$) a 10°C

$$|d_i| = |104,16 - 103,70|$$

$$|d_i| = 0,46 \quad (\text{Ver cuadro N}^\circ 9)$$

($|d_i|$) a 12°C

$$|d_i| = |103,23 - 103,70|$$

$$|d_i| = 0,47 \quad (\text{Ver cuadro N}^\circ 9)$$

Ya que los valores de la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la condición normal $|d_i|$ son menores al criterio de aceptación para dicho valor, es decir, que $|d_i|$ es $\leq 3\%_{(8)}$ siendo el método robusto para las diferentes temperaturas de análisis.

EVALUACIÓN DE RESULTADOS LINEALIDAD Y RANGO.

Cuadro Nº 8 Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en Productos Tópicos para la Linealidad y Rango.

Nº de valoración	Peso Muestra + Excipiente (g)	Concentración final de la muestra (mg) de Sulfas Totales	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales recobrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Valoraciones que representan el 80,00%						
1	1.5842 + 0.3960	160.0	6.4	6.7	8.35	82.67
2	1.5842 + 0.3960	160.0	6.3	6.6	8.18	80.99
3	1.5842 + 0.3960	160.0	6.4	6.7	8.35	82.67
Valoraciones que representan el 90,00%						
4	1.7822 + 0.1980	180.0	7.1	7.4	9.23	91.39
5	1.7822 + 0.1980	180.0	7.0	7.3	9.10	90.10
6	1.7822 + 0.1980	180.0	7.2	7.5	9.35	92.57
Valoraciones que representan el 100,00%						
7	1.9802	200.0	7.9	8.2	10.22	101.23
8	1.9802	200.0	8.0	8.3	10.35	102.48
9	1.9802	200.0	8.1	8.4	10.47	103.66
Nº de valoración	Peso Muestra + Mezcla de sulfas para Carga. (g)	Concentración final de la muestra (mg) de Sulfas Totales	Volumen NaNO ₂ 0.1M sin corregir. (mL)	Volumen NaNO ₂ 0.1M corregido. (mL)	Gramos de sulfas totales recobrados en 100 g. de crema	Porcentaje sobre lo rotulado.
Valoraciones que representan el 110,00%						
10	1.9802 + 0.0200	220.0	8.6	9.0	11.22	111.09
11	1.9802 + 0.0200	220.0	8.7	9.1	11.35	112.38
12	1.9802 + 0.0200	220.0	8.6	9.0	11.22	111.09
Valoraciones que representan el 120,00%						
13	1.9802 + 0.0400	240.0	9.5	9.9	12.34	122.18
14	1.9802 + 0.0400	240.0	9.6	10	12.47	123.47
15	1.9802 + 0.0400	240.0	9.5	9.9	12.34	122.18

La Linealidad y Rango se evaluó utilizando concentraciones de 80%,90%,100%,110%,120%. del analito, utilizando un sustituto del excipiente de las cremas para tener las concentraciones del 80% y 90% y agregando una mezcla de sulfas para cargar la muestra hasta las concentraciones del 110% y 120%.

Muestra al 80%

- En 1.9802g de crema hay 200mg de sulfas totales

200mg de sulfas totales	—————	100% Sobre lo rotulado
X	—————	80% Sobre lo rotulado

$$X = 160\text{mg de sulfas totales} \equiv 0,160\text{g de sulfas totales}$$

1,9802g de crema	—————	200mg de sulfas totales
X	—————	160mg de sulfas totales

$$X = 1,5842\text{g de crema}$$

- En 1,5842g de crema es \equiv 160mg de sulfas totales y es \equiv al 80% de principio activo.

*Nota: para tener el equivalente al 80% se peso 1,5842g de crema que contiene 160mg de sulfas totales y se rellena la muestra con 0,3960 de excipiente para completar el peso de muestra de 1.9802g.

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 1 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 6,40 mL

Valoración N° 2 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 6,30 mL

Valoración N° 3 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 6,40 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°1

Volumen corregido = 6,40 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 6,7 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

6,70 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 165,42 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 165,42 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 8353,70 mg = 8,35 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N°1

10,10 g de sulfas totales ————— 100,0%

8,35 g de sulfas totales ————— x

X = 82,67 % sobre lo rotulado

Muestra al 90%

- En 1,9802g de crema hay 200mg de sulfas totales

200mg de sulfas totales ————— 100% Sobre lo rotulado

X ————— 90% Sobre lo rotulado

X = 180mg de sulfas totales \equiv 0,18g de sulfas totales

1,9802g de crema ————— 200mg de sulfas totales

X ————— 180mg de sulfas totales

X = 1,7822g de crema

- En 1,7822g de crema es \equiv 180mg de sulfas totales y es \equiv al 90% de principio activo.

*Nota: para tener el equivalente al 90% se pesa 1,7822g de crema que contiene 180mg de sulfas totales y se rellena la muestra con 0,1980 de excipiente para completar el peso de muestra de 1,9802g.

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 4 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 7,10 mL

Valoración N° 5 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 7,00 mL

Valoración N° 6 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 7,20 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°4

Volumen corregido = 7,1 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167

= 7,40 mL de NaNO_2 0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

7,40 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 182,71 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 182,71 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 9226,04 mg = 9,23 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N°4

10,10 g de sulfas totales ————— 100,0%

9,23 g de sulfas totales ————— X

X = 91,39 % sobre lo rotulado

Muestra al 100,0%**Se utilizo la muestra sin ninguna modificación.**

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayoValoración N° 7 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 7,90 mLValoración N° 8 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,00 mLValoración N° 9 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,10 mLFC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)**Determinación de los g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°7**Volumen corregido = 7,90 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167= 8,20 mL de NaNO_2 0,1 M VS1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales8,20 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 202.46 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 202,46 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 10224,22 mg = 10,22 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N°7

10,10 g de sulfas totales ————— 100%

10,22 g de sulfas totales ————— X

$$X = 101.23 \% \text{ sobre lo rotulado}$$

- * **Ver la preparación de mezcla de sulfas totales para cargar la muestra, preparada para en parámetro de Exactitud**

Muestra al 110%

- En 1.9802g de crema hay 200mg de sulfas totales

200mg de sulfas totales ————— 100% Sobre lo rotulado

X ————— 110% Sobre lo rotulado

$$X = 220\text{mg de sulfas totales} \equiv 0.22\text{g de sulfas totales}$$

$$0,2200\text{g} - 0,2000\text{g} = 0,0200\text{g} \equiv 20,00\text{mg de sulfas totales}$$

20,00mg de exceso de sulfas totales a agregar para un peso de muestra de 1,9802g de crema para tener el equivalente al 110%.

- * Se preparó una mezcla de sulfas totales como el parámetro de Exactitud, de la cual se pesaron 20,00 mg de dicha mezcla.

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 10 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,60 mL

Valoración N° 11 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,70 mL

Valoración N° 12 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 8,60 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°10

Volumen corregido = 8,60 mL NaNO_2 0,1 M VS X 1,04167 = 9,00 mL de NaNO_2
0,1 M VS

1,0 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— 24,69 mg de sulfas totales

9,00 mL NaNO_2 0.1 M VS ————— X

X = 222,21 mg de sulfas totales en peso de muestra

1,9802 g de crema ————— 222,21 mg de sulfas totales.

100,0 g de crema ————— X

X = 11221,59 mg = 11,22 g de sulfas totales

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N°10

10,10 g de sulfas totales ————— 100%

11,22 g de sulfas totales ————— X

X = 111,09 % sobre lo rotulado

Muestra al 120%

200mg de sulfas totales	—————	100% Sobre lo rotulado
X	—————	120% Sobre lo rotulado

$$X = 240\text{mg de sulfas totales} \equiv 0,24\text{g de sulfas totales}$$

- En 1,9802g de crema hay 200mg de sulfas totales

$$0,2400\text{g} - 0,2000\text{g} = 0,0400\text{g} \equiv 40,00\text{mg de sulfas totales}$$

- 40,00mg de exceso de sulfas totales para un peso de muestra de 1,9802g de crema para tener el equivalente al 120%.

*Para obtener el 120% se peso el equivalente a 200mg de sulfas totales que están en 1,9802g de crema y se cargó la muestra adicionando 40,0mg de mezcla de sulfas totales, que fue preparada como anteriormente se detalla en Exactitud.

Bureta: N° 1 (Ver Anexo N° 11 Certificado De Calibración)

Crema: (Ver Anexo N° 2 Composición Química).

Analista: N° 1 (Ver Cuadro N° 1)

Volúmenes obtenidos en el ensayo

Valoración N° 13 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,50 mL

Valoración N° 14 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,60 mL

Valoración N° 15 Volumen gastado de NaNO_2 0.1 M VS = 9,50 mL

FC de NaNO_2 0,1 M VS = 1,04167 (Ver Anexo 6)

Determinación de g de sulfas totales encontrados en la Valoración N°13

Volumen corregido = $9,50 \text{ mL NaNO}_2 0,1 \text{ M VS} \times 1,04167 = 9,90 \text{ mL de NaNO}_2$
 $0,1 \text{ M VS}$

$1,0 \text{ mL NaNO}_2 0.1 \text{ M VS} \text{ ————— } 24,69 \text{ mg de sulfas totales}$

$9,90 \text{ mL NaNO}_2 0.1 \text{ M VS} \text{ ————— } X$

$X = 244,43 \text{ mg de sulfas totales en peso de muestra}$

$1,9802 \text{ g de crema} \text{ ————— } 244,43 \text{ mg de sulfas totales.}$

$100,0 \text{ g de crema} \text{ ————— } X$

$X = 12343,70 \text{ mg} = 12,34 \text{ g de sulfas totales}$

Porcentaje Sobre lo Rotulado de la Valoración N°13

$10,10 \text{ g de sulfas totales} \text{ ————— } 100\%$

$12,34 \text{ g de sulfas totales} \text{ ————— } X$

$X = 122,18 \% \text{ sobre lo rotulado}$

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

$$\Sigma x = 160 + \dots + 240 = 3,000$$

$$\Sigma y = 6.7 + \dots + 9.9 = 124.0$$

$$\Sigma x^2 = 160^2 + \dots + 240^2 = 612,000$$

$$\Sigma y^2 = 6.7^2 + \dots + 9.9^2 = 1045.16$$

$$\Sigma xy = 160 \times 6.7 + \dots + 240 \times 9.9 = 25,290$$

$$n = 15$$

Calculando b_1 , b_0 , y r^2

Para determinar la pendiente (b_1) se utilizara la siguiente formula:(3)

$$b_1 = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} \quad (3)$$

n = numero de mediciones (concentración–respuesta analítica)

$$b_1 = \frac{15 \times 25,290 - 3,000 \times 124.0}{15 \times 612,000 - (3,000)^2} = 0.0408$$

Para determinar la constante b_0 (ordenada al origen) se utilizara la siguiente fórmula. (3)

$$b_0 = \frac{\Sigma y - b_1 \Sigma x}{n} \quad (3)$$

$$b_0 = \frac{124.0 - 0.0408 \times 3,000}{15} = 0.1066$$

Para la interpretación estadística de la regresión lineal se determinó:

El coeficiente de determinación (r^2) (3)

$$r = \sqrt{\frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}} \quad (3)$$

$$r^2 = \frac{(15 \times 25,290 - 3,000 \times 124.0)^2}{(15 \times 612,000 - (3,000)^2) \times (15 \times 1,045.16 - (124.0)^2)} = 0.9958 \text{ (Ver cuadro N}^\circ \text{ 9)}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{((1,045.16 - (0.0408 \times 2,5290)) - (0.1067) \times 124.0)}{15 - 2}} = 0.082$$

Intervalo de Confianza para la Pendiente.

$$CI(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b1}$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}} \quad (3)$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}} \quad (3)$$

$$S_{b1} = 0.082 \times \frac{1}{\sqrt{612,000 - \frac{(3,000)^2}{15}}} = 0.00075$$

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

$$C1(\beta_1) = 0.0408 \pm 2.160 \times 0.0075$$

0.4096 – 0.4064 No debe incluir el cero

$$Y = 0.0408x + 0.1066$$

COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE REGRESIÓN ($CV_{y/x}$)

$$CV_{y/x} = \frac{0.082}{8.26} \times 100\% = 0.9507\% \cong 1.0\% \text{ (Ver cuadro N}^\circ \text{ 9)}$$

$$CV_{y/x} = 1.0\%$$

La ecuación de la recta del rango de concentraciones estudiadas se expresa según $Y = 0.0408X + 0.1066$ con un coeficiente de correlación lineal de 0.9958.

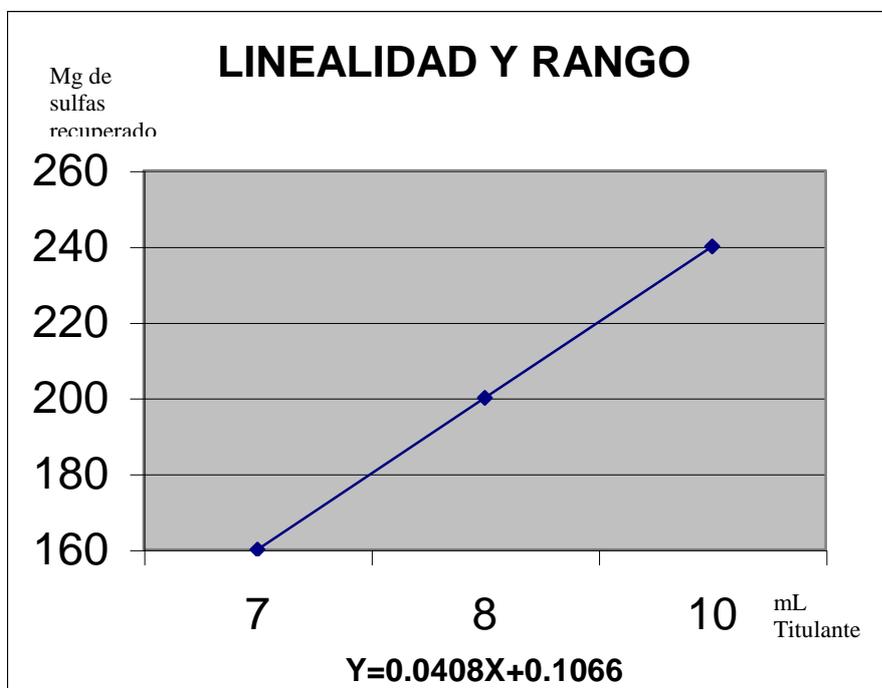


Figura N° 1 Resultados de la Cuantificación de Sulfonamidas Presentes en Productos Tópicos para la Linealidad y Rango.

El coeficiente de determinación de los datos obtenidos en el análisis de las muestras en la evaluación del parámetro de desempeño: linealidad y rango ($r^2 = 0.9958$), nos indica el 99.6% de variabilidad de “y” se explica por la variable “x”, por lo tanto existen otras variables que modifican el sistema, la variabilidad de “x”, en este caso es importante que solamente el 0.4% es decir que dicha variabilidad es producida por agentes externos, por lo tanto el método es lo suficientemente confiable pues no es influenciado significativamente por el ambiente u otras variables.⁽⁸⁾

A Continuación se Presenta El Protocolo de Evaluación de Parámetros de Desempeño del Método Titrimétrico de Diazoación para la Cuantificación de Sulfonamidas, el cual fue desarrollado para el presente trabajo, en la que se detalla los Parámetros de Desempeño que de dicho método que fueron realizados.

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 1 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>CONTENIDO:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. OBJETIVO 2. ALCANCE 3. JUSTIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO 4. RESPONSABILIDADES 5. DIAGRAMA Y DATOS DEL PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS POR EL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN 6. DATOS SOBRE CUALIFICACIÓN DEL EQUIPO. 7. MÉTODO DE EVALUACIÓN <ol style="list-style-type: none"> 7.1 PARÁMETROS A ESTUDIAR 7.2 LOTES A CONTROLAR 7.3 PROCEDIMIENTO GENERAL DEL MÉTODO (ESTUDIO DE PARÁMETROS) <ol style="list-style-type: none"> 7.3.1 ENSAYO DE REPETIBILIDAD DEL MÉTODO 7.3.2 ENSAYO DE REPRODUCIBILIDAD 7.3.3 ENSAYO DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO 7.3.4 ENSAYO DE RANGO Y LINEALIDAD DEL MÉTODO 7.3.5 ENSAYO DE EXACTITUD: 8. CONCLUSIONES E INFORME TÉCNICO 9. DICTAMEN Y CERTIFICADO DE EVALUACIÓN 			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 2 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>1. OBJETIVO:</p> <p>El objetivo del presente protocolo es el de asegurar que el método analítico por diazoación para la cuantificación de sulfonamidas se demuestren, y proporcionar de forma consistente y repetitiva, unos resultados que cumplan con las especificaciones establecidas.</p> <p>2. ALCANCE:</p> <p>Este P.N.T se utilizará para la evaluación de los parámetros de desempeño en el análisis cuantitativo de sulfonamidas por el método titrimétrico de diazoación cuando estas se encuentran en la formulación de productos farmacéuticos tópicos (crema), y han sido evaluados en los laboratorios de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.</p> <p>3. JUSTIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:</p> <p>El método titrimétrico de diazoación posee gran fiabilidad para la valoración de sulfonamidas y presenta las siguientes ventajas:</p> <p>Es sencillo y económico en comparación a los métodos oficiales vigentes.</p> <p>4. RESPONSABILIDADES:</p> <p>La responsabilidad de la evaluación de los parámetros de desempeño del método corresponde al departamento de Control de Calidad.</p> <p>5. DIAGRAMA Y DATOS DEL PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS POR EL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN</p> <p>Las etapas básicas del método de cuantificación de sulfonamidas aplicado a productos farmacéuticos tópicos son las que figuran a continuación:</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 3 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>5.</p> <div style="text-align: center;"> <div data-bbox="643 663 1051 761" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">PESADA DEL PRODUCTO</div> <div data-bbox="810 781 908 860" style="text-align: center; margin: 10px 0;">↓</div> <div data-bbox="617 880 1075 1048" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">EXTRACCIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO DE LA MATRIZ</div> <div data-bbox="810 1068 908 1146" style="text-align: center; margin: 10px 0;">↓</div> <div data-bbox="643 1167 1051 1240" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">ENFRIAMIENTO</div> <div data-bbox="810 1261 908 1339" style="text-align: center; margin: 10px 0;">↓</div> <div data-bbox="617 1359 1075 1505" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">CONTROL DE TEMPERATURA</div> <div data-bbox="810 1525 908 1603" style="text-align: center; margin: 10px 0;">↓</div> <div data-bbox="643 1624 1051 1693" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">TITULACIÓN</div> </div>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:																		
		HOJA: 4 DE: 10																		
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD																		
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:																		
<p>6. DATOS SOBRE CUALIFICACIÓN DEL EQUIPO</p> <p>Se adjunta copia de certificados de calibración de los instrumentos y el equipo utilizado, en la evaluación de los parámetros de desempeño del método de diazoación.(Ver anexo N° 11)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">EQUIPOS</th> <th rowspan="2">MARCA/MODELO</th> <th rowspan="2">No DE IDENTIFICACION</th> <th>CUALIFICACIÓN</th> </tr> <tr> <th>FECHA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Balanza análitica</td> <td>SARTORIUS</td> <td>1.2050.3104.106.0005</td> <td>18/07/2006</td> </tr> <tr> <td>Termómetro</td> <td>FISHERBRAND</td> <td>S/N</td> <td>06/06/2006</td> </tr> </tbody> </table> <p>7. MÉTODO DE EVALUACIÓN</p> <p>7.1 PARÁMETROS A ESTUDIAR</p> <p>Los parámetros a estudiar en la evaluación del método de cuantificación de sulfonamidas en productos farmacéuticos tópicos son los siguientes:</p> <p>a) PRECISIÓN:</p> <p> a.1-Repetibilidad</p> <p> a.2-VARIABLES del parámetro evaluado</p> <p> -Días diferentes</p> <p> -Analistas diferentes</p> <p> -Instrumentos diferentes</p> <p>b) ROBUSTEZ</p> <p> -Variación de temperatura</p> <table border="1"> <tr> <td>REDACTADO POR:</td> <td>VERIFICADO POR:</td> <td>APROBADO POR:</td> <td>FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:</td> </tr> </table>				EQUIPOS	MARCA/MODELO	No DE IDENTIFICACION	CUALIFICACIÓN	FECHA	Balanza análitica	SARTORIUS	1.2050.3104.106.0005	18/07/2006	Termómetro	FISHERBRAND	S/N	06/06/2006	REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:
EQUIPOS	MARCA/MODELO	No DE IDENTIFICACION	CUALIFICACIÓN																	
			FECHA																	
Balanza análitica	SARTORIUS	1.2050.3104.106.0005	18/07/2006																	
Termómetro	FISHERBRAND	S/N	06/06/2006																	
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:																	

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 5 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>c) LINEALIDAD Y RANGO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diferentes analistas y diferentes concentraciones. <p>d) EXACTITUD:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Variación de Concentración y Analistas. <p>7.2 LOTES A CONTROLAR</p> <p>Se requerirán lotes consecutivos con resultados aceptables para considerar evaluados los parámetros de desempeño del método analítico de cuantificación de sulfonamidas (Método de diazoación).</p> <p>7.3 PROCEDIMIENTO GENERAL DEL MÉTODO (ESTUDIO DE PARÁMETROS)</p> <p>Los ensayos se realizarán con muestras tomadas del producto terminado de la especialidad farmacéutica tópica en estudio.</p> <p>En general se realizará, para cada parámetro, la toma de muestras que se indica en cada prueba, tomando en cuenta la concentración de principio activo requerido para cada análisis, y en los casos que sea necesario según el parámetro en evaluación, se utilizarán muestras cargadas.</p> <p style="text-align: center;">ESTUDIO DE PARÁMETROS</p> <p>7.3.1 REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:</p> <p>Método de muestreo: Tomar la cantidad de crema equivalente a 200mg de principio activo.</p> <p>Peso aproximado de muestra: 1.9802g</p> <p>Número de tomas de muestra: 9</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 6 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>Procedimiento: Realizar el muestreo según se indica y determinar la reproducibilidad por medio de la comparación de datos obtenidos por dos diferentes analistas en diferentes días y utilizando diferente equipo de laboratorio, en las mismas instalaciones.</p> <p>Límites de aceptación: $CV \leq 2\%$</p> <p>Resultados: Expresar los resultados en función del coeficiente de variación de la serie de evaluaciones realizadas.</p> <p>7.3.2 ENSAYO DE REPRODUCIBILIDAD:</p> <p>Método de muestreo: Similar al del parámetro anterior.</p> <p>Procedimiento: Realizar el muestreo según se indica y evaluar la reproducibilidad variando los días del análisis, instrumentos y analistas.</p> <p>Límites de aceptación: $CV \leq 2\%$</p> <p>Resultados: Realizar las estimaciones del análisis mediante el cálculo del coeficiente de variación de los análisis realizados.</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 7 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>7.3.3 ENSAYO DE ROBUSTEZ DEL MÉTODO:</p> <p>Método de muestreo:</p> <p>Similar al del parámetro anterior.</p> <p>Procedimiento:</p> <p>Evaluar la robustez variando la temperatura en cada análisis.</p> <p>Límites de aceptación:</p> <p>$d_i (8) \leq 3\%$</p> <p>Resultados:</p> <p>Expresar los resultados como la diferencia de la media aritmética de cada concentración diferente con respecto a la inicial. $d_i (8)$</p> <p>7.3.4 ENSAYO DE RANGO Y LINEALIDAD DEL MÉTODO:</p> <p>Método de muestreo:</p> <p>Similar al de los parámetros anteriores.</p> <p>Procedimiento:</p> <p>Realizar el muestreo tomando en consideración las cinco concentraciones de trabajo. En cada evaluación variará el analista.</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 8 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>Limites de aceptación:</p> <p>$CV \leq 2\%$, $r^2 \geq 0.98$</p> <p>Resultados:</p> <p>Los resultados de cada evaluación se analizaran según la distribución de t de student.</p> <p>7.3.5 ENSAYO DE EXACTITUD:</p> <p>Método de muestreo:</p> <p>Similar a los parámetros anteriores.</p> <p>Procedimiento:</p> <p>Evaluar la exactitud mediante el análisis de muestra en concentración conocida.</p> <p>Límites de aceptación:</p> <p>$CV \leq 2\%$</p> <p>Resultados:</p> <p>Expresar los resultados en función del coeficiente de variación y según la distribución de t de student,</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:					
		HOJA: 9 DE: 10					
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD					
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:					
<p>8. CONCLUSIONES E INFORME TÉCNICO</p> <p>Conclusiones:</p> <p>Los resultados obtenidos en la evaluación del método analítico de diazoación para la cuantificación de sulfonamidas en productos farmacéuticos tópicos, permiten establecer las siguientes conclusiones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la técnica analítica para la cuantificación de sulfonamidas en productos farmacéuticos tópicos, es válida para garantizar la calidad química ya que se obtuvieron resultados satisfactorios en las condiciones del laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador; demostrándose así que los parámetros de linealidad, precisión, exactitud y Robustez cumplen con lo requerido. <p>Informe técnico:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Cristalería:</th> <th>Equipo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agitador magnético ▪ Agitadores de vidrio ▪ Balón volumétrico de 1000.0 mL ▪ Beakers de 250 mL ▪ Beakers de 30 mL ▪ Beakers de 50 mL ▪ Bureta de 25 mL ▪ Probeta de 25 mL ▪ Probeta de 50 mL </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Desecador ▪ Baño de hielo ▪ Balanza analítica ▪ Balanza semianalitica ▪ Estufa ▪ Hot Plate </td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> • Los certificados de calibración ver en el anexo N° 11 				Cristalería:	Equipo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agitador magnético ▪ Agitadores de vidrio ▪ Balón volumétrico de 1000.0 mL ▪ Beakers de 250 mL ▪ Beakers de 30 mL ▪ Beakers de 50 mL ▪ Bureta de 25 mL ▪ Probeta de 25 mL ▪ Probeta de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Desecador ▪ Baño de hielo ▪ Balanza analítica ▪ Balanza semianalitica ▪ Estufa ▪ Hot Plate
Cristalería:	Equipo						
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agitador magnético ▪ Agitadores de vidrio ▪ Balón volumétrico de 1000.0 mL ▪ Beakers de 250 mL ▪ Beakers de 30 mL ▪ Beakers de 50 mL ▪ Bureta de 25 mL ▪ Probeta de 25 mL ▪ Probeta de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Desecador ▪ Baño de hielo ▪ Balanza analítica ▪ Balanza semianalitica ▪ Estufa ▪ Hot Plate 						
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:				

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	Numero:	
		HOJA: 10 DE: 10	
TÍTULO: PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO DE DIAZOACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFONAMIDAS		DEPARTAMENTO: GARANTÍA DE CALIDAD	
P.N.T. N°:	FECHA:	REVISIÓN N°:	
<p>9. DICTAMEN Y CERTIFICADO DE EVALUACIÓN</p> <p>Una vez visto el informe técnico y estudiado toda la documentación anexa y teniendo en cuenta los resultados obtenidos para la cuantificación de sulfonamidas en productos farmacéuticos tópicos, es válida para obtener resultados satisfactorios en las condiciones del laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador; así se demuestra en los parámetros de linealidad, precisión, exactitud y Robustez, se establece la Evaluación de los parámetros de desempeño.</p> <p>FIRMA RESPONSABLE DE LA EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO.</p> <p>Luis Enrique Castellanos Monge. _____</p> <p>Ana Guadalupe Hernández Lopez. _____</p> <p style="text-align: right;">FECHA.....</p>			
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:	FECHA PRÓXIMA REVISIÓN:

Cuadro N° 9: Cuadro Resumen de comparación de la evaluación de parámetros de desempeño realizados y los requerimientos para la validación según la farmacopea de los Estados Unidos (USP 29). (3) (5) (8) (11)

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Exactitud	IC(μ) = 97 - 103% CV \leq 2%	99.29 - 101.65% CV = 1.1%
Precisión (repetibilidad y reproducibilidad)	CV \leq 2.0% CV \leq 1.5%	CV = 0,8950% CV = 0,9%
Robustez	lidl \leq 3%	lidl = 0.46% 74.0 = lidl%
Linealidad	$r^2 \geq$ 0,98 CV \leq 3%	$r^2 =$ 0,9958 CV = 0,9927%

DISCUSION DE RESULTADOS

EXACTITUD:

Para el estudio de la exactitud, se utilizó el método de recuperación, mediante la preparación de la muestra a diferente nivel de concentración y los datos obtenidos como resultado de la evaluación del parámetro nos establece que los valores de porcentaje de recobro estuvieron dentro de los límites establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos para los métodos químicos (97.0% - 103.0%). Y los valores de coeficiente de variación para los niveles estudiados resultan menores al 2%. Estos valores no representan ninguna asimetría importante, por lo tanto los datos obtenidos siguen una distribución normal y se considera que el método es exacto en relación a las condiciones que fue realizado el análisis.

PRECISIÓN (REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD)

Con el objetivo de evaluar la reproducibilidad del método analítico se variaron los días de análisis, los analistas e instrumentos, obteniéndose resultados de coeficiente de variación de los datos obtenidos por ambos analistas de 0.9% ya que el CV especificado para métodos químicos es de 1.5%.⁽³⁾

Dicho resultado nos permite estimar que la variabilidad entre analistas (reproducibilidad interanalistas), la variabilidad entre días (reproducibilidad interdías) y la variabilidad del método analítico (repetibilidad) no tienen un efecto significativo sobre el grado de tolerancia del método a estas fuentes de variación.

ROBUSTEZ

Las alteraciones introducidas deliberadamente para estudiar el parámetro: robustez (variación de la temperatura e instrumentos), no influenciaron significativamente los resultados obtenidos, ya que la diferencia de la media aritmética de la condición normal de operación (\bar{y}_0) y de cada operación diferente de la condición normal (Y_1) cumple con las especificaciones de la bibliografía oficial, por lo tanto el método es adaptable a las condiciones estudiadas.

LINEALIDAD Y RANGO

La ecuación de la recta del rango de concentraciones estudiadas se expresa según $Y = 0.0408X + 0.1066$ con un coeficiente de correlación lineal de 0.9958. (ver figura 1)

El coeficiente de determinación de los datos obtenidos en el análisis de las muestras en la evaluación del parámetro de desempeño: Linealidad y Rango ($r^2 = 0.9958$), nos indica el 99.6% de variabilidad de los datos obtenidos de los miligramos de sulfas totales en la muestra (y); son afectados en su mayoría por el volumen de titulante gastado (x); es decir que el sistema es influido por factores externos solamente en un 0.4%, ya que El coeficiente de determinación (r^2) es cercano a la unidad la linealidad es mayor mente reproducida, por lo tanto el método es lo suficientemente confiable pues no es influenciado significativamente por el ambiente u otras variables. (8)

Para los 15 análisis realizados, los grados de libertad son 13 y el valor de la tabla de t de student para una seguridad de 95% es 2.160

El intervalo de confianza de la pendiente relaciona los errores de muestreo, errores de medida y los errores aleatorios de la técnica empleada, por lo tanto la precisión de los datos de estudio se refleja en el intervalo de confianza el cual nos indica que entre los límites 0,21792 -- 0,13632 se encuentra el valor verdadero del parámetro de las muestras analizadas, con un nivel de seguridad del 95% y como el intervalo no incluye el cero el valor es estadísticamente significativo.

Se comprobó el cumplimiento de la linealidad del sistema en el intervalo de concentraciones estudiado por el elevado valor del coeficiente de correlación alcanzado.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. El análisis estadístico de los datos obtenidos mediante la evaluación de los parámetros de desempeño del método titrimétrico de diazoación demostró que el método cumple con las especificaciones descritas en la bibliografía oficial para métodos físico-químicos de la Farmacopea 29 de los Estados Unidos (USP 29).
2. El método titrimétrico de diazoación es confiable y adecuado para ser aplicado con fines de docencia para el análisis de productos que contienen sulfas en el laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
3. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la técnica analítica para la cuantificación de sulfonamidas por Diazoación en productos farmacéuticos tópicos, es válida para obtener resultados satisfactorios en las condiciones del laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador; demostrándose con los parámetros de linealidad, precisión, exactitud y robustez .
4. El método titrimétrico de diazoación permite obtener resultados confiables aun cuando se introduzcan variaciones consideradas críticas (como lo es la temperatura) en factores instrumentales y factores no instrumentales,

relacionados al propio método, demostrando que el método tiene un rango de tolerancia aceptable frente a estas variaciones de temperatura, como se demostró en la evaluación del parámetro robustez, al introducir la variación de temperaturas en los rangos analizados.

5. En la evaluación del parámetro precisión, se tomó en cuenta los diferentes factores a los cuales puede ser influenciada la obtención de resultados confiables en el análisis (reproducibilidad del método) y se obtuvo una variación mínima entre los análisis realizados entre diferentes analistas y diferentes días.

6. En las prácticas del laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador los resultados obtenidos entre los alumnos en diferentes días de laboratorio no deben variar significativamente puesto que el método es reproducible.

VII. RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

1. Emplear el método de cuantificación de sulfonamidas (método titrimétrico de diazoación) para la evaluación de productos tópicos que contengan sulfas en su composición, por demostrar ser un método preciso, exacto robusto y lineal en las condiciones de laboratorio de la facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
2. Seleccionar la muestra tópica que contenga las sulfonamidas más representativas para que la obtención de los resultados sea confiable en la de los parámetros de desempeño del método titrimétrico de diazoación.
3. Que la pasta de yoduro de almidón T.S. que actúa como indicador externo sea de preparación reciente, debido a que el yoduro es fácilmente oxidable obteniéndose resultados no confiables.
4. Se debe de tener controlada la temperatura ya que a temperaturas mayores de 15°C los resultados no son confiables lo cual se determinó por medio de la Robustez a un rango de temperatura que va de los 10°C a los 15°C en los cuales se obtienen resultados confiables.
5. Se debe esperar, a que la muestra esté en el rango de temperatura determinada (10-15°C) para evitar que el ácido nitroso que es el

responsable del viraje de color por la oxidación del yoduro a yodo se separe de la muestra.

6. Que en la evaluación de los parámetros de desempeño de un método analítico se realice analizando muestras homogéneas y representativas del producto y esta misma muestra utilice durante toda la evaluación del método.
7. Que en la evaluación de los parámetros de desempeño de un método analítico es necesario contar con equipo e instrumentos calibrados, así como también contar con reactivos de calidad Farmacopeíca para asegurar la confiabilidad de los resultados.(ver Anexo N° 11)
8. Almacenar las muestras destinadas para la evaluación de los parámetros de desempeño del método bajo condiciones que aseguren su identidad e integridad.
9. Realizar la evaluación de los parámetros de desempeño de un método analítico se utilicen muestras procedentes de un mismo lote para evitar variación en los resultados.

10. Registrar todos los acontecimientos ocurridos durante la realización de las pruebas y almacenar toda la información generada durante el estudio de los parámetros de desempeño del método.

11. Que los análisis sean sustentados por un protocolo debidamente elaborado para seguir las actividades relacionadas con la validación del método analítico.

X. BIBLIOGRAFÍA

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Abrego E. y otros, Cuantificación de sulfonamidas en Productos Farmacéuticos tópicos por el método titrimétrico de diazoación, Trabajo de Graduación Lic. Qca. Farm., El Salvador, Universidad de El Salvador, 87p.
2. Barrientos A.M. y otros, 2000, Validación del Método de análisis por HPLC, para cremas de hidrocortisona distribuidas en el país, Trabajo de Graduación Lic. Qca. Farm., Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer,
3. C.N.Q.F.B (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos) México 2002, Guía de Validación de Métodos Analíticos, 2 ed, México,121p.
4. Benéitez E, 1996 Good Manufacturing Practices, La Gestión Técnica en la Fabricación de Medicamentos. Centro de Estudios Superiores de la Industria Farmacéutica, Madrid,E. 729p.
5. Convención Farmacopeica de los Estados Unidos, Farmacopea de los Estados Unidos de América / Formulario Nacional, compendios de Normas Oficiales. Farmacopea de los Estados Unidos de América vigésima novena Edición, Formulario Nacional vigésima cuarta edición Twinbrook 12601 Park Way, Rock Ville, MD 20852 , Estados Unidos de América.2005.
6. EURACHEM,LGC (Teddingten) LTD,1998, La Idoneidad de Los Métodos Analíticos, Edición en Inglés 1.0,Si; Trad. OPS/OMS.

7. OPS/OMS (Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud), ISO / IEC 17025 1999,2000, Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración, 1ªed ,Trad. OPS/OMS,31p.
8. Colegio de Químicos y Farmacéuticos de El Salvador y TERRA FARMA, S.A de C.V. Diplomado de Buenas Practicas de Laboratorio (I,2006,San Salvador, ES) 2006, Validación de Métodos Analíticos, San Salvador , E.S.
9. Colegio de Químicos Farmacéuticos de El Salvador, Seminario-Taller(1,2002, San Salvador, E.S.)2002. Validación de Métodos Analíticos en la Industria Farmacéutica, San Salvador, El Salvador. V1,Ed Ramirez. M.
10. The United States Pharmacopeial Convention,Inc. The Pharmacopeia of the United States of America, Fifteenth Edition, USP XV. Washington, D.C, United States. 1955.
11. The United States Pharmacopeial Convention,Inc. The Pharmacopeia of the United States of America, Sixteenth Edition, USP XVI Washington, D.C, United States. 1960.
12. The United States Pharmacopeial Convention,Inc. The Pharmacopeia of the United States of America, Eighteenth Edition, USP XVIII . Washington, D.C, United States. 1970.

GLOSARIO ⁽¹⁾ ⁽³⁾ ⁽⁵⁾ ⁽⁸⁾ ⁽¹¹⁾

- Analito:** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.
- Calibración:** Conjunto de operaciones que determinan , bajo condiciones especificadas , 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.
- Documentación:** conjunto de información que sustenta una actividad realizada
- Especificaciones:** Descripción del material, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.
- Especificidad:** Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.
- Exactitud:** Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia
- Intervalo:** Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo estas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.
- Límite de cuantificación:** Concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.

Límite de detección: Concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

Material de Referencia: Material o sustancia de cuyas propiedades son lo suficientemente bien establecidas como para usarlo en la calibración de un aparato, en la evaluación de un método de medición o en la asignación de valores o materiales.

Método analítico no oficial: Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.

Método analítico oficial: Método que aparece en la literatura oficial reconocida.

Método analítico: Descripción de la secuencia de las actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

Muestra adicionada: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.

Parámetros de desempeño: Parámetro específico: a estudiar en un protocolo de validación.

Precisión: Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.

Protocolo de validación:

Descripción de las pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.

Repetibilidad:

Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.

Robustez:

Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.

Sustancia de referencia:

Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

Validación:

Es la confirmación es la confirmación por análisis y la provisión de evidencias objetivas de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico propuesto.

ANEXOS

ANEXO 1

Cuadro N° 10
 Datos Requeridos Para La Validación De Los Análisis

(5)

Característica de Desempeño Analítico	Categoría I de Valoraciones	Categoría II de Validación		Categoría III de Validación	Categoría IV de Validación
		Prueba de Limite Cuantitativa	Prueba de Limite Cualitativa		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Limite de Detección	NO	NO	SI	*	NO
Limite de Cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

ANEXO 2

**COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACUERDO A LO QUE ROTULA LA
MUESTRA DEL PRODUCTO FARMACÉUTICO TÓPICO ELEGIDO.**

MUESTRA A

Cada 100 g de crema contiene:

N-Benzoilsulfanilamida.....	3.700 g
N-Acetilsulfanilamida.....	2.900 g
Sulfadiazina.....	3.500 g
Urea.....	1.000 g
Base hidrosoluble especial, c.s.p...	100.000g

ANEXO 3

LISTADO DE MATERIAL Y EQUIPO PARA REALIZAR EL ENSAYO DE VALORACIÓN POR DIAZOACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE NITRITO DE SODIO.

Cristalería:

- Agitador magnético
- Agitadores de vidrio
- Balón volumétrico de 1000.0 mL
- Beakers de 250 mL
- Beakers de 30 mL
- Beakers de 50 mL
- Bureta de 25 mL
- Probeta de 25 mL
- Probeta de 50 mL

Equipo

- Desecador
- Baño de hielo
- Balanza analítica
- Balanza semianalítica
- Estufa
- Hot Plate

ANEXO 4

LISTADO DE REACTIVOS PARA EL ENSAYO DE VALORACIÓN POR DIAZOACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL NITRITO DE SODIO.

- Ácido clorhídrico 37% p/p ACS grado reactivo
- Agua destilada
- Almidón ACS grado reactivo
- Nitrito de sodio sólido ACS grado reactivo
- N-benzoil sulfonamida ACS grado reactivo
- N-acetil sulfonamida ACS grado reactivo
- Sulfonamida ACS grado reactivo
- Urea ACS grado reactivo
- Sulfanilamida estándar de trabajo pureza 100%
- Yoduro de potasio sólido ACS grado reactivo

ANEXO 5

ENSAYO DE SULFONAMIDAS (USP XVI)₍₁₀₎

TRADUCCIÓN.

Pesar cuidadosamente cerca de 500 mg de sulfonamida y transferirla a un beaker. Añada 20 mL de ácido clorhídrico y 50 mL de agua, agitar hasta disolver, enfriar a 15°C y añada cerca de 25 g de hielo triturado y titular lentamente con nitrito de sodio 0.1 M, agitando vigorosamente utilizar como indicador externo la pasta de yoduro de almidón T.S para determinar el punto final el cual se evidencia con un color azul cuando se raya la superficie de una pasta de Yoduro de almidón T.S

Cuando la titulación está completa el punto final es reproducible después que la mezcla se ha mantenido en reposo por 1 minuto.

El peso, en miligramos, de la sulfonamida por cada mL de nitrito de sodio 0.1M es equivalente como indica en la monografía individual.₍₁₀₎

Técnica del ensayo de sulfonamidas. (Ver diseño metodológico)

ANEXO 6

PREPARACIÓN DE NITRITO DE SODIO 0.1M VS (USPXVI)₍₁₀₎

TRADUCCIÓN.

Disolver 7.5 g de nitrito de sodio en agua para hacer 1000.0 ml y estandarizar la solución como sigue:

Pesar cuidadosamente cerca de 500 mg de USP Sulfanilamida RS. Previamente secado a 105° por 3 horas, transferir cuidadosamente a un Beaker. Añada 50 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico, agitar hasta disolver y enfriar a 15°C, y añadir cerca de 25 g de hielo triturado, y luego titular lentamente con nitrito de sodio, Agitar vigorosamente hasta que se produce un color azul inmediatamente cuando una agitador de vidrio es sumergida en la solución titulante y luego se raya la superficie de una pasta de yoduro de almidón T.S.

Cuando la titulación está completa, el punto final es reproducible después de que la mezcla reposa por un minuto.

Calcular la molaridad. Cada 17.22 mg de sulfanilamida es equivalente a 1ml de nitrito de sodio 0.1M.₍₁₀₎

TECNICA

1. Pesar en un beaker 7.5 g de NaNO_2 en Balanza Analítica.
2. Disolver en parte del agua los 7.5 g de NaNO_2 y transferir a un balón volumétrico de 1000.0 ml aforar y homogenizar.
3. Pesar en balanza analítica cuidadosamente 500 mg de sulfanilamida previamente secada a 105°C por 3 horas y transferir adecuadamente a un beaker de 250 mL y añadir 50mL de agua y 5 mL de ácido clorhídrico, (en cámara de extracción), agitando hasta disolver.

4. Enfriar a 15°C, añadiendo cerca de 25 g de hielo triturado a la mezcla del numeral anterior.
5. Titular lentamente con nitrito de sodio 0.1M.
6. Continuar la agitación hasta que se produzca inmediatamente un color azul cuando un agitador de vidrio es sumergido en la solución que se titula y posteriormente se sumerge en una pasta de yoduro de almidón T.S.
7. Calcular la molaridad de la solución titulante.⁽¹⁾

CÁLCULOS:

$$\text{Molaridad del NaNO}_2 = \frac{\text{Peso estándar primario}}{V \times \text{meq. de estándar primario.}}$$

(1)

V = Volumen gastado en mL de NaNO₂

meq = miliequivalentes del estándar primario.

$$\text{FC} = \frac{\text{M real}}{\text{M teórica}} \quad (1)$$

FC = factor de corrección de la solución titulante

M real = molaridad real

M teórica = molaridad teórica

Cálculo de molaridad del nitrito de sodio 0.1 M empleado en el ensayo

$$\text{Molaridad del NaNO}_2 = \frac{\text{Peso estándar primario}}{V \times \text{meq. del estándar primario.}}$$

$$M_1 \text{ del NaNO}_2 = \frac{200\text{mg}}{11.1 \text{ ml} \times 172.2 \text{ meq}}$$

$$M_1 \text{ del NaNO}_2 = 0.104634$$

$$M_2 \text{ del NaNO}_2 = \frac{200\text{mg}}{11.2 \text{ ml} \times 172.2 \text{ meq}}$$

$$M_2 \text{ del NaNO}_2 = 0.103700$$

$$\bar{X} M \text{ del NaNO}_2 = \frac{M_1 \text{ del NaNO}_2 + M_2 \text{ del NaNO}_2}{2}$$

$$\bar{X} M \text{ del NaNO}_2 = \frac{0.104634 + 0.103700}{2}$$

$$\bar{X} M \text{ del NaNO}_2 = 0.104167$$

$$\text{FC NaNO}_2 = \frac{0.104167 \text{ (M real)}}{0.1 \text{ (M teórica)}}$$

$$\text{FC NaNO}_2 = 1.04167$$

ANEXO 7

PREPARACIÓN DE PASTA DE YODURO DE ALMIDÓN T.S (USP XVI)

TRADUCCIÓN. ⁽¹⁾

Calentar a ebullición 100 mL de agua en un beaker de 250 mL, añada una solución de 0.75 g yoduro de potasio en 5 mL de agua y luego 2 g de cloruro de zinc disuelto en 10ml de agua, Adicionar, una suspensión de 5 g de almidón soluble en 30 mLde agua fría. Dejar hervir la mezcla por 2 minutos y luego enfriar. Guardar en un contenedor bien cerrado y en un lugar fresco ⁽⁷⁾

TECNICA

1. Poner a ebullición 100 mL de agua en un beaker de 250 mL usando un Hot Plate.
2. Preparar las soluciones de 0.75 g de Ioduro de potasio en 5 mL de agua.
3. Agregar las soluciones preparadas en el numeral anterior al agua en ebullición y dejar que la mezcla formada ebulle por un momento.
4. Preparar la suspensión de 5 g de almidón soluble en 30 mL de agua fría.
5. Añadir la suspensión de almidón a la mezcla del numeral 3 y dejar que continúe ebullición por 2 minutos.
6. Enfriar la pasta de Yoduro-Almidón y luego guardarla en un contenedor bien cerrado y en lugar fresco. ⁽¹⁾

ANEXO 8

TABLA ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT. (3)

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

ANEXO 9

**LABORATORIOS FARMACÉUTICOS EXISTENTES EN ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

1. MORAZAN
2. INDUSTRIAS QUIMICAS DE CENTRO AMERICA, S.A DE C.V
3. ARSAL(*)
4. LAFAR
5. C.V
6. COSMOS
7. RADON
8. BAYER
9. LANKINSACA
10. PHARMEDIC
11. ANCALMO
12. COFASA
13. COMBISA
14. VIJOSA
15. QUIFAR
16. LAINEZ
17. PHARMASIL
18. FALMAR
19. BIOGALENIC S.A DE C.V
20. REAL
21. CAROSA

22. QUIMICA INDUSTRIAL CENTROAMERICANA S.A DE C.V

23. TERAMED

24. MEDIKEN

25. GAMMA

26. LOPEZ

27. WOHLER

28. SUIZPHARM

29. SUIZOS(*)

30. GENERIX(*)

31. FARDEL

32. S&M

33. IFASAL

34. BILLCA

35. VIDES

36. TECNOFARMA S.A DE C.V

37. SOPERQUIMIA S.A DE C.V(*)

38. INFARMA

39. TECNOQUIMICA

40. DB S.A DE C.V(*)

41. PHARMA

42. PAZEPHARM

43. DINAMICA

44. PROPHARM

45. MARCELI

46. LAFCO
47. CAPITOL
48. QUIMICAS ALIADAS
49. QUIMICAS LEGRAN
50. HUBE
51. MEDILAB
52. MARCOPHARMA S.A DE C.V
53. PAILL
54. MEDITECH LAB DE C.A(*)
55. INTERMEDICAL FARMACORP
56. RODIM S.A DE C.V (*)
57. GAMEZ
58. D&D
59. ENMILEN S.A DE C.V
60. LAMYL

(*) Laboratorios que producen productos tópicos que contienen sulfonamidas.

ANEXO 10

(1225) VALIDACIÓN DE MÉTODOS FARMACOPEICOS

Los procedimientos para la evaluación de los niveles de calidad de los productos farmacéuticos están sujetos a diversos requisitos. Según el Artículo 501 de la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, los análisis y especificaciones de las monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos y el Formulario Nacional constituyen normas legales. Los reglamentos sobre Principios de Buenas Prácticas de Fabricación Vigentes [21 CFR 211.194(a)] requieren que los métodos de prueba, que se utilizan para evaluar el cumplimiento de los productos farmacéuticos con las especificaciones establecidas, cumplan normas adecuadas de exactitud y confiabilidad. Sin embargo, según esta normativa [21 CFR 211.194(a)(2)] no se exige que los usuarios de los métodos analíticos descritos en la USP y en el NF validen la exactitud y confiabilidad de estos métodos, sino que solamente comprueben su aptitud bajo las condiciones concretas de uso. Al reconocer el carácter legal de las normas USP y NF, es esencial que las propuestas para adoptar los métodos analíticos farmacopeicos nuevos o solicitar la revisión de los ya existentes, estén respaldadas por suficientes datos de laboratorio que documenten su validez.

El texto de este capítulo informativo ha sido armonizado, en la medida de lo posible, con los documentos *Validación de Procedimientos Analíticos* y el texto suplementario *Metodología*, ambos de la *Conferencia Internacional Tripartita sobre Armonización (ICH)*, que tratan sobre procedimientos analíticos incluidos como parte de las solicitudes de registro presentadas en la UE, Japón y EE.UU. Algunos aspectos (disolución, liberación del fármaco), que forma parte de este capítulo, se tratan solo brevemente en los documentos de ICH y deberán tratarse en el futuro. Una completa armonización no ha sido posible, en parte debido a las distintas utilidades de terminología. Por ejemplo, la utilización de "procedimiento" por parte de la ICH presenta dificultades, puesto que este término tiene una utilización específica y diferente en *USP-NF*.

PRESENTACIÓN A LOS COMPENDIOS

- Las presentaciones de métodos analíticos, nuevos o revisados, a los compendios de la USP deben contener información suficiente como para permitir que los miembros del Comité de Revisión de la USP evalúen los méritos relativos de los procedimientos propuestos. En la mayor parte de los casos, se evalúa si la descripción del método analítico es entendible y completa; se determina la necesidad de los métodos y se evalúa la documentación que sustenta que los métodos han sido validados adecuadamente. La información puede variar dependiendo del tipo de método del que se trate sin embargo en la mayor parte de los casos, la documentación presentada constará de las siguientes secciones.

Justificación Esta sección debe identificar la necesidad del método y describir la capacidad del método específico propuesto y por que se lo prefiere sobre otros tipos de determinaciones. Para procedimientos revisados, debe proporcionarse una comparación de las limitaciones del método farmacopeico actual y las ventajas ofrecidas por el método propuesto.

Procedimiento Analítico Propuesto Esta sección debe incluir una descripción completa del método analítico. Lo suficientemente detallada como para permitir que expertos en la técnica puedan repetirlo. La reseña debe incluir todos los parámetros operativos importantes e instrucciones específicas, tales como la preparación de reactivos, realización de pruebas de aptitud del sistema, descripción de blancos utilizados, precauciones y formulas explícitas para el cálculo de los resultados de las pruebas.

Datos—Esta sección debe proporcionar una documentación minuciosa y completa de la validación del método analítico. Debe incluir resúmenes de los datos y cálculos experimentales que fundamenten cada una de las características de desempeño o rendimiento analítico aplicables. Estas características se describen en la sección que se indica a continuación.

VALIDACIÓN

La validación de un método analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. Las características de desempeño analítico habituales que deben considerarse en la validación de los tipos de métodos descritos en este documento se indican en la *Tabla 1*. Dado que las opiniones pueden diferir respecto a la terminología y al uso, cada una de las características de desempeño se define en la sección siguiente de este capítulo, junto con un esbozo de un método o métodos típicos mediante los cuales puede medirse.

Tabla 1. Características Analíticas Típicas Utilizadas para la Validación de Métodos

Exactitud
Precisión
Especificidad
Límite de Detección
Límite de Cuantificación
Linealidad
Intervalo

En el caso de métodos farmacopeicos, puede resultar necesaria una nueva validación en las siguientes circunstancias: presentación a la USP de un método analítico revisado o utilización de un método general establecido con un nuevo producto o materia prima (ver más adelante en *Datos Necesarios para Validación de Análisis*).

Los documentos de ICH aconsejan sobre la necesidad de realizar una nueva validación en las siguientes circunstancias: cambios en la síntesis del fármaco, cambios en la composición del producto farmacéutico y cambios en el procedimiento analítico.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO

Exactitud

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

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

En la valoración de un fármaco en un producto formulado, la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del método analítico a mezclas sintéticas de los componentes del producto farmacéutico al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del método. Si no resulta posible obtener muestras de todos los componentes del producto farmacéutico, se puede aceptar tanto el agregado de cantidades conocidas del analito a producto farmacéutico ("spike") como la comparación de los resultados con los de un segundo método bien caracterizado, cuya exactitud haya sido comprobada o definida.

En el análisis cuantitativo de impurezas, la exactitud debe evaluarse en muestras (del fármaco o del producto farmacéutico) las que se hayan agregado cantidades conocidas de impurezas.

Cuando no sea posible obtener muestras de algunas impurezas productos de degradación, los resultados deben compararse con los obtenidos mediante un método independiente. En ausencia de otra información, puede resultar necesario calcular la cantidad de una impureza basándose en la comparación de su respuesta con la del fármaco; pero el cociente entre las respuestas de cantidades iguales de la impureza y del fármaco (factor de respuesta) debe ser utilizado siempre que se lo conozca.

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

Los documentos ICH recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones. Repetidas de cada concentración)

Precisión

Definición— La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el método repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un método analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del método analítico en condiciones normales de operación. En este contexto, la reproducibilidad se refiere al uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios, como por ejemplo en un estudio en colaboración. Una precisión intermedia 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. En la mayoría de los casos, la repetibilidad es el criterio de mayor interés en los procedimientos analíticos de la USP, aunque la reproducibilidad entre laboratorios o la precisión intermedia puede considerarse durante la normalización de un procedimiento antes de presentarlo a la Farmacopea.

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

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

Especificidad

Definición— Los documentos de ICH definen especificidad como la capacidad de evaluar de manera inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible, como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz. La falta de especificidad de un procedimiento analítico individual puede compensarse usando otros procedimientos analíticos complementarios. [NOTA— Otras autoridades internacionales de reconocido prestigio (IUPAC, AOAC) han preferido el término "selectividad," reservando "especificidad" para procedimientos que resulten completamente selectivos.] Para los métodos de prueba o valoración que se indican a continuación, la definición anterior tiene las siguientes consecuencias:

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN— garantizan la identidad del analito.

PRUEBAS DE PUREZA— garantizan que todos los procedimientos analíticos efectuados permiten declarar con exactitud el contenido de impurezas de un analito (por ejemplo, prueba de sustancias relacionadas, límite de metales pesados, límite de impurezas volátiles orgánicas).

VALORACIONES— proporcionan un resultado exacto, que permita una declaración exacta del contenido o potencia del analito en una muestra.

Determinación— En análisis cualitativos (pruebas de identificación), debe demostrarse la capacidad de distinguir compuestos de estructura estrechamente relacionada cuya presencia resulta probable. Esta capacidad debería confirmarse mediante la obtención de resultados positivos a partir de muestras que contengan el analito mediante comparación con un material de referencia

conocido), junto con resultados negativos de muestras que no contengan dicho analito, y mediante la confirmación de que no se obtiene una respuesta positiva de materiales con estructura similar o estrechamente relacionada a la del analito.

En un procedimiento analítico para impurezas, la especificidad puede establecerse mediante la, adición al fármaco o producto farmacéutico de una cantidad conocida de impurezas en concentraciones adecuadas, y la demostración de que esas impurezas se determinan con exactitud y precisión adecuadas. En una valoración, la demostración de especificidad requiere evidencia de que el procedimiento no resulta afectado por la presencia de impurezas o excipientes. En la práctica, esto puede hacerse agregando al fármaco o producto farmacéutico una cantidad conocida de excipientes o de impurezas en concentraciones adecuadas, y demostrando que el resultado del análisis no resulta afectado por la presencia de estos materiales extraños.

Si no se dispone de estándares de impureza o de los productos de degradación, puede demostrarse la especificidad comparando los resultados de las pruebas de muestras que contengan impurezas o productos de degradación con los de un segundo procedimiento bien caracterizado (por ejemplo, un procedimiento farmacopeico u otro procedimiento validado). Estas comparaciones deberían incluir muestras sometidas a condiciones forzadas relevantes (por ejemplo, luz, calor, humedad, hidrólisis ácida y alcalina, oxidación); En una valoración, deben compararse los resultados; en pruebas de impureza cromatográfico, deben compararse los perfiles de impurezas.

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

Límite de Detección

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

Determinación— Para métodos no instrumentales, el límite de detección se determina generalmente mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito, estableciendo el nivel mínimo del analito que puede detectarse confiablemente. Para procedimientos instrumentales, se puede utilizar el mismo método que para los no instrumentales. En el caso de métodos presentados como candidatos a métodos farmacopeicos oficiales, casi nunca es necesario determinar el límite de detección real. Por el contrario, debe demostrarse que el límite de detección es lo suficientemente bajo para el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito superiores o inferiores al nivel de detección requerido. Por ejemplo, si se requiere detectar una impureza con una concentración del 0,1%, debería demostrarse que el procedimiento detectara de modo confiable la impureza a esa concentración.

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

Límite de Cuantificación—

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

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

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

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

Linealidad e Intervalo—

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

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

Determinación de Linealidad e Intervalo—La linealidad debe establecerse en el intervalo completo del procedimiento analítico. Debería establecerse inicialmente mediante examen visual de un gráfico de señales como función de concentración de analito del contenido. Si parece existir una relación lineal, los resultados de la prueba deberían establecerse mediante métodos estadísticos adecuados (por ejemplo, mediante el cálculo de una línea de regresión por el método de los cuadrados mínimos). En algunos casos, para obtener la linealidad entre la respuesta de un analito y su concentración, puede que haya que someter los datos de la prueba a una transformación matemática. Los datos obtenidos a partir de la línea de regresión pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. Se deberían presentar el coeficiente de correlación, la intersección con el eje de ordenadas, la pendiente de la línea de regresión y la suma de los cuadrados residuales.

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

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

VALORACIÓN DE UN FÁRMACO (o de un producto terminado): de 80% a 120% de la concentración de prueba.

DETERMINACIÓN DE UNA IMPUREZA: de 50% a 120% de la especificación

PARA UNIFORMIDAD DEL CONTENIDO: un mínimo de 70% a 130% de la concentración de prueba, a no ser que se justifique un intervalo más amplio o más apropiado, basándose en la naturaleza de la forma farmacéutica (por ejemplo, inhaladores de dosis fija).

PARA PRUEBAS DE DISOLUCIÓN: $\pm 20\%$ por encima del intervalo especificado (por ejemplo, si las especificaciones de un producto de liberación controlada cubren una región que varía de 20% después de 1 hora a 90% después de 24 horas, el intervalo validado sería de 0% a 110% del valor especificado en la etiqueta).

Tolerancia, también conocida como Fortaleza o Resistencia (Ruggedness)

Definición—La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados de las pruebas obtenidos mediante el análisis de las mismas muestras en diversas condiciones, como por ejemplo en diferentes laboratorios, con diferentes analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempo transcurrido durante la valoración temperaturas de valoración o días. La tolerancia se expresa normalmente como la carencia de influencia de las variables operativas y ambientales del método analítico sobre los resultados de las pruebas. La tolerancia es una medida de la reproducibilidad de los resultados de las pruebas sometidas a la variación de condiciones que se esperarían normalmente entre distintos laboratorios o distintos analistas.

Determinación—La tolerancia de un método analítico se determina mediante el análisis de alícuotas de lotes homogéneos en diferentes laboratorios, por diferentes analistas, utilizando condiciones operativas y ambientales que pueden ser diferentes pero que continúan encontrándose dentro de los parámetros especificados del análisis. El grado de reproducibilidad de los resultados de la prueba se determina entonces como una función de las variables del análisis. Esta reproducibilidad se puede comparar a la precisión de la valoración en condiciones normales para obtener una medida de la resistencia del método analítico.

Robustez—

Definición—La robustez de un método analítico es una medida de su capacidad para no resultar afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Aptitud del Sistema—Si las mediciones son susceptibles a variaciones en condiciones analíticas, estas deben controlarse adecuadamente o incluirse en el método una declaración preventiva. Una consecuencia de la evaluación de la tolerancia y la robustez sería el establecimiento de una serie de parámetros de aptitud del sistema que garantizan que se mantenga la validez del método analítico siempre que se utilice. Las variaciones típicas son la estabilidad de las soluciones y equipo analítico, y de los analistas. En la cromatografía líquida, las variaciones habituales son el pH de la fase móvil, la composición de la fase móvil, diferentes lotes o proveedores de columnas, la temperatura y la velocidad de flujo. En el caso cromatografía de gases, son variaciones típicas diferentes lotes o proveedores de columnas, la temperatura y la velocidad de flujo.

Las pruebas de aptitud del sistema se basan en el concepto de que el equipo, el sistema electrónico, las operaciones analíticas y las muestras a analizar constituyen un sistema integral que puede evaluarse como tal. Los parámetros de prueba de la aptitud del sistema que deben establecerse para un método específico dependen del tipo de método que se está evaluando. Son especialmente importantes en el caso de métodos cromatográficos y las presentaciones a la USP deberían tener en cuenta los requisitos indicados en la sección *Aptitud del Sistema* en el capítulo de pruebas generales cromatografía (621).

DATOS REQUERIDOS PARA LA VALIDACIÓN DE UNA DETERMINACIÓN

Los procedimientos de las determinaciones farmacopeicas varían desde valoraciones analíticas muy rigurosas hasta evaluaciones de atributos subjetivos. Considerando esta amplia variedad de determinaciones, es lógico que diferentes métodos de prueba requieran diferentes esquemas de validación. Este capítulo cubre solo las categorías más habituales para las que se exigen datos de validación. Estas categorías se indican a continuación.

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

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

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

Categoría IV: Pruebas de identificación.

Para cada categoría de análisis, se requiere diferente información analítica. En la *Tabla 2* se indican los elementos de datos que normalmente se requieren para cada una de las categorías de análisis.

Los métodos generales de prueba y valoración ya establecidos (por ejemplo, método volumétrico de determinación de agua, prueba de endotoxinas bacterianas) deben revalidarse para comprobar su exactitud (y la ausencia de posibles interferencias) cuando se utilizan para un producto nuevo o materia prima nueva. La validez de un método analítico puede verificarse solo mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto, la documentación de la finalización con éxito de dichos estudios constituye un requisito básico para determinar si un método es adecuado para sus aplicaciones previstas. Cualquier propuesta de procedimientos farmacopeicos analíticos nuevos o revisados debe ir acompañada de la documentación adecuada.

Tabla 2 Datos Requeridos Para La Validación De Los Análisis

Característica de Desempeño Analítico	Categoría I de Valoraciones	Categoría II de Validación		Categoría III de Validación	Categoría IV de Validación
		Prueba de Límite Cuantitativa	Prueba de Límite Cualitativa		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de Detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de Cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

Pueden requerirse, dependiendo de la prueba específica.

ANEXO 11

CERTIFICADOS DE CALIBRACIÓN

Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
CB-049/06

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Balanza Mecánica.

Marca: SARTORIUS

Tipo: ---

Número de Serie: 40010112

Número de Inventario: 12050-3104-106-005

Número de Identificación: 2

Fecha de la medición: 06/07/18

Está constituido de: 4 páginas.

Destinatario: Laboratorio de Control de Calidad, Facultad de
Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador,
C. A.

Solicitado por: Licda. Zenia Ivonne de Márquez

Fecha: 06/07/18




Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

1/4

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal, CERTIFICA: que a solicitud del Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, se calibró la siguiente balanza:

Marca: SARTORIUS
 Tipo: _____
 N° de identificación: 12050-3104-106-005
 Máxima capacidad: 160 g
 Mínima división: 0,0001 g
 Rango de Calibración: 10 a 155 g

La balanza fue calibrada en su lugar de trabajo y procediendo con base en la recomendación internacional R 76-1 de la Organización Internacional de Metrología Legal OIML, donde se obtuvieron los resultados siguientes:

Prueba de Repetibilidad: Consiste en determinar la incertidumbre de la balanza.

PRUEBA DE REPETIBILIDAD			
Im	80.0000	Im	155.0000
Imax.	80.0000	Imax.	155.0000
Imin.	80.0000	Imin.	155.0000
sen ₁	0.0010	sen ₁	0.0100
sen ₂	0.0010	sen ₂	0.0100
s _L	0.0000	s _L	0.0000
UI	0.0000	UI	0.0000
Ub	0.0000	Ub	0.0000



Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

Prueba de Linealidad o Exactitud: Consiste en determinar los errores de la balanza en todo su rango de trabajo:

CARGA NOMINAL (g)	CORRECCIÓN (g)	INCERTIDUMBRE (± g) K=2
0.0000	0.0000	0.0000
10.0000	0.0000	0.0001
30.0000	0.0000	0.0001
50.0000	0.0000	0.0001
70.0000	0.0000	0.0001
90.0000	0.0001	0.0002
105.0000	-0.0002	0.0001
120.0000	0.0000	0.0001
130.0000	-0.0001	0.0002
150.0000	-0.0007	0.0002
155.0000	-0.0003	0.0002

La calibración fue realizada a una temperatura de $(28,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, a una humedad relativa promedio de 58%.

Los resultados fueron obtenidos utilizando el juego de patrones de masa F1, con número de inventario 32.001.

La cadena de trazabilidad está garantizada por los patrones de trabajo con certificado N° CM-033/06 de Abril/06 del LNML, trazados a los patrones de referencia con certificados: CNM-CC-730-036/2003 y CNM-CC-730-037/2003 del Centro Nacional de Metrología de México (CENAM).



Laboratorio Nacional de Metrología Legal *Certificado de Calibración*

Las incertidumbres combinadas fueron calculadas tomando en cuenta las contribuciones de los patrones del laboratorio y la de la resolución de la balanza.

Las incertidumbres expandidas están calculadas usando un factor de cobertura $k = 2$.

El presente certificado solo ampara a las mediciones reportadas en el momento y condiciones ambientales en las que se realizó la calibración.

San Salvador, 18 de Julio de 2006.



Ing. Carlos Roberto Marroquín Arévalo
Técnico



Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe



Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
CB-024/06

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Balanza Mecánica

Marca: SARTORIUS

Tipo: —

Número de Serie: S/N°

Número de Inventario: 12050-3104-106-005

Número de Identificación: 2

Fecha de la medición: 06/05/29

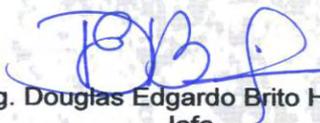
Está constituido de: 4 páginas.

Destinatario: Laboratorio de Control de Calidad, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, C. A.

Solicitado por: Licda. Zenia Ivonne de Márquez

Fecha: 06/05/29




Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

1/4



Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal, CERTIFICA: que a solicitud del Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, se calibró la siguiente balanza:

Marca: SARTORIUS
 Tipo: ---
 N° de identificación: 12050-3104-106-005
 Máxima capacidad: 160 g
 Mínima división: 0,0001 g
 Rango de Calibración: 0 a 5 g

La balanza fue calibrada en su lugar de trabajo y procediendo con base en la recomendación internacional R 76-1 de la Organización Internacional de Metrología Legal OIML, donde se obtuvieron los resultados siguientes:

Prueba de Repetibilidad: Consiste en determinar la incertidumbre de la balanza.

PRUEBA DE REPETIBILIDAD			
Im	2.4978	Im	5.0000
Imax.	2.4980	Imax.	5.0000
Imin.	2.4975	Imin.	5.0000
sen ₁	1.0000	sen ₁	1.0000
sen ₂	1.0000	sen ₂	1.0000
s _L	0.0002	s _L	0.0000
U _I	0.0001	U _I	0.0000
U _b	0.0001	U _b	0.0000



Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Prueba de Linealidad o Exactitud: Consiste en determinar los errores de la balanza en todo su rango de trabajo:

CARGA NOMINAL (g)	CORRECCIÓN (g)	INCERTIDUMBRE (± g) K=2
0.0000	0.0000	0.0000
0.5000	0.0020	0.0001
1.0000	-0.0006	0.0001
1.5000	0.0015	0.0001
2.0000	0.0000	0.0001
2.5000	0.0018	0.0001
3.0000	0.0000	0.0001
3.5000	0.0016	0.0001
4.0000	0.0000	0.0001
4.5000	0.0019	0.0001
5.0000	0.0000	0.0001



La calibración fue realizada a una temperatura de $(30,0 \pm 0,5)$ °C, a una humedad relativa promedio de 59%.

Los resultados fueron obtenidos utilizando el juego de patrones de masa F1, con número de inventario 32.001.

La cadena de trazabilidad está garantizada por los patrones de trabajo con certificado N° CM-033/06 de Abril/06 del LNML, trazados a los patrones de referencia con certificados: CNM-CC-730-036/2003 y CNM-CC-730-037/2003 del Centro Nacional de Metrología de México (CENAM).

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

Las incertidumbres combinadas fueron calculadas tomando en cuenta las contribuciones de los patrones del laboratorio y la de la resolución de la balanza. Las incertidumbres expandidas están calculadas usando un factor de cobertura $k = 2$.

El presente certificado solo ampara a las mediciones reportadas en el momento y condiciones ambientales en las que se realizó la calibración.

San Salvador, 29 de Mayo de 2006.



Ing. Jorge A. Medrano
Técnico



Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe



Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
CV-015/06

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Bureta volumétrica de 50 mL de capacidad.

Marca: PYREX

Clase: A

Tipo de Calibración: Para entregar

Número de serie: 2122

Número de inventario: —

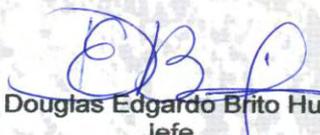
Fecha de la medición: 06/06/13

Está constituido de: 2 páginas.

Destinatario: Laboratorio de Control de Calidad, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador, C. A.

Solicitado por: Licda. Zenia Ivonne de Márquez

Fecha: 06/06/13


Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud del Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la **Universidad de El Salvador**, se calibró una Bureta de vidrio de 50 mL de capacidad nominal.

Dicha bureta fue calibrada en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Metrología Legal.

El procedimiento utilizado fue el gravímetro y consintió en determinar la masa de agua de la bureta a la marca de aforo; para lo cual se lavó con agua destilada y se secó completamente la bureta; luego, se aforó con agua destilada, se descargó en un beaker y se pesó utilizando la balanza PM 1200, repitiendo este procedimiento cinco veces. Obteniéndose el resultado siguiente:

$V = (50,065 \pm 0,084)$ mL a la temperatura de 20 °C.

La trazabilidad está garantizada por los patrones de masa con número de certificado CM-033/06 de Abril/06 perteneciente al "Laboratorio Nacional de Metrología Legal" de El Salvador.

La incertidumbre expandida de la lectura del volumen está calculada con un nivel de confianza de aproximadamente el 95%, correspondiendo a un factor de cobertura de $k = 2$.

San Salvador, 13 Mayo de 2006.


Ing. Claudia Alejandrina Estrada
Técnico


Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

2/2

Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
CV-014/06

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Bureta volumétrica de 50 mL de capacidad.

Marca: PYREX

Clase: A

Tipo de Calibración: Para entregar

Número de serie: 2103

Número de inventario: ---

Fecha de la medición: 06/06/07

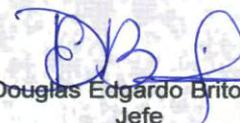
Está constituido de: 2 páginas.

Destinatario: Laboratorio de Control de Calidad, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador, C. A.

Solicitado por: Licda. Zenia Ivonne de Márquez

Fecha: 06/06/07




Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

1/2

Laboratorio Nacional de Metrología Legal *Certificado de Calibración*

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud del **Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador**, se calibró una Bureta de vidrio de 50 mL de capacidad nominal.

Dicha bureta fue calibrada en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Metrología Legal.

El procedimiento utilizado fue el gravímetro y consintió en determinar la masa de agua de la bureta a la marca de aforo; para lo cual se lavó con agua destilada y se secó completamente la bureta; luego, se aforó con agua destilada, se descargó en un beaker y se pesó utilizando la balanza PM 1200, repitiendo este procedimiento cinco veces.

$V = (50,048 \pm 0,060)$ mL a la temperatura de 20 °C.

La trazabilidad está garantizada por los patrones de masa con número de certificado CM-017/06 de Febrero/06 perteneciente al "Laboratorio Nacional de Metrología Legal" de El Salvador.

La incertidumbre expandida de la lectura del volumen está calculada con un nivel de confianza de aproximadamente el 95 %, correspondiendo a un factor de cobertura de $k = 2$.

San Salvador, 7 Mayo de 2006.


Ing. Claudia Alejandrina Estrada
Técnico


Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe



2/2

Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
TV-026/06

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Termómetro de líquido en vidrio a columna de Mercurio.

Marca: FISHERBRAND

Número de Serie: S/N°

Número de identificación: S/N°

Fecha de la medición: 06/06/06

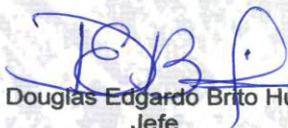
Está constituido de: 3 páginas.

Destinatario: Laboratorio de Control de Calidad, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, C. A.

Solicitado por: Licda. Zenia Ivonne de Márquez

Fecha: 06/06/06




Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

1/3

Laboratorio Nacional de Metrología Legal *Certificado de Calibración*

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud del **Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador**, se calibró el termómetro siguiente:

Marca: FISHERBRAND
 N° de identificación: ---
 N° de Serie: ---
 Rango Nominal: -20 °C a 110 °C
 Rango Calibrado: 10 °C a 15 °C
 División de escala: 1 °C

El termómetro fue comparado a inmersión parcial con el termómetro patrón de mercurio en vidrio con número ASTM 63C del LNML. Las condiciones de temperatura de prueba corresponden a las solicitadas por el cliente y fueron generadas usando un baño termostático de glicol.

Los resultados obtenidos fueron:



Lectura del Termómetro (°C)	Corrección (°C)
10,4	-0,4
12,4	-0,4
15,2	-0,1

La corrección debe sumarse a la lectura para obtener la temperatura corregida.

La escala de temperatura utilizada es la EIT 90.

La incertidumbre expandida de la lectura del termómetro es:

$\pm 0,3$ °C para el rango de 10 °C a 15°C.

Calculada con un nivel de confianza del 95%, tomando en cuenta la contribución de la cadena termométrica del laboratorio.



Laboratorio Nacional de Metrología Legal

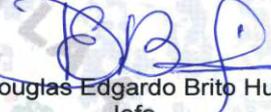
Certificado de Calibración

La cadena de trazabilidad está garantizada por los patrones de Transferencia con certificados, TV-016/06 de Abril/06, todos con referencia al patrón primario PT 100 con certificado N° CNM-CC-420-224/2005 del CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA (CENAM) de MEXICO.

El presente certificado solo ampara a las mediciones reportadas en el momento y condiciones en que se realizó la calibración.

San Salvador, 6 de Junio de 2006.


Ing. Jorge A Medrano
Técnico


Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

