



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE LA ROBUSTEZ DURANTE LA VALIDACIÓN DEL
MÉTODO DE DISOLUCIÓN AUTOMATIZADO Y SU COMPARACIÓN
CON LA METODOLOGÍA MANUAL EN TABLETAS CONTENIENDO
PARACETAMOL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ENRIQUE LEONARDO PÉREZ RESÉNDIZ

MÉXICO, D.F. AGOSTO 2014





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** **RICARDO RODRIGUEZ SAENZ**

VOCAL: **Profesor:** **JUAN MANUEL RODRIGUEZ**

SECRETARIO: **Profesor:** **MA. DE LOS DOLORES CAMPOS ECHEVERRIA**

1er. SUPLENTE: **Profesor:** **NATIVIDAD GARCIA ESCAMILLA**

2° SUPLENTE: **Profesor:** **CAROLINA FLORES AVILA**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 10, CUNJUNTO F, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA: **M. EN C. JUAN MANUEL RODRIGUEZ** _____

SUPERVISOR TÉCNICO: **Q.F.B. ERNESTO SALGADO OLVERA** _____

SUSTENTANTE: **ENRIQUE LEONARDO PÉREZ RESÉNDIZ** _____

Contenido.

| | |
|---|-----|
| Contenido..... | 3 |
| 1. Introducción ^{1, 2, 3, 4, 5 y 6} | 4 |
| 2. Objetivos..... | 6 |
| 3. Antecedentes..... | 7 |
| 3.1. Validación de métodos analíticos ^{1 y 7} | 7 |
| 3.2. Diseño de experimentos ^{4, 8, 9 y 10} | 13 |
| 3.3. Estudios de robustez..... | 17 |
| 3.4. Prueba de disolución..... | 26 |
| 3.5. Determinación espectrofotométrica de Paracetamol ^{23 y 24} | 29 |
| 3.6. Automatización de los métodos de disolución ^{27, 28 y 29} | 33 |
| 4. Desarrollo del estudio de robustez del método de disolución automatizado y manual.. | 36 |
| 4.1. Selección de los factores del método de disolución automatizado y manual..... | 36 |
| 4.2. Selección de los niveles de los factores del método de disolución automatizado y manual..... | 36 |
| 4.3. Selección del diseño experimental del método de disolución automatizado y manual..... | 37 |
| 4.4. Protocolo experimental del estudio de robustez del método de disolución automatizado y manual..... | 38 |
| 5. Resultados y análisis de resultados..... | 54 |
| 5.1. Resultados de adecuabilidad del sistema, curvas de calibración y coeficientes del programa de disolución automatizada..... | 54 |
| 5.2. Resultados el porcentaje disuelto de Paracetamol..... | 60 |
| 5.3. Cálculo de efectos e interpretación..... | 62 |
| 5.4. Cálculo del intervalo de los factores donde se elimina el efecto sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol..... | 68 |
| 5.5. Comparación de la metodología de disolución automatizada y manual..... | 69 |
| 6. Conclusiones..... | 72 |
| 7. Bibliografía..... | 74 |
| Anexo 1. Resultados analíticos..... | 77 |
| Anexo 2. Reporte de calibración disolutor..... | 125 |
| Anexo 3. Resultados del programa Statgraphics Centurion® de la prueba <i>t-student pareada</i> | 126 |

1. Introducción^{1, 2, 3, 4, 5 y 6}.

Los métodos analíticos que evalúan la calidad de los productos farmacéuticos se encuentran sujetos a la normatividad vigente, nacional o internacional, en las farmacopeas establecen los métodos de análisis y los requisitos sobre la identidad, pureza, potencia y otras características de calidad que garantizan que estos productos sean eficaces y seguros¹. La validación de los métodos analíticos es un requisito y una parte fundamental en el análisis de la calidad de un insumo o de una forma farmacéutica y es el medio por el cual se demuestra que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada, esta actividad se justifica por aspectos éticos, de aseguramiento de calidad, económicos y regulatorios². En la actualidad las autoridades regulatorias promueven y solicitan la aplicación de los principios de “Calidad por Diseño”, con la finalidad de facilitar un intercambio de información compleja que respalde un control en los métodos y uno de sus objetivos principales es la transferencia analítica³, ya que los productos farmacéuticos son distribuidos en todo el planeta y es necesario que al transferir un método no se presente ningún problema.

Originalmente los estudios de robustez fueron introducidos para evitar los problemas en estudios interlaboratorios y para identificar los factores que presentaban un efecto significativo en el resultado analítico⁴, lo cual condujo a que dicho estudio se introdujera dentro de la validación del método analítico, sin embargo hoy en día los estudios de robustez forman parte del desarrollo del método o de la validación del mismo, en las pruebas de precisión^{5,6}.

Los estudios de robustez se pueden aplicar a todo tipo de metodologías, una de ellas y de gran importancia es la disolución, la cual mide la liberación de un fármaco a partir de la forma de dosificación que lo contiene, esta puede ser afectada por una serie de parámetros de origen diverso, lo cual la convierte en una metodología propia para un estudio de robustez.

En este trabajo se probó la robustez durante la validación del método de disolución automatizado y se comparó con la metodología de disolución manual, en tabletas multifármaco conteniendo Paracetamol, al evaluar el efecto de los siguientes factores: pH del medio de disolución, volumen del medio de disolución, desgasificación del medio de disolución, velocidad de la agitación y longitud de onda de detección, mediante un diseño factorial fraccionado saturado del tipo Placket Burman para evaluar el efecto sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol a los 30 minutos. La metodología automatizada se realizó con la estación de disolución automatizada, la cual emplea celdas de flujo de 0.1 cm, al sólo contar con cuatro celdas, la prueba se realizó en cuatro vasos, obteniendo sólo cuatro muestras para cada corrida analítica de ambas metodologías.

2. Objetivos.

- Calcular tanto en la método de disolución automatizado, como en el método manual, el efecto del pH del medio de disolución, volumen del medio de disolución, desgasificación del medio de disolución, velocidad de agitación y longitud de onda de detección por medio del método de Contrastes y determinar si alguno de los factores es estadísticamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 7 grados de libertad, sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol a los 30 minutos, para ambos métodos.
- Verificar y calcular el intervalo donde el método de disolución automatizada y manual para una forma farmacéutica sólida conteniendo Paracetamol es robusto para el pH del medio de disolución, el volumen del medio de disolución, la desgasificación del medio de disolución, la velocidad de agitación y la longitud de onda de detección.
- Confirmar la confiabilidad de la metodología de disolución automatizada por medio de la comparación con la metodología manual mediante la prueba *t-student pareada* a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 3 grados de libertad.
- Determinar si el intervalo de concentraciones de la curva estándar de la disolución automatizada presenta afectaciones para el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol, por medio del programa de disolución automatizado.

3. Antecedentes.

3.1. Validación de métodos analíticos¹ y ⁷.

La validación de un método analítico es el proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño, satisfacen los requisitos para su aplicación¹, el objetivo de la validación de un método es demostrar que éste es adecuado para el propósito previsto.

Los métodos analíticos para fines de validación se clasifican en cuatro tipos, ya que para llevarse a cabo se requieren diferentes esquemas de estudio:

- Pruebas de identificación, su objetivo es asegurar la identidad de un analito en una muestra, este tipo de pruebas normalmente se lleva a cabo mediante la comparación de la muestra con un estándar de referencia y las técnicas más empleadas son: la espectroscopia, el comportamiento cromatográfico y la reactividad química.
- Pruebas para determinación de impurezas, estas pueden ser determinaciones cuantitativas o pruebas límite, el objetivo principal de ambas es reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra.
- Pruebas cuantitativas de un componente específico en muestras de productos terminados, el objetivo es medir cuantitativamente la cantidad de analito presente en una muestra.
- Determinación de un analito en una muestra con el objeto de evaluar una característica de desempeño del preparado farmacéutico, uno de los objetivos principales de este tipo de pruebas es como control de calidad dentro de la industria farmacéutica.

Durante una validación se evalúan parámetros de desempeño, que se establecen basándose en el objetivo del método analítico, los parámetros que comúnmente se evalúan son: exactitud, precisión, especificidad, linealidad, rango, límite de detección, límite de cuantificación y robustez.

La siguiente tabla muestra los parámetros de desempeño más importantes a evaluar para la validación de los diferentes tipos de métodos analíticos.

Tabla 1. Parámetros de desempeño analítico recomendados para la validación de un método analítico de acuerdo a su tipo⁷.

| Tipo de método analítico | Identificación | Pruebas para impurezas | | Ensayos -Disolución (sólo medición) -Contenido/Potencia |
|--------------------------|----------------|------------------------|---------|--|
| Parámetro de desempeño | | Cuantitativas | Límites | |
| Especificidad | + | + | + | + |
| Linealidad | - | + | - | + |
| Rango | - | + | - | + |
| Exactitud | - | + | - | + |
| Precisión | | | | |
| Repetibilidad | - | + | - | + |
| Precisión intermedia | - | + | - | + |
| Límite de detección | - | - | + | - |
| Límite de cuantificación | - | + | - | - |
| Robustez | + | + | + | + |

- = Significa que esta característica no se evalúa normalmente.

+ = Significa que esta característica es evaluada normalmente.

3.1.1. Especificidad^{1 y 7}.

La especificidad es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra, que pueden estar presentes o que se pudieran presentar por efectos ambientales y/o de interacción con los mismos componentes tales como: impurezas, productos de degradación o componentes de la misma muestra¹.

Se debe de llevar a cabo una investigación de la especificidad durante la validación de las pruebas de identificación, determinación de impurezas y ensayos. El método que se va a emplear para demostrar la especificidad depende del objetivo del método analítico⁷.

En algunos casos no es posible demostrar que el método analítico es específico para un analito, en estos casos se recomienda la combinación de dos o más métodos analíticos, hasta obtener el nivel de discriminación deseado.

3.1.2. Linealidad¹.

La linealidad es la verificación de que la respuesta analítica y la concentración del analito se ajustan al modelo matemático, en un intervalo de concentraciones pertinentes a la aplicación analítica¹.

La linealidad debe ser evaluada por la inspección visual de una gráfica de la respuesta en función de la cantidad o concentración del analito. Si la relación es lineal, los resultados deben de ser evaluados por los métodos estadísticos.

En algunos casos los datos obtenidos en las pruebas pueden ser sometidos a una transformación matemática antes del análisis estadístico.

3.1.3. Rango⁷.

El rango es el intervalo entre la concentración menor y mayor del analito en la muestra para los que el método analítico tiene un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad⁷.

El rango especificado se deriva normalmente de los estudios de linealidad y depende de la aplicación para la que fue destinado el método. El objetivo es confirmar que el método analítico proporciona un grado aceptable de linealidad, exactitud y precisión, cuando es aplicado a las muestras que contiene cantidades de analito dentro de los extremos especificados en el método.

Existen diferentes rangos especificados para los diferentes tipos de métodos analíticos, a continuación se muestran algunos ejemplos:

- Para ensayos de fármacos o producto terminado: normalmente de 80 a 120 por ciento de la concentración de prueba.

- Para uniformidad de contenido, que abarca un mínimo de 70 a 130 por ciento de la concentración de prueba, a menos de que necesite un rango más amplio dependiendo de la naturaleza de la forma de dosificación.
- Para pruebas de disolución: +/-20 % en el intervalo especificado.

3.1.4. Exactitud¹.

La exactitud es la concordancia absoluta entre el resultado obtenido con el método y la cantidad verdadera del analito presente en la muestra, a una cantidad fija¹.

La exactitud se establece a través del rango especificado del método analítico y se debe de aplicar a todos los métodos de carácter cuantitativo, para ello existen disponibles diferentes métodos para determinar la exactitud.

3.1.5. Precisión¹.

La precisión es el grado de concordancia relativa entre los resultados obtenidos al aplicar el método analítico, bajo las mismas condiciones analíticas o bajo diferentes condiciones analíticas, utilizando una muestra homogénea¹.

Cuando la variabilidad de un resultado analítico se debe a factores aleatorios, estos se pueden clasificar en intramétodo, intralaboratorio e interlaboratorio. En estos casos la precisión intramétodo se mide por medio de la repetibilidad, la reproducibilidad intralaboratorio se mide mediante la precisión intermedia y la reproducibilidad interlaboratorios se mide por la reproducibilidad. Cada uno de estos casos se evalúa de forma diferente, pero los datos recomendados que se deben de reportar para cada tipo de precisión son: la desviación estándar, la desviación estándar relativa o coeficiente de variación e intervalo de confianza.

3.1.6. Límite de detección^{1 y 4}.

El límite de detección es la cantidad de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de aplicación del método¹.

Son posibles varios enfoques para determinar el límite de detección, dependiendo de si el procedimiento es instrumental o no instrumental. Los siguientes son diferentes enfoques que pueden ser aceptados:

- Basados en la evaluación visual: Se determina por el análisis de muestras con una concentración conocida del analito y se establece el nivel mínimo al que el analito puede ser detectado confiablemente. Se puede emplear para procedimientos instrumentales y no instrumentales.
- Basado en la señal-ruido: Solo puede emplearse en métodos analíticos que presenta ruido de línea base. Se determina por la comparación de la señal medida de muestras con concentraciones de analito bajas con respecto a muestras blanco, y se establece la concentración mínima al que el analito puede ser detectado confiablemente. Se considera aceptable estimar el límite de detección cuando la señal es superior a tres veces a la señal-ruido.
- Basada en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente: El límite de detección se calcula con la siguientes ecuación⁴:

$$\text{Límite de detección} = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Donde:

σ = Desviación estándar de la respuesta.

S = Pendiente de la curva estándar.

La pendiente (S) puede ser calculada por una curva estándar del analito. El cálculo de la desviación estándar (σ) se puede llevar a cabo por diferentes maneras, por el ejemplo; basándose en la desviación estándar del blanco; basándose en una curva de calibración.

3.1.7. Límite de cuantificación^{1 y 4}.

El límite de cuantificación es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser detectada con exactitud y precisión aceptable, bajo las condiciones de aplicación del método¹.

Existen varios enfoques para determinar el límite de cuantificación, dependiendo de si el procedimiento es instrumental o no instrumental. Los siguientes son diferentes enfoques que pueden ser aceptados:

- a) Basados en la evaluación visual: Se determina por el análisis de muestras con una concentración conocida del analito y se establece el nivel mínimo al que el analito puede ser cuantificado con una adecuada precisión y exactitud. Se puede emplear para procedimientos instrumentales y no instrumentales.
- b) Basado en la señal-ruido: Solo puede emplearse en métodos analíticos que presenta ruido de línea base. Se lleva a cabo por la comparación de la señal medida de muestras con concentraciones de analito bajas con respecto a muestras blanco, y se establece la concentración mínima a lo que el analito puede ser cuantificado confiablemente. Se considera aceptable estimar el límite de cuantificación cuando la señal es diez veces superior a la señal-ruido.
- c) Basada en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente: El límite de detección se calcula con la siguientes ecuación⁴:

$$\text{Límite de detección} = \frac{10 \sigma}{S}$$

Donde:

- σ = Desviación estándar de la respuesta.
 S = Pendiente de la curva estándar.

La pendiente (S) puede ser calculada por una curva estándar del analito. El cálculo de la desviación estándar (σ) se puede llevar a cabo por diferentes maneras, por el ejemplo; basándose en la desviación estándar del blanco; basándose en una curva de calibración.

3.1.8. Robustez⁷.

La robustez de un método analítico es la medida de la capacidad para mantenerse inalterado a pequeñas, pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona un indicativo de su confiabilidad durante el uso normal⁷.

Para mayor información ver numeral 3.3. Estudios de robustez.

3.1.9. Adecuabilidad del sistema^{1 y 7}.

La prueba de adecuabilidad del sistema es una parte integral de cualquier método analítico. La prueba se basa en el concepto de que los equipos, aparatos electrónicos, operaciones analíticas y las muestras a analizar constituyen un sistema integral que puede ser evaluado como tal. Los parámetros de la prueba de adecuabilidad del sistema se establecen para un método en particular dependiendo del tipo de procedimiento a ser validado⁷.

Esta prueba permite establecer la confiabilidad del sistema, antes del procesamiento de las muestras durante el uso rutinario del método¹.

3.2. Diseño de experimentos^{4, 8, 9 y 10}.

En el campo de la industria farmacéutica es común hacer experimentos o pruebas con la intención de resolver un problema o comprobar una idea. Normalmente estas pruebas o experimentos se llevan a cabo mediante el ensayo de prueba y error, dependiendo de la experiencia o intuición, en lugar de seguir un plan experimental adecuado que garantice una buena respuesta a las interrogantes planteadas⁸.

En problemas con cierta complejidad no es suficiente aplicar este tipo de experimentación, por lo que es mejor proceder siempre en una forma eficaz que garantice la obtención de las respuestas en un lapso corto de tiempo y empleando pocos recursos.

El diseño de experimentos es la aplicación del método científico para generar conocimiento acerca de un proceso, consiste en planear y realizar un conjunto de pruebas con el objetivo de generar datos que al ser analizados estadísticamente,

proporcionen evidencias objetivas que permitan responder las interrogantes planteadas por el experimento sobre determinada situación⁹.

Los problemas más típicos que se pueden resolver con el diseño de experimentos son los siguientes¹⁰:

- Determinar los factores de un proceso que tienen impacto sobre una o más características del producto final.
- Encontrar las condiciones de operación donde se reduzcan los defectos o se logre un mejor desempeño del proceso.
- Construir modelos que permitan obtener predicciones sobre la respuesta del proceso.
- Reducir tiempos de ciclos de proceso.
- Hacer procesos robustos a oscilaciones de variables ambientales.
- Apoyar el diseño o rediseño de nuevos productos o procesos.
- Comparar varios instrumentos de medición para verificar si trabajan con la misma precisión y exactitud.

En general los experimentos se usan para estudiar el desempeño de procesos y sistemas. El proceso o sistema se representa con el modelo de la figura 1, donde pueden visualizarse como combinación de máquinas, métodos, personas u otros recursos que transforman cierta entrada en una salida que tiene una o más respuestas observables.

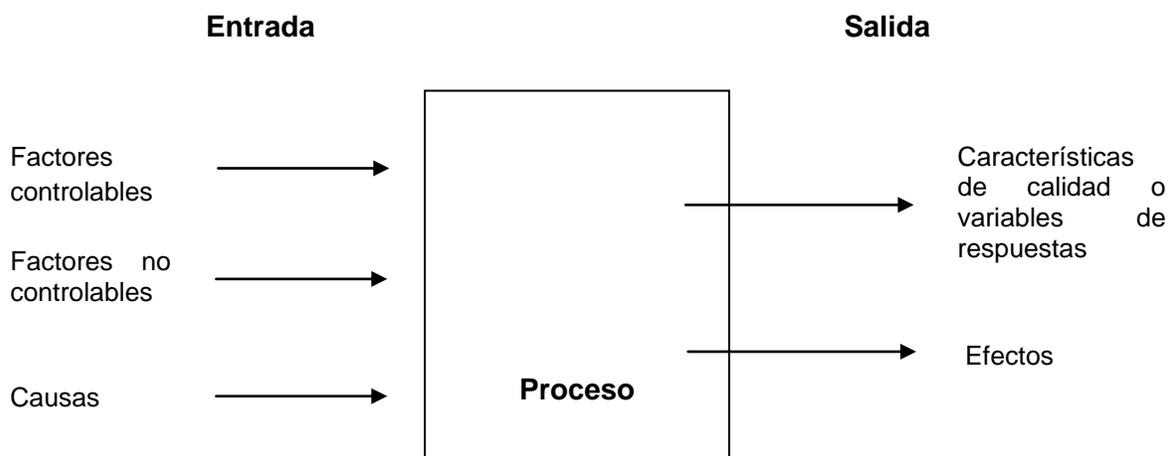


Figura 1. Modelo general de un proceso o sistema⁸.

El análisis y diseño de experimentos es una colección de herramientas estadísticas que se relacionan con la planeación, la ejecución y la interpretación de un experimento. En la literatura se consideran tres categorías de diseños de experimentos para la evaluación de la robustez, las cuales incluyen a los diseños factoriales completos, los diseños factoriales fraccionados y los diseños factoriales fraccionados saturados también conocido como diseño tipo Plackett-Burman⁴.

3.2.1. Diseños factoriales completos⁹.

Cuando el objetivo del diseño es medir la influencia de los factores en un proceso y descubrir si interactúan entre ellos, el diseño factorial completo (2^f) es la estrategia experimental óptima. Los factoriales 2^f completos son útiles principalmente cuando el número de factores a estudiar se encuentra entre 2 y 4, rango en el cual su tamaño se encuentra entre 4 y 16 experimentos⁹.

En estos diseños, cada factor se estudia a sólo dos niveles y sus experimentos completan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores.

3.2.2. Diseños factoriales fraccionados¹¹.

Cuando el número de factores crece, el número de experimentos en los diseños factoriales incrementan rápidamente. Para experimentar con una gran cantidad de factores se requiere de una estrategia que permita reducir de manera importante el número de experimentos, evitando perder información valiosa. El diseño factorial fraccionado (2^{f-1} , $f > 2$) conforma la estrategia a emplear, ya que las corridas son una parte o una fracción de los experimentos de los factoriales completos¹¹.

Una de las desventajas de este tipo de diseños radica en que existirán efectos que no se podrán estimar y que se cuenta con una cantidad menor de grados de libertad para el error. Los efectos que se pierden se espera que sean, en la medida de lo posible interacciones de alto orden, los cuales se puede ignorar de antemano con un bajo riesgo.

3.2.3. Diseño tipo Plackett- Burman¹².

Los diseños de Plackett-Burman representa una alternativa más para fraccionar diseños factoriales completos, donde el número de tratamientos de diseño no necesariamente es potencia de dos pero si es múltiplo de cuatro¹².

Para construir un diseño de Plackett-Burman para f factores se selecciona un renglón o columna de niveles codificados -1 y $+1$, de manera que el número de positivos sea $(f+1)/2$ y el de negativos $(f-1)/2$. Este renglón es el primero del diseño. Los siguientes $f-1$ renglones o columnas se generan recorriendo cada vez un lugar el primer renglón. Por último, el renglón $(f+1)$ se forma solo de números -1 . Los diferentes arreglos pueden construirse mediante el uso de software especializado⁸.

3.3. Estudios de robustez.

3.3.1. Definición de robustez^{4 y 7}.

La robustez de un método analítico es la medida de la capacidad para mantenerse inalterado a pequeñas, pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona un indicativo de su confiabilidad durante el uso normal⁷.

La robustez puede describirse como la capacidad de reproducir un método en diferentes laboratorios o bajo diferentes circunstancias, sin la presencia de diferencias inesperadas en los resultados obtenidos⁴.

3.3.2. Ubicación de la robustez en el desarrollo y validación de métodos⁴.

Los estudios de robustez inicialmente se realizaban para evitar problemas en estudios interlaboratorios y para identificar los factores potencialmente responsables de estos problemas.

Lo cual significa que los estudios de robustez se realizan en una etapa final de la validación del método, por lo que esta prueba se consideró un parámetro de desempeño dentro de la validación de métodos analíticos que está relacionado con la determinación de la precisión de un método. Por lo anterior al realizar el estudio de robustez en una etapa final de la validación involucra un gran riesgo, que el método no se considere robusto, por lo cual el método debe de ser adaptado o rediseñado y revalidado, conllevando con ello un incremento en el tiempo y costo de su desarrollo.

Hoy en día la guía ICH Q2B, la guía holandesa farmacéutica y autores que trabajan en bioanálisis, consideran pertinente realizar el estudio de robustez en la fase de optimización o desarrollo del método o al iniciar el procedimiento de validación⁴.

3.3.3. Objetivos de los estudios de robustez^{4 y 13}.

El objetivo de los estudios de robustez es examinar e identificar las fuentes potenciales de variación en una o varias respuestas del método e indican la confiabilidad al emplearlo normalmente.

Para examinar las fuentes potenciales de variación, un número de parámetros de operación, también llamados factores, son seleccionados y se examinan en un intervalo que excede ligeramente las variaciones que pueden ser ocasionadas al transferir el método de un instrumento a otro o de un laboratorio a otro¹³. Posteriormente los factores se examinan por medio de un diseño experimental y se evalúa el efecto de los factores sobre la(s) respuesta(s) del método⁴.

Un objetivo adicional en los estudios de robustez es la predicción de la reproducibilidad o la estimación de la precisión intermedia.

3.3.4. Metodología de los estudios de robustez^{4 y 13}.

Para realizar un estudio de robustez se recomienda un enfoque multifactorial en el que se realizan cambios simultáneos en los factores del método, empleando una matriz de experimentos¹³.

Los estudios de robustez implican los siguientes pasos: selección de los factores, selección de los niveles de los factores, selección del diseño de experimentos, definición del protocolo experimental, ejecución de los experimentos, determinación de las respuestas del método, cálculo de los efectos, interpretación de los efectos y conclusiones químicas relevantes⁴.

A continuación se explicará brevemente cada uno de los pasos en los estudios de robustez.

3.3.4.1. Selección de los factores¹⁴.

Los factores seleccionados en los estudios de robustez son parámetros relacionados con el método analítico (factores operacionales) y condiciones ambientales (factores ambientales). Los factores seleccionados deben de representar los que tiene mayor probabilidad de ser cambiados cuando el método se transfiere entre laboratorios, instrumentos o analistas y que potencialmente puedan influir en la respuesta¹⁴. El número de factores seleccionado dependerá también de la aplicación para la que fue diseñado el estudio, por ejemplo: uso interno, uso en diferentes lugares, estudios colaborativos y métodos oficiales entre otros.

Después de determinación del número real de factores a estudiar, para completar un diseño tipo Plackett Burman se emplean factores falsos. Un factor falso es un factor imaginario, para los que el cambio de un nivel a otro no tiene sentido físico¹⁴.

Los factores seleccionados pueden ser cuantitativos, cualitativos o una mezcla de factores.

3.3.4.2. Selección de los niveles de los factores^{12 y 15}.

La selección de los niveles de los factores depende del tipo de factor. Los niveles de los factores son definidos simétricamente alrededor del valor nominal del método prescrito. El intervalo elegido entre los niveles extremos debe representar el límite cuando los factores se encuentren en diferentes laboratorios, diferentes instrumentos, fases estacionarias, condiciones ambientales, analistas, es decir en la transferencia de métodos¹².

El número de niveles a ser probados de cada factor preferentemente es de tres (alto, bajo y nominal), sin embargo para estudiar una cantidad grande de factores con un número pequeño de experimentos se realiza a dos niveles (alto y bajo) en un diseño factorial fraccionado, que implica una relación lineal entre el factor y la

respuesta, la cual no siempre se verifica; ya sea porque el método ha sido optimizado o porque el nivel nominal de uno o varios factores se encuentra cerca del óptimo¹².

En la mayoría de los estudios de robustez los niveles de los factores son establecidos por el analista de acuerdo con su experiencia personal, también se puede basar en la precisión o la incertidumbre con la que el factor puede ser ajustado o reajustado¹⁵.

Para factores cuantitativos, la selección de intervalos asimétricos puede representar más las condiciones reales, lamentablemente al seleccionar este tipo de intervalos conlleva la necesidad de evaluar cada factor por separado en el mismo contexto de estudio de robustez, adicionalmente se debe de suponer una interacción nula entre los factores estudiados.

Para los factores cualitativos, los resultados que se obtienen no son representativos para toda la población de los factores de los niveles seleccionados, pero sólo se puede hacer una comparación entre los niveles discretos seleccionados.

3.3.4.3. Selección del diseño de experimentos⁴.

La selección del diseño experimental está en función del número de factores a estudiar y al número de experimentos que se desea realizar⁴, para mayor información acerca del diseño de experimentos ver el numeral 3.2.

3.3.4.4. Definición del protocolo experimental⁴.

El protocolo experimental del estudio de robustez del método analítico establece los objetivos, antecedentes, diseño del estudio y referencias. La parte del diseño del estudio comprende todos los insumos, equipos, instrumentos y material empleado, así como la metodología detallada del procedimiento analítico,

preparación de soluciones, parámetros de aceptación y el análisis que se aplicara a los datos obtenidos⁴. En esta etapa se selecciona la respuesta o respuestas a determinar, dependiendo de los objetivos planteados.

3.3.4.5. Ejecución de experimentos⁴.

Durante la ejecución experimental siempre se está sujeto a factores no controlables, los cuales pueden afectar el resultado del estudio o proporcionar información incorrecta, para minimizar la influencia de estos factores y para verificar que el ruido del sistema es adecuado se recomienda la repetición de experimentos o el uso de factores falsos.

La repetición de experimentos con niveles nominales de los factores del método, permite revisar si el método se realizó adecuadamente, corregir los resultados medidos y en ocasiones para normalizar los efectos. Mientras que el uso de factores falsos reduce al mínimo la influencia de los efectos del tiempo al estimar los efectos de los factores, mediante la ejecución de experimentos del diseño en una secuencia definida⁴.

3.3.4.6. Determinación de las respuestas del método¹⁶.

La respuesta o respuestas que se van a determinar se establecen en el protocolo experimental del estudio de robustez, estas dependen del tipo de método analítico, ya que existen respuestas cuantitativas o continuas y cualitativas o discretas¹⁶.

Durante esta etapa se deben de realizar la corrección de las respuestas, dependiendo del uso de repetición de experimentos con niveles nominales de los factores del método.

3.3.4.7. Cálculo de los efectos⁴.

Los efectos se pueden calcular por los resultados obtenidos de la determinación de la respuesta o por los resultados obtenidos de la corrección de la respuesta⁴.

Estos dos efectos estimados para un factor son iguales para todos los factores que no son afectados por algún tipo de desviación.

Una forma para calcular el efecto absoluto de cada factor con dos niveles, es empleando el método de contraste mediante la siguiente ecuación:

$$E_x = \frac{\sum Y(+)}{n/2} - \frac{\sum Y(-)}{n/2}$$

Donde:

- E_x = Efecto de X en respuesta a Y.
 X = Factores reales, factores falsos o la interacción de factores.
 $\sum y (+)$ = Suma de los respuestas de X en el nivel extremo positivo (nivel alto).
 $\sum y (-)$ = Suma de los respuestas de X en el nivel extremo negativo (nivel bajo).
 n = Número de experimentos del diseño.

3.3.4.8. Interpretación de los efectos⁴.

La interpretación de los efectos se puede llevar a cabo por diversas formas, entre ellas se encuentran la interpretación estadística y la interpretación gráfica.

Si una estimación del error experimental de los efectos está disponible con un número apropiado de grados de libertad, se recomienda realizar una prueba estadística. Los enfoques gráficos también se emplean para obtener una interpretación aceptable⁴.

3.3.4.8.1. Interpretación gráfica¹⁷.

La identificación gráfica de un efecto importante se aplica por lo general con una gráfica de probabilidad normal o media normal. Tanto en una gráfica de probabilidad normal y media normal los efectos no significativos tienden a caer en una línea recta a través de cero, mientras que los efectos significativos se desvían

de ella. Las gráficas de probabilidad normal y media normal conducen a conclusiones similares¹⁷.

Para crear una gráfica media normal, los n efectos son ordenados de acuerdo con el aumento del tamaño del efecto absoluto. El valor r de la secuencia es representada contra una escala definida dividiendo la media derecha de la distribución normal en n partes de área iguales y adoptando la media de la porción r . Este valor es llamado *rankit*. Los efectos que son derivados de un estudio de robustez son posteriormente trazados contra los *rankits* correspondientes¹⁷.

3.3.4.8.2. Interpretación estadística⁴.

La interpretación estadística proporciona un valor numérico límite que puede trazarse en una representación gráfica y que permite definir cuales efectos de los factores son significativos y no significativos. El valor límite para identificar los efectos estadísticamente significativos es generalmente derivado de una prueba *t-student*, la prueba se aplica cuando la población estudiada sigue una distribución normal, pero el tamaño de la muestra es pequeña como para que el estadístico en el que está basada la inferencia esta normalmente distribuido, el valor límite se calcula mediante la siguiente ecuación⁴:

$$t = \frac{|E_X|}{(SE)_e} \leftrightarrow t_{crítica}$$

Donde:

- E_X = Efecto del factor X.
- $(SE)_e$ = Error estándar del efecto.
- $t_{crítica}$ = Valor de t crítico.

El error estándar del efecto, representa la variabilidad experimental dentro del diseño y para los estudios de robustez se puede estimar por diferentes maneras. La ecuación anterior se puede reescribir como⁴:

$$|E_X| \leftrightarrow E_{crítico} = t_{crítica} \times (SE)_e$$

Donde:

- E_X = Efecto del factor X.
 $E_{crítica}$ = Efecto crítico.
 $t_{crítica}$ = Valor de t crítico.
 $(SE)_e$ = Error estándar del efecto.

El efecto crítico se calcula generalmente a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$, sin embargo se puede emplear 0.01 y 0.1. Un efecto se considera significativo si a un α dado $|E_X| > E_{crítica}^4$.

Para la interpretación estadística de los efectos existen diferentes maneras de estimar el error de un efecto, la precisión intermedia es una alternativa si se cuenta con el error de la medición.

3.3.4.8.2.1. Estimación del error por el estimado de la precisión intermedia⁴.

El error estándar en un efecto estimado es calculado de acuerdo a la ecuación del error estándar en una diferencia de medias⁴:

$$SE = \sqrt{\frac{s_a^2}{n_a} + \frac{s_b^2}{n_b}}$$

Donde:

- SE = Error estándar.
 s_a^2 y s_b^2 = Varianza de dos conjuntos de la medición.
 n_a y n_b = Número de mediciones de los dos conjuntos.

Si s_a^2 y s_b^2 son estimados con la misma varianza, s^2 y $n_a = n_b = N/2$, por lo cual el error estándar se convierte en⁴:

$$(SE)_e = \sqrt{\frac{s^2}{n/2} + \frac{s^2}{n/2}} = \sqrt{\frac{4s^2}{n}}$$

Donde:

- $(SE)_e$ = Error estándar.

s^2 = Varianza de la medición.

n = Número de mediciones del experimento.

La varianza s^2 puede ser determinada por experimentos repetidos a nivel nominal o por experimentos duplicados del diseño⁴.

3.3.4.9. Estimación de los intervalos no significativos de los factores con efecto significativo⁴.

Cuando un factor presenta un efecto significativo en la respuesta, se puede identificar en que intervalo de los niveles de los factores se elimina el efecto. Estos niveles se pueden estimar empleando la siguiente ecuación⁴:

$$\left[X_{(0)} - \frac{|X_{(1)} - X_{(-1)}| E_{crítico}}{2|E_X|}, X_{(0)} + \frac{|X_{(1)} - X_{(-1)}| E_{crítico}}{2|E_X|} \right]$$

Donde:

$X_{(0)}$ = Valor real nominal del factor X.

$X_{(1)}$ = Valor real a nivel alto del factor X.

$X_{(-1)}$ = Valor real a nivel bajo del factor X.

E_X = Efecto del factor X.

$E_{crítica}$ = Efecto crítico.

La varianza s^2 puede ser determinada por experimentos repetidos a nivel nominal o por experimentos duplicados del diseño⁴.

3.3.4.10. Conclusiones relevantes del estudio de robustez¹⁷.

Las conclusiones que se obtiene normalmente en los estudios de robustez sirven para: identificar los factores que presentan un efecto significativo, determinar los intervalos no significativos para los factores cuantitativos, tomar las precauciones necesarias para mejorar el desempeño del método y para definir los límites de adecuabilidad del sistema para ciertas respuestas cualitativas¹⁷.

A continuación se representa esquemáticamente los pasos resumidos que se llevan a cabo durante un estudio de robustez:

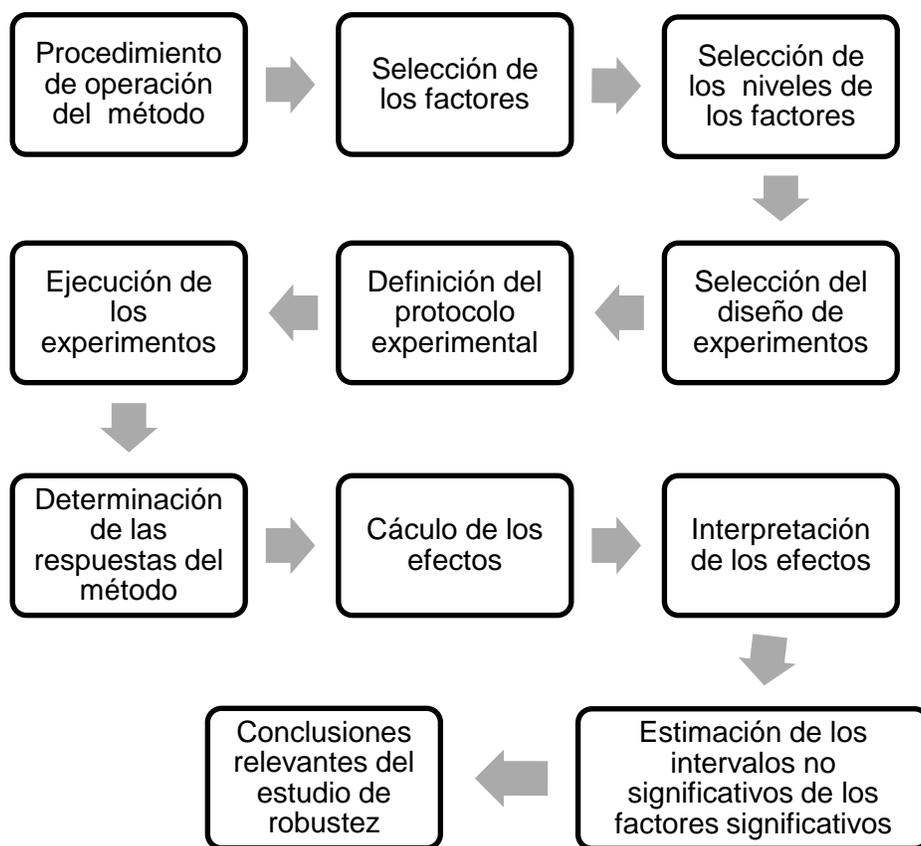


Figura 2. Representación esquemática de los diferentes pasos en los estudios de robustez¹⁷.

3.4. Prueba de disolución.

3.4.1. Definición¹⁸.

Las formas farmacéuticas sólidas tales como las tabletas son una forma conveniente de administrar medicamentos a los pacientes. Tras la ingestión, las tabletas se disgregan en fragmentos más pequeños en el compartimiento del cuerpo, en donde la absorción, se inicia típicamente en el estómago o el intestino superior. Estos fragmentos se disuelven en el jugo digestivo y pueden ser absorbidos por la capa epitelial, tanto como por el revestimiento de la parte

superior del intestino. Este complejo proceso *in vivo* es rutinariamente simulado en las pruebas de disolución *in vitro*¹⁸.

La prueba de disolución, determina la velocidad a la cual el fármaco se libera de la forma de dosificación, con la finalidad de evaluar la posible interferencia de los excipientes o el método de fabricación sobre la liberación del fármaco.

3.4.2. Aplicaciones y objetivos^{19 y 20}.

La prueba de disolución es una de las muchas pruebas que las compañías farmacéuticas deben de llevar a cabo en formas farmacéuticas sólidas orales, ya que es un requisito establecido en la normatividad vigente¹⁹, debido a que la fabricación de estas formas farmacéuticas involucra un buen número de operaciones que pueden afectar la liberación del fármaco. Las formas farmacéuticas que requieren la prueba de disolución, son probadas rutinariamente por el departamento de control de calidad y deben de cumplir con los requisitos de la misma para poder ser liberadas.

La prueba de disolución *in vitro*, para formas farmacéuticas sólidas orales es empleada para, evaluar la calidad lote a lote de estos productos farmacéuticos, sirve de guía para el desarrollo de nuevas formulaciones y para garantizar que la calidad del producto es constante, después de realizar ciertos cambios, tales como cambios en la formulación, en el proceso de fabricación, en el sitio de fabricación y en el escalamiento del proceso de fabricación²⁰.

3.4.3. Categorías de las pruebas de disolución²¹.

Existen diferentes categorías de la prueba de disolución, entre ellas se presentan: un solo punto, dos puntos y perfil de disolución, cada una de ellas tiene una finalidad diferente.

Las pruebas de uno y dos puntos se caracterizan por ser pruebas rutinarias en la industria farmacéutica para el control de calidad de formas farmacéuticas orales, ya que el objetivo de ambas es proporcionar información acerca del proceso de fabricación. Mientras que el objetivo principal de los perfiles de disolución es la comparación de dos o más equivalentes farmacéuticos, esto se lleva a cabo mediante la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a partir de la forma farmacéutica a diferentes tiempos, en condiciones experimentales similares²¹. Sin embargo un objetivo que comparten todas las categorías de la prueba de disolución es el desarrollo de nuevas formulaciones, ya que sirve para ver el efecto de los excipientes sobre la liberación del fármaco, en las formas farmacéuticas de liberación controlada se espera que los excipientes retarden la liberación del fármaco, por otra los excipientes para formas de liberación inmediata se espera que liberen rápidamente el fármaco de la forma farmacéutica.

3.4.4. Factores que influyen en la disolución^{1 y 22}.

La prueba de disolución, implica una serie de variables de origen diverso que afectan el patrón de flujo hidrodinámico en la interfaz sólido-líquido, el cual a su vez, es determinante en la velocidad de disolución y en la obtención de resultados reproducibles¹.

El conocimiento de la solubilidad, permeabilidad, disolución y farmacocinética de un fármaco se debe de considerar para la definición de las especificaciones de la prueba de disolución. Las Farmacopeas son los documentos en donde se establecen las condiciones y las especificaciones de la prueba de disolución de las formas farmacéuticas sólidas de administración oral.

Los factores que determinan el porcentaje disuelto de un analito dependen primordialmente de dos grandes grupos:

A. Factores que dependen del medio de disolución:

- a) Velocidad de la disolución.
- b) Temperatura del medio de disolución.
- c) Composición del medio de disolución:
 - Volumen del medio de disolución.
 - pH del medio de disolución.
 - Viscosidad del medio de disolución.
 - Desgasificación del medio de disolución.
 - Presencia de adsorbentes.
 - Tensión superficial

B. Factores que depende del solido a disolver:

- a. Solubilidad del analito.
- b. Permeabilidad del analito.
- c. Superficie libre del analito.

Los factores que depende del sólido a disolver son exclusivamente los que pueden afectar a sustancias puras y no a formas farmacéuticas, donde el efecto de los excipientes y los factores tecnológicos involucrados hacen una notable variación de las características de disolución²².

3.5. Determinación espectrofotométrica de Paracetamol^{23 y 24}.

El Paracetamol también llamado acetaminofén, es un analgésico y antipirético extensamente empleado en preparaciones farmacéuticas²³. Este es con frecuencia auto prescrito para el alivio del dolor moderado, fiebre, dolor lumbar, migraña o indicaciones no específicas sin algún control médico²⁴.

Un gran número de métodos analíticos se encuentran disponibles para la determinación de Paracetamol en varios tipos de muestras. Estos incluyen

diversas técnicas analíticas, tales como, volumetría, cromatografía de líquidos, voltamperometría, espectrofluorometría y espectrofotometría UV/Visibles. Varios de estos métodos requieren el uso de reactivos químicos considerados como peligrosos y que son de costo elevado, que no solo hacen del proceso un reto para el cuidado del medio ambiente, sino que también lo vuelven muy complicado, incrementan el tiempo del análisis y elevan los costos²⁴.

Generalmente para la determinación de Paracetamol por espectrofotometría UV/Visible el estándar y la muestra son hidrolizados con una base, para convertirlo en p-aminofenol y posteriormente hacerlo reaccionar con un ligando adecuado para obtener una señal a una longitud de onda específica, este tratamiento implica un proceso tardado y costoso²⁴. Motivo por el cual se han realizado diversos estudios cuya finalidad es obtener un método espectrofotométrico simple, económico y directo para la determinación de Paracetamol en formas farmacéuticas.

En octubre del 2006 A. Khaskheli y colaboradores, investigan un método espectrofotométrico para la determinación del Paracetamol en medio acuoso, sin el uso de reactivos químicos, con el objetivo de desarrollar un método económico, simple y amigable con el medio ambiente, empleando espectrofotometría UV/Visible que supere todos los problemas y logre un rango de calibración amplio y un límite de detección bajo²⁴.

El método para la determinación espectrofotométrica directa de Paracetamol está basado en la absorción del analito dentro de la región UV, a una longitud de onda de 243 nm. La absorción de la radiación electromagnética del Paracetamol se debe al sistema aromático y al grupo amida que presentan dentro de su estructura, promoviendo al Paracetamol a un estado excitado, transmitiendo un haz de menor energía radiante, el cual se mide para calcular la luz absorbida que depende directamente de la concentración del Paracetamol, cumpliendo con ello la Ley de Lambert Beer.

A. Khaskheli y colaboradores, desarrollaron un método directo para la determinación de Paracetamol por espectrofotometría UV/Visible, en el que además se estudió el efecto en la absorbancia del Paracetamol en medio acuoso al adicionar HCl, NaOH, CH₃COOH y NH₃. Tanto como la interferencia provocada por la adición de otros fármacos analgésicos y de disolventes polares²⁴.

El efecto de la adición de ácidos y bases, débiles y fuertes a una concentración 1M, en la absorbancia de la solución de Paracetamol 5 µg/mL en medio acuoso es la siguiente: la adición de NH₃ no la afecta en lo absoluto, mientras que el HCl la disminuye y CH₃COOH la incrementan, ambos efectos dentro de un límite aceptable de ± 5.0 %. Solo se muestra un efecto positivo de 5.88 % con la adición de NaOH²⁴.

Al estudiar la interferencia de varios fármacos analgésicos, como son la cafeína, diclofenaco sódico y ácido acetil salicílico en la absorción de Paracetamol, se demostró la posibilidad de determinarlo en presencia de otros fármacos en proporciones 1:1, ya que no presentan interferencia en la absorción, comprobando la factibilidad para determinar Paracetamol en preparados farmacéuticos donde se presente en combinación de dos o más analgésicos en la proporción mencionada²⁴.

La adición de disolventes polares como los alcoholes alifáticos a la solución estándar de Paracetamol 5 µg/mL en solución acuosa no presentan efecto en la absorbancia, debido al incremento de la miscibilidad y la estructura similar con la del agua. Para disolventes como acetonitrilo y N-dimetilformamida se presenta un decrecimiento en la absorbancia²⁴.

El intervalo del método desarrollado por A. Khaskheli para la determinación directa de Paracetamol por espectrofotometría UV/Visible es de 0.3 a 20.0 µg/mL, donde cumple con la ley de Lambert Beer, con un límite de detección de 0.1 µg/mL y con un coeficiente de correlación de 0.9999. Para la determinación se empleó un

espectrofotómetro Lambda 2 UV/Visible de la compañía Perkin-Elmer y celdas de cuarzo de un 1cm.

3.5.1. Espectrofotometría UV/Visible²⁵.

Cuando un rayo de luz de una longitud de onda determinada de intensidad (I_0) incide perpendicularmente sobre una disolución de una molécula que absorbe luz o cromóforo, absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumpla la siguiente ecuación: $I_0 = I_a + I_t$

La Transmitancia de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_0 , y se representa normalmente en tanto por ciento: $\%T = I_t/I_0 \times 100$

La Transmitancia nos da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y a concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa²⁵.

La absorbancia es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma y se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia:

$$A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/I_0$$

Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales, la Transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda y la absorbancia es de cero²⁵.

3.5.2. Ley de Lambert Beer²⁶.

Esta ley expresa la relación entre la absorbancia de luz cromática y la concentración de una molécula que absorbe luz en solución:

$$A = \log I/I_0 = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración (c), es decir a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas, también depende de la distancia (l) que recorre la luz por la solución, y por último depende de la ε , una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de absorptividad molar²⁶.

Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige la longitud de onda de máxima absorción, ya que el error de medición es mínimo y la sensibilidad es máxima. Para verificar el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer, se debe de realizar curvas estándar de absorbancia en función de la concentración, para lo cual se preparan soluciones de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.

La ley de Lambert Beer se cumple para soluciones diluidas, para valores de concentración alto, el coeficiente de absorptividad molar varía, debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas y cambios en el medio²⁶.

3.6. Automatización de los métodos de disolución^{27, 28 y 29}.

La etapa moderna se caracteriza por la descripción y la disponibilidad de una amplia variedad de instrumentos al igual que el empleo progresivo de la informática, tanto como soporte a la quimiometría como para el control de sistemas analíticos, la reducción de la intervención humana en los procesos y la implementación de sistemas de calidad, implican un cambio importante en la evolución de la química analítica²⁷.

La definición de automatización en el sentido práctico es el desarrollo de operaciones sin la intervención del hombre. En el contexto de la química analítica

se refiere a operaciones como la preparación de muestras, la medición de las respuestas y el cálculo de los resultados²⁸.

La industria farmacéutica ha ido adoptando la automatización, pero esta implementación resulta complicada cuando han de sustituirse métodos que ya están validados y que cumplen con la normatividad vigente. La principal dificultad está en demostrar la equivalencia entre las dos metodologías, con lo cual los esfuerzos de validación se ven simplificados, ya que todos los métodos serán válidos para el uso de la nueva metodología automatizada²⁹.

Teniendo en cuenta que la prueba de disolución es un indicador *in vitro* de la Biodisponibilidad, que permite evaluar la calidad del producto y que su realización representa aproximadamente el 15 % del trabajo del laboratorio de análisis de una compañía fabricante de forma farmacéuticas sólidas, la automatización de la prueba de disolución se plantea como una gran ayuda para el laboratorio de análisis, ya que al estandarizar y validar la prueba se generan procesos más rápidos, menos costosos, se disminuye el uso de los equipos y se pueden disminuir las incidencias de calidad²⁹.

3.6.1. Ventajas de los métodos automatizados de disolución²⁸.

Los equipos de disolución automatizados ofrecen una importante ventaja económica porque ahorran el costo de la mano de obra, pero para aprovecharse requieren que el volumen de trabajo sea lo suficientemente grande con el fin de compensar la inversión inicial de capital²⁸. En el caso de los laboratorios farmacéuticos que realizan pruebas todos los días, se puede lograr un ahorro enorme con la automatización de las diferentes pruebas de disolución.

La segunda ventaja importante de los métodos automatizados es que la cantidad de determinaciones por días es mucho más alta que con los métodos manuales. En algunos casos se debe a que la velocidad de un equipo automatizado es muy superior a la de uno manual.

La tercera ventaja de la automatización es que con un método de disolución automatizado bien diseñado, se pueden conseguir a menudo resultados más reproducibles durante un periodo más largo, que se obtienen con un método manual. Un factor que contribuye de manera muy importante a la precisión, es la elevada capacidad de los equipos automatizados para reproducir medidas sincronizadas sucesivas, lo cual rara vez se puede lograr con métodos manuales²⁸.

Entre otras ventajas de la automatización de los métodos de disolución está la capacidad para procesar muestras que representan un riesgo para el ser humano, la reducción al mínimo de los errores de cálculo, el riesgo directo de los resultados en bases de datos y sistemas de almacenamiento de archivos.

3.6.2. Tipos de sistemas automatizados de disolución²⁸.

Los sistemas analíticos automáticos son de dos tipos: sistemas discretos y sistemas de flujo continuo; a veces se puede encontrar una combinación de ambos. En un equipo discreto cada una de las muestras se mantiene como una cantidad independiente y se colocan en recipientes separados durante cada una de las operaciones unitarias. Por el contrario, en los sistemas de flujo continuo la muestra forma parte de la corriente en la que varias de las etapas se efectúan mientras dicha muestra es transportada desde el punto de inyección o introducción de la muestra hasta una unidad de medida, y de ahí a la salida, desecho o de regreso al depósito de la muestra²⁸.

Los sistemas de disolución automatizados presentan un sistema discreto, los equipos presentan recipientes individuales para cada una de las muestras y durante las operaciones realizadas siempre se colocan en recipientes por separado. Con base a lo anterior se elimina toda probabilidad de contaminación de las muestras durante la prueba de disolución²⁸.

4. Desarrollo del estudio de robustez del método de disolución automatizado y manual.

4.1. Selección de los factores del método de disolución automatizado y manual.

Se evaluaron los factores potencialmente más significativos en la respuesta del método de disolución: pH del medio de disolución, volumen del medio de disolución, desgasificación del medio de disolución y velocidad de agitación, adicionalmente se evaluó un factor del método analítico, longitud de onda de detección. Para completar el diseño se emplearon dos factores falsos.

4.2. Selección de los niveles de los factores del método de disolución automatizado y manual.

Los valores de los factores se definieron simétricamente alrededor del valor nominal prescrito en la metodología de disolución de Paracetamol de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

En la siguiente tabla se muestran los factores y los niveles a los que fueron evaluados:

Tabla 2.- Factores y niveles evaluados

| Factor | | Nivel | | |
|--------|---|------------------|---------------|---------------|
| | | Bajo (-1) | Nominal | Alto (1) |
| A | pH del medio de disolución | 5.75 | 5.8 | 5.85 |
| B | Factor falso | --- | --- | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | 890 mL | 900 mL | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | No desgasificado | Desgasificado | Desgasificado |
| E | Factor falso | --- | --- | --- |
| F | Velocidad de agitación | 45 rpm | 50 rpm | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | 238 nm | 243 nm | 248 nm |

4.3. Selección del diseño experimental del método de disolución automatizado y manual.

Se empleo un diseño factorial fraccionado tipo Plackett Burman, en el cual se evaluaron siete factores. El diseño consta de ocho corridas experimentales, en cada una se establecieron un conjunto particular de condiciones de los factores a evaluar.

Tabla 3. Diseño experimental tipo Plackett Burman.

| Corrida | (A) pH del medio | (C) Volumen del medio (mL) | (D) Desgasificación del medio | (F) Velocidad de agitación (rpm) | (G) Longitud de onda de detección (nm) |
|---------|------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--|
| 1 | 5.85 | 890 | Desgasificado | 55 | 248 |
| 2 | 5.85 | 890 | No desgasificado | 45 | 248 |
| 3 | 5.85 | 910 | No desgasificado | 55 | 238 |
| 4 | 5.75 | 910 | Desgasificado | 45 | 248 |
| 5 | 5.85 | 910 | Desgasificado | 45 | 238 |
| 6 | 5.75 | 890 | Desgasificado | 55 | 238 |
| 7 | 5.75 | 910 | No desgasificado | 55 | 248 |
| 8 | 5.75 | 890 | No desgasificado | 45 | 238 |

Nota.- Los factores falsos (B y E) no se incluyen dentro de la tabla.

Tabla 4. Diseño experimental tipo Plackett Burman, matriz de signos.

| Corrida | A | B | C | D | E | F | G |
|---------|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | + | - | - | + | - | + | + |
| 2 | + | + | - | - | + | - | + |
| 3 | + | + | + | - | - | + | - |
| 4 | - | + | + | + | - | - | + |
| 5 | + | - | + | + | + | - | - |
| 6 | - | + | - | + | + | + | - |
| 7 | - | - | + | - | + | + | + |
| 8 | - | - | - | - | - | - | - |

4.4. Protocolo experimental del estudio de robustez del método de disolución automatizado y manual.

El estudio de la robustez del método de disolución automatizada y manual en tabletas multifármaco conteniendo Paracetamol, se llevo a cabo durante la validación del método automatizado de disolución. Para el estudio se empleó una

estación de disolución automatizada, la cual consta de un disolutor, disoscan y un espectrofotómetro UV/Visible equipo con celdas de flujo de 0.1 cm, solo se contaba con cuatro celdas de flujo, motivo por el cual solo se emplearon para ambas metodologías 4 vasos del disolutor para realizar el estudio, la respuesta determinada es el porcentaje de Paracetamol disuelto después de 30 minutos de disolución.

Para la comparación de la metodología automatizada con respecto a la manual, se empleo una metodología de disolución manual validada en tabletas multifármaco conteniendo Paracetamol, bajo las mismas condiciones descritas en este protocolo. A continuación se presentan un diagrama de flujo simplificando la metodología empleada para el estudio de robustez del método de disolución automatizado y manual.

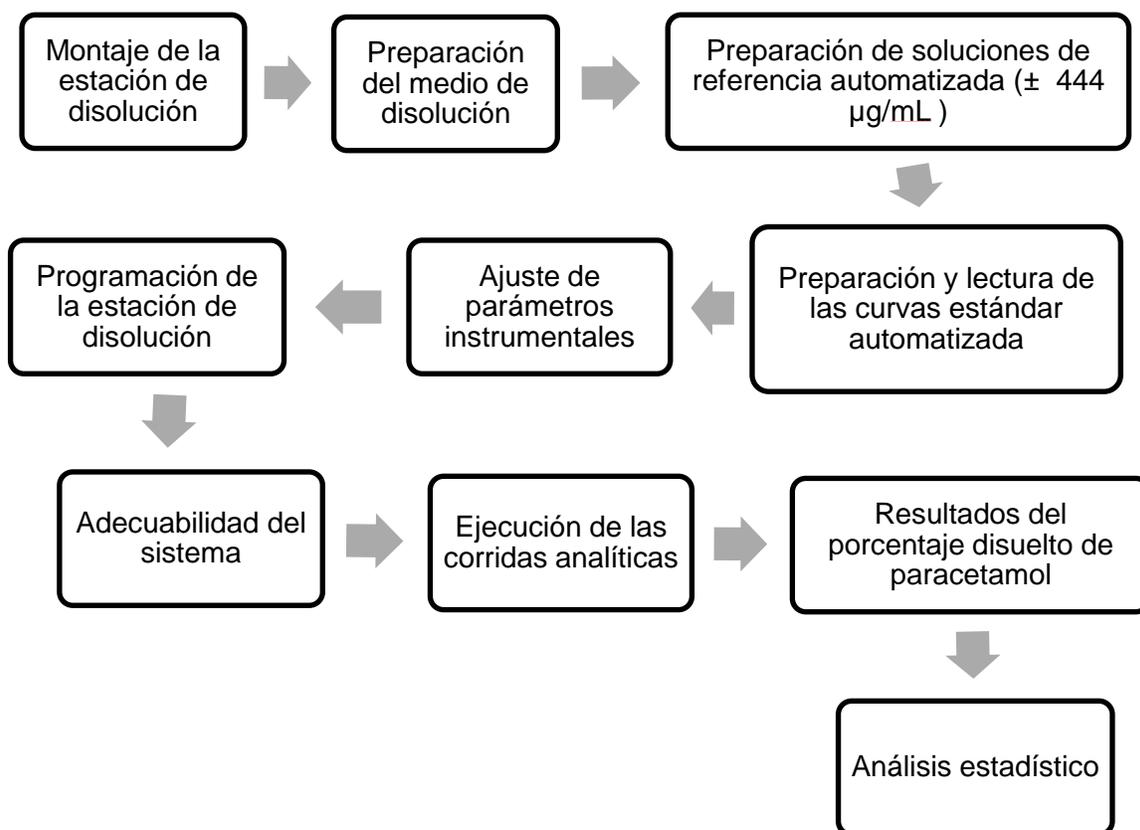


Figura 3. Diagrama de flujo del método de disolución automatizado.

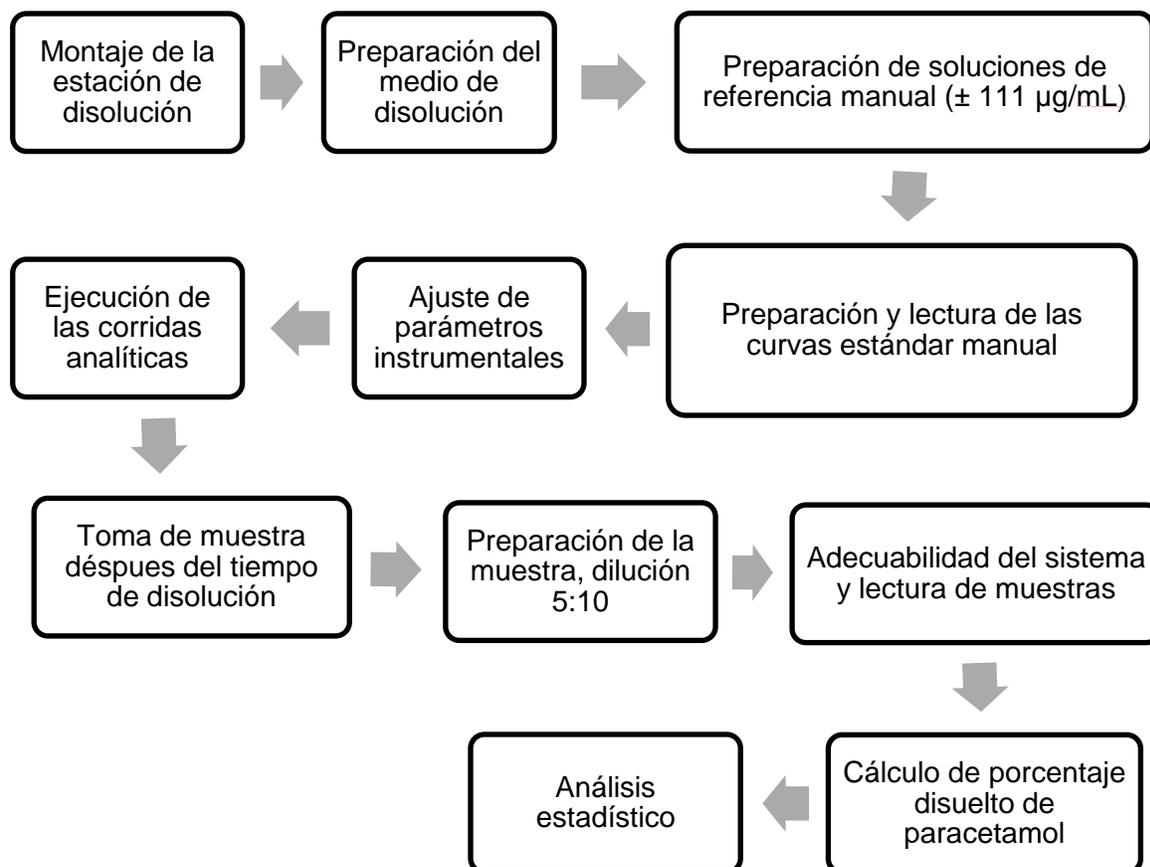


Figura 4. Diagrama de flujo del método de disolución manual.

Para llevar a cabo las corridas analíticas se empleó la siguiente sustancia de referencia:

4.4.1. Sustancia de referencia del estudio.

| | |
|-----------------------------------|--|
| Nombre: | Paracetamol |
| Nombre IUPAC: | N-(4-hidroxifenil) acetamida |
| Fórmula molecular: | C ₈ H ₉ NO ₂ |
| Fórmula estructural: |  |
| Peso molecular: | 151.16 g/mol |
| Descripción farmacéutica: | Polvo cristalino blanco, inodoro |
| Fabricante: | SRI KRISHNA PHARMACEUTICALS LTD. |
| Lote: | 1009003806 |
| Pureza: | 98.7 % (Base seca) |
| Condiciones de almacenamiento: | Contenedores bien cerrados. Proteger de la luz |
| Fecha de caducidad: | Febrero 2012 |
| Sustancia de referencia primaria: | USP, Lote J2C423 |

4.4.2. Producto empleado para el estudio.

Paracetamol 200 mg, tabletas multifármaco.

Nota. Se omite la fórmula cuali-cuantitativa por tratarse de un producto en desarrollo.

4.4.3. Metodología analítica.**4.4.3.1. Reactivos.**

- Fosfato monobásico de potasio.
- Hidróxido de sodio.
- Agua destilada.

4.4.3.2. Equipo y material.

- Disolutor calibrado, con 6 paletas y 6 vasos.
- Dissoscan.
- Espectrofotómetro UV/Vis, equipo con celdas de flujo 0.1 cm.
- Matraces volumétricos de 10, 20, 50, 100 y 1000 mL.
- Pipetas volumétricas 0.5, 1.0, 4.0, 5.0 y 6.0 mL.
- Filtros de polipropileno de 10 μm .
- Potenciómetro.
- Balanza analítica.
- Desgasificador.

4.4.3.3. Parámetros instrumentales.

Condiciones nominales para la prueba de disolución automatizada y manual:

| | |
|-----------------------|--|
| Aparato No.: | 2 (paletas). |
| Medio de disolución: | Solución amortiguadora de Fosfatos 0.05 M, pH 5.8 ± 0.05 desgasificado. |
| Volumen de medio: | 900 mL. |
| Velocidad: | 50 rpm. |
| Tiempo de disolución: | 30 minutos. |
| Celda de cuarzo: | 0.1 cm. |
| Longitud de onda: | 243 nm. |

4.4.3.4. Preparación de soluciones.

4.4.3.4.1. Preparación del medio de disolución.

Medio de disolución. Solución amortiguadora de Fosfatos 0.05 M, pH 5.8.

Pesar 6.8 g de fosfato de potasio monobásico y transferirlos a un matraz volumétrico de 1000 mL, agregar 800 mL de agua destilada, ajustar el pH a un

valor de 5.8 ± 0.05 con solución de hidróxido de sodio 0.2 M, llevar a volumen con agua destilada y mezclar.

4.4.3.4.2. Preparación de las soluciones de referencia.

4.4.3.4.2.1. Solución de referencia método automatizado.

Pesar por duplicado y con exactitud 22.5 mg de Paracetamol sustancia de referencia, transferir a matraces volumétricos de 50 mL, disolver, llevar a volumen con medio de disolución y mezclar (Solución RA1 y RA2, concentración ± 444 $\mu\text{g/mL}$ de Paracetamol).

4.4.3.4.2.2. Solución de referencia método manual.

Pesar por duplicado y con exactitud 11.2 mg de Paracetamol sustancia de referencia, transferir a matraces volumétricos de 50 mL, disolver, llevar a volumen con medio de disolución y mezclar (Solución RM1 y RM2, concentración ± 222 $\mu\text{g/mL}$ de Paracetamol).

4.4.3.5. Preparación de las curvas estándar.

4.4.3.5.1. Preparación de la curva estándar método automatizado.

Dos curvas estándar de 5 niveles, con un intervalo de 177.6 µg/mL a 266.4 µg/mL, preparadas a partir de las soluciones de referencia (RA1 y RA2) considerando alícuotas y volúmenes finales de acuerdo a lo indicado a continuación:

| [] de la solución de referencia | Nivel | Alícuota tomada de la solución patrón (mL) | Volumen final de la solución* | Concentración de Paracetamol en µg/mL | Porcentaje disuelto de Paracetamol (%) | Identificación de soluciones | |
|----------------------------------|-------|--|-------------------------------|---------------------------------------|--|------------------------------|-----------|
| 444 µg/mL de Paracetamol | 1 | 4.0 | 10 mL | 177.6 | 80 | CA1 80 % | CA2 80 % |
| | 2 | 4.5 | 10 mL | 199.8 | 90 | CA1 90 % | CA2 90 % |
| | 3 | 5.0 | 10 mL | 222.0 | 100 | CA1 100 % | CA2 100 % |
| | 4 | 5.5 | 10 mL | 244.2 | 110 | CA1 110 % | CA2 110 % |
| | 5 | 6.0 | 10 mL | 266.4 | 120 | CA1 120 % | CA2 120 % |

*Se utilizó medio de disolución como diluyente.

4.4.3.5.1.1. Criterio de aceptación de la curva estándar para el método automatizado.

El rango de la curva estándar se confirma cuando el análisis de la regresión lineal en el intervalo de concentración (80 % al 120 %), establece un coeficiente de correlación (r) entre el intervalo comprendido de 0.98 - 1.00 y un coeficiente de determinación (r^2) mayor de 0.995, el coeficiente de variación del factor de respuesta debe ser menor al 2.0 %².

4.4.3.5.2. Preparación de la curva estándar método manual.

Dos curvas estándar de 5 niveles, con un intervalo de 88.8 µg/mL a 133.2 µg/mL, preparadas a partir de las soluciones de referencia (RM1 y RM2) considerando alícuotas y volúmenes finales de acuerdo a lo indicado a continuación:

| [] de la solución de referencia | Nivel | Alícuota tomada de la solución patrón (mL) | Volumen final de la solución* | Concentración de Paracetamol en µg/mL | Porcentaje disuelto de Paracetamol (%) | Identificación de soluciones | |
|---------------------------------|-------|--|-------------------------------|---------------------------------------|--|------------------------------|-----------|
| | | | | | | CM1 | CM2 |
| 222 µg/mL de Paracetamol | 1 | 4.0 | 10 mL | 88.8 | 40 | CM1 80 % | CM2 80 % |
| | 2 | 4.5 | 10 mL | 99.9 | 45 | CM1 90 % | CM2 90 % |
| | 3 | 5.0 | 10 mL | 111.0 | 50 | CM1 100 % | CM2 100 % |
| | 4 | 5.5 | 10 mL | 122.1 | 55 | CM1 110 % | CM2 110 % |
| | 5 | 6.0 | 10 mL | 133.2 | 60 | CM1 120 % | CM2 120 % |

*Se utilizó medio de disolución como diluyente.

4.4.3.5.2.1. Criterio de aceptación de la curva para el método manual.

El rango de la curva estándar se confirma cuando el análisis de la regresión lineal en el intervalo de concentración (40 % al 60 %), establece un coeficiente de correlación (r) entre el intervalo comprendido de 0.98 - 1.00 y un coeficiente de determinación (r^2) mayor de 0.995, el coeficiente de variación del factor de respuesta debe ser menor al 2.0 %².

4.4.3.6. Variables del estudio del método de disolución automatizado y manual.

Los factores, sus niveles y el diseño experimental para el estudio se describen en los numerales: 4.1. Selección de los factores del método de disolución automatizado y manual, 4.2. Selección de los niveles de los factores del método de disolución automatizado y manual, y 4.3. Selección del diseño experimental del método de disolución automatizado y manual.

4.4.3.7. Ejecución de corridas analíticas para el método automatizado y manual

Ejecutar las ocho corridas analíticas diseñadas y señaladas en la tabla 3, de un lote específico de tabletas multifármaco con Paracetamol 200 mg, bajo el orden establecido, siendo esencial que las disoluciones sean independientes. Se debe emplear para todas las corridas el mismo lote de producto, manteniendo constante todas las otras condiciones establecidas en el método (materiales, reactivos, soluciones, esquema de dilución, etc.), el tiempo de disolución es de 30 minutos.

Las corridas analíticas para esta validación son las siguientes:

Corrida 1. Correr la disolución con **890 mL** del medio de disolución **desgasificado**, a un pH de **5.85**, con una velocidad de agitación de **55 rpm** y a una longitud de onda de detección de **248 nm**.

Corrida 2. Correr la disolución con **890 mL** del medio de disolución **no desgasificado**, a un pH de **5.85**, con una velocidad de agitación de **45 rpm** y a una longitud de onda de detección de **248 nm**.

Corrida 3. Correr la disolución con **910 mL** del medio de disolución **no desgasificado**, a un pH de **5.85**, con una velocidad de agitación de **55 rpm** y a una longitud de onda de detección de **238 nm**.

Corrida 4. Correr la disolución con **910 mL** del medio de disolución **desgasificado**, a un pH de **5.85**, con una velocidad de agitación de **45 rpm** y a una longitud de onda de detección de **248 nm**.

Corrida 5. Correr la disolución con **910 mL** del medio de disolución **desgasificado**, a un pH de **5.75**, con una velocidad de agitación de **45 rpm** y a una longitud de onda de detección de **238 nm**.

Corrida 6. Correr la disolución con **890 mL** del medio de disolución **desgasificado**, a un pH de **5.75**, con una velocidad de agitación de **55 rpm** y a una longitud de onda de detección de **238 nm**.

Corrida 7. Correr la disolución con **910 mL** del medio de disolución **no desgasificado**, a un pH de **5.75**, con una velocidad de agitación de **55 rpm** y a una longitud de onda de detección de **248 nm**.

Corrida 8. Correr la disolución con **890 mL** del medio de disolución **no desgasificado**, a un pH de **5.75**, con una velocidad de agitación de **45 rpm** y a una longitud de onda de detección de **238 nm**.

4.4.3.7.1. Criterio de aceptación de las corridas analíticas para el método automatizado y manual.

Las corridas son aceptadas si cada una de las muestras presenta un porcentaje disuelto de Paracetamol mayor del 80 % y coeficiente de variación de todas las muestra por cada corrida no debe ser mayor al 5.0 %¹.

4.4.3.8. Metodologías.

4.4.3.8.1. Metodología de disolución automatizada.

Adecuabilidad del sistema. Determinar por quintuplicado la absorbancia de la solución de referencia (RA1), empleando medio de disolución como blanco de ajuste y obtener las lecturas correspondientes. El coeficiente de variación no debe ser mayor al 2.0 %². Estas lecturas no se consideran para el cálculo.

Una vez que se ha cumplido la adecuabilidad, proceder a leer solo una vez cada una de las soluciones de las curvas estándar preparadas a partir de las soluciones de referencia y determinar la absorbancia obtenida. Llevar a cabo el análisis de regresión lineal y verificar si cumple con el criterio de aceptación descrito en el numeral 4.4.3.5.1.1. Criterio de aceptación de la curva estándar para el método automatizado.

Con las curvas de calibración aceptadas calcular los coeficientes P0, P1 y P2 (como si indica en el numeral 4.4.3.9.1. Cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol para el método automatizado) y posteriormente configurar el programa de disolución automatizada para un muestreo a los 30 minutos, terminado el tiempo de disolución la estación de disolución automatizada

determina automáticamente la absorbancia y calcula el porcentaje disuelto de paracetamol de las soluciones muestra.

4.4.3.8.2. Metodología de disolución manual.

Adecuabilidad del sistema. Determinar por quintuplicado la absorbancia de la solución de referencia (RM1), empleando medio de disolución como blanco de ajuste y obtener las lecturas correspondientes. El coeficiente de variación no debe ser mayor al 2.0 %². Estas lecturas no se consideran para el cálculo.

Una vez que se ha cumplido la adecuabilidad, proceder a leer solo una vez cada una de las soluciones de las curvas estándar preparadas a partir de las soluciones de referencia y determinar la absorbancia obtenida. Llevar a cabo el análisis de regresión lineal y verificar si cumple con el criterio de aceptación descrito en el numeral 4.4.3.5.2.1. Criterio de aceptación de la curva estándar para el método manual.

Terminado el tiempo de disolución tomar una alícuota de cada muestra (aproximadamente 10 mL) con ayuda de una jeringa adaptada con un filtro de polipropileno de 10 µm, transferir 5 mL de la muestra filtrada a un matraz volumétrico de 10 mL, llevar al volumen con medio de disolución, determinar la absorbancia y calcular el porcentaje disuelto de paracetamol de las soluciones muestra.

4.4.3.9. Cálculos.

4.4.3.9.1. Cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol para el método automatizado.

El porcentaje de Paracetamol disuelto se calcula por medio del programa de disolución de la estación de disolución, al transcurrir el tiempo de la prueba de disolución toma una muestra de cada vaso, determina la absorbancia de la

muestra y el programa determina el porcentaje disuelto mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Disuelto de Paracetamol} = (P2 \times Am^2) + (P1 \times Am) + P0$$

Donde:

Am^2 = Absorbancia de la solución muestra elevada al cuadrado.

Am = Absorbancia de la solución muestra.

Cuando la curva estándar es una recta o se desea definir como una, el coeficiente $P2$ de la ecuación se establece como cero. La ecuación se convierte ahora en:

$$\% \text{Disuelto de Paracetamol} = (P1 \times Am) + P0$$

Donde:

Am = Absorbancia de la solución muestra.

Para obtener el valor de los coeficientes de $P0$ y $P1$ se emplean las siguientes ecuaciones:

$$P0 = -\frac{b}{m}, P1 = \frac{1}{m} \text{ y } P2 = 0$$

Donde:

m = Pendiente de la recta de la curva de calibración.

b = Intersección en el eje de las ordenadas de la curva de calibración.

Al obtener las lecturas de la curva estándar, tabular los resultados y construir un gráfico de la absorbancia en función del porcentaje disuelto de Paracetamol y verificar si cumple con los criterios de aceptación del numeral 4.4.3.5.1.1. Criterio de aceptación de la curva estándar para el método automatizado, si la curva estándar cumple con los criterios emplearla para calcular los coeficientes del programa de disolución.

Calcular los coeficientes $P0$, $P1$ y $P2$ de cada curva estándar, posterior calcular el promedio de los coeficientes e introducirlos en el programa para el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol de las muestras.

El porcentaje disuelto de Paracetamol se calcula y se proporciona automáticamente al terminar el tiempo de disolución programado.

4.4.3.9.2. Cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol para el método manual.

El cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol se lleva a cabo por medio de las lecturas de la curva estándar al tabular y construir un gráfico de absorbancia en función del porcentaje disuelto de Paracetamol y verificar que cumplan con los criterios de aceptación.

El porcentaje disuelto de Paracetamol se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Disuelto de Paracetamol} = \frac{Am - b}{m} \times 2$$

Donde:

- Am = Absorbancia de la solución muestra.
- m = Pendiente de la recta de la curva de calibración.
- b = Intersección en el eje de las ordenadas de la curva de calibración.
- 2 = Factor de dilución.

4.4.3.10. Análisis estadístico^{4 y 10}.

Se realizará el cálculo del efecto de los factores estudiados sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución, empleando la siguiente ecuación⁴:

$$E_x = \frac{\sum Y(+)}{n/2} - \frac{\sum Y(-)}{n/2}$$

Donde:

- E_x = Efecto de X en respuesta a Y.
- X = Factores reales, factores falsos o la interacción de factores.
- $\sum y (+)$ = Suma de los respuestas de X en el nivel extremo positivo (nivel alto).

$\sum y (-)$ = Suma de las respuestas de X en el nivel extremo negativo (nivel bajo).
 n = Número de experimentos del diseño.

La interpretación de los efectos se llevará a cabo mediante la interpretación estadística, por medio de una prueba *t-student*, mediante la siguiente ecuación⁴:

$$E_{crítico} = t_{crítica(\alpha, n-1)} \times (SE)_e$$

Donde:

E_X = Efecto del factor X .
 $E_{crítico}$ = Efecto crítico.
 $t_{crítica}$ = Valor de t crítico.
 $(SE)_e$ = Error estándar del efecto.

El efecto crítico se calculará a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y con 7 grados de libertad.

El error estándar del efecto se calcula mediante la siguiente ecuación⁴:

$$(SE)_e = \sqrt{\frac{4s^2}{n}}$$

Donde:

$(SE)_e$ = Error estándar.
 s^2 = Varianza de la medición del experimento.
 n = Número de mediciones del experimento.

Para evaluar si los efectos de los factores estudiados son estadísticamente significativos, se evalúan las siguientes hipótesis en el experimento:

- H_0 : La diferencia del efecto del factor estudiado y el efecto crítico es igual a cero.
- H_a : La diferencia del efecto del factor estudiado y el efecto crítico es diferente de cero.

Para la toma de decisión se rechaza la hipótesis nula (Ho) si:

$$|E_X| > E_{crítico}$$

Y no se rechaza la hipótesis nula (Ho) si:

$$|E_X| < E_{crítico}$$

Para los factores que presentan efectos estadísticamente significativos, se estimará el intervalo donde se elimine el efecto del factor empleando la siguiente ecuación⁴:

$$\left[X_{(0)} - \frac{|X_{(1)} - X_{(-1)}| E_{crítico}}{2|E_X|}, X_{(0)} + \frac{|X_{(1)} - X_{(-1)}| E_{crítico}}{2|E_X|} \right]$$

Donde:

$X_{(0)}$ = Valor real nominal del factor X.

$X_{(1)}$ = Valor real a nivel alto del factor X.

$X_{(-1)}$ = Valor real a nivel bajo del factor X.

E_X = Efecto del factor X.

$E_{crítico}$ = Efecto crítico.

La comparación entre la metodología de disolución automatizada y manual se hace por medio de la prueba *t-student pareada* a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y con 3 grados de libertad por medio del programa estadístico Statgraphics Centurion®, empleando el siguiente algoritmo en cada corrida analítica¹⁰:

$$t_0 = \frac{\bar{d}}{S_d/\sqrt{n}}$$

Donde:

t_0 = Valor de *t-student pareada*

\bar{d} = Media muestral de las diferencias.

S_d = Desviación estándar muestral de las diferencias.

n = Número de muestras por corrida.

La prueba *t-student pareada* evalúa las siguientes hipótesis en cada una de las corridas analíticas:

- H_0 : La diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología automatizada y manual es igual a cero.
- H_a : La diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología automatizada y manual es diferente de cero.

Para la toma de decisión se rechaza la hipótesis nula (H_0) si:

$$t_{calculada} > t_{tabla(\alpha/2, n-1)}$$

Y no se rechaza la hipótesis nula (H_0) si:

$$t_{calculada} < t_{tabla(\alpha/2, n-1)}$$

5. Resultados y análisis de resultados.

5.1. Resultados de adecuabilidad del sistema, curvas de calibración y coeficientes del programa de disolución automatizada.

La respuesta determinada en el estudio de robustez fue el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución bajo diferentes condiciones de pH del medio de disolución, volumen del medio de disolución, desgasificación del medio de disolución, velocidad de agitación y longitud de onda de detección.

Antes de iniciar cada corrida analítica del estudio de robustez se verificó la adecuabilidad del sistema del método automatizado y manual, cumpliendo siempre con la especificación establecida en el protocolo ($C.V. \leq 2.0\%$), con lo cual se confirmó que el sistema es adecuado para llevar a cabo el estudio.

Posterior a la verificación del sistema se llevo a cabo la determinación de las curvas estándar tanto para el método de disolución automatizado como para el método manual obteniendo los siguientes resultados en las corridas.

Las tablas siguientes presentan resultados de las curvas estándar 1 del método automatizado y manual empleadas para las corridas 1, 5 y 7.

Tabla 5. Resultados de las absorbancia, concentración de Paracetamol, porcentaje disuelto nominal de Paracetamol y el factor de respuesta de las curvas estándar 1 del método automatizado y manual, empleadas para la corrida 1.

| Nivel | Disolución Automatizada | | | Disolución Manual | | |
|-------|-----------------------------|-----------------------------------|--------|-----------------------------|-----------------------------------|--------|
| | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto nominal de Paracetamol | Abs | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto nominal de Paracetamol | Abs |
| 0 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | 0.0 | 0.0 | 0.000 |
| 1 | 175.3 | 78.9 | 1.104 | 88.4 | 39.8 | 0.557 |
| 2 | 197.2 | 88.7 | 1.253 | 99.5 | 44.8 | 0.633 |
| 3 | 219.1 | 98.6 | 1.395 | 110.5 | 49.7 | 0.703 |
| 4 | 241.0 | 108.5 | 1.530 | 121.6 | 54.7 | 0.771 |
| 5 | 262.9 | 118.3 | 1.674 | 132.7 | 59.7 | 0.845 |
| | | m | 0.014 | | m | 0.014 |
| | | b | -0.002 | | b | -0.001 |
| | | r | 1.000 | | r | 1.000 |
| | | r² | 1.000 | | r² | 1.000 |
| | | Dictamen | Cumple | | Dictamen | Cumple |

m= Pendiente de la recta, b= Intersección en el eje de las ordenadas, r= coeficiente de correlación, r²= coeficiente de determinación.

Tabla 6. Resultados de las absorbancia, concentración de Paracetamol, porcentaje disuelto nominal de Paracetamol y el factor de respuesta de las curvas estándar 1 del método automatizado y manual, empleadas para la corrida 5.

| Nivel | Disolución Automatizada | | | Disolución Manual | | |
|-------|-----------------------------|-----------------------------------|--------|-----------------------------|-----------------------------------|--------|
| | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto nominal de Paracetamol | Abs | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto nominal de Paracetamol | Abs |
| 0 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | 0.0 | 0.0 | 0.000 |
| 1 | 176.1 | 79.2 | 1.098 | 88.4 | 39.8 | 0.557 |
| 2 | 198.1 | 89.1 | 1.230 | 99.5 | 44.8 | 0.633 |
| 3 | 220.1 | 99.0 | 1.360 | 110.5 | 49.7 | 0.703 |
| 4 | 242.1 | 108.9 | 1.465 | 121.6 | 54.7 | 0.771 |
| 5 | 264.1 | 118.9 | 1.642 | 132.7 | 59.7 | 0.845 |
| | | m | 0.014 | | m | 0.014 |
| | | b | 0.003 | | b | 0.002 |
| | | r | 1.000 | | r | 1.000 |
| | | r² | 0.999 | | r² | 0.999 |
| | | Dictamen | Cumple | | Dictamen | Cumple |

m= Pendiente de la recta, b= Intersección en el eje de las ordenadas, r= coeficiente de correlación, r²= coeficiente de determinación.

Tabla 7. Resultados de las absorbancia, concentración de Paracetamol, porcentaje disuelto nominal de Paracetamol y el factor de respuesta de las curvas estándar 1 del método automatizado y manual, empleadas para la corrida 7.

| Nivel | Disolución Automatizada | | | Disolución Manual | | |
|-------|-----------------------------|---------------------------|--------|-----------------------------|-----------------------------------|--------|
| | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto de Paracetamol | Abs | [] de Paracetamol en µg/mL | % Disuelto nominal de Paracetamol | Abs |
| 0 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | 0.0 | 0.0 | 0.000 |
| 1 | 175.3 | 78.9 | 1.056 | 88.4 | 39.8 | 0.533 |
| 2 | 197.2 | 88.7 | 1.171 | 99.5 | 44.8 | 0.591 |
| 3 | 219.1 | 98.6 | 1.330 | 110.5 | 49.7 | 0.670 |
| 4 | 241.0 | 108.5 | 1.442 | 121.6 | 54.7 | 0.727 |
| 5 | 262.9 | 118.3 | 1.600 | 132.7 | 59.7 | 0.807 |
| | | m | 0.013 | | m | 0.013 |
| | | b | -0.004 | | b | -0.002 |
| | | r | 1.000 | | r | 1.000 |
| | | r² | 1.000 | | r² | 1.000 |
| | | Dictamen | Cumple | | Dictamen | Cumple |

m= Pendiente de la recta, b= Intersección en el eje de las ordenadas, r= coeficiente de correlación, r²= coeficiente de determinación.

El resto de los resultados obtenidos de las curvas estándar empleadas para las corridas analíticas del método automatizado y manual se presentan en el Anexo 1.

Las tablas 5, 6 y 7 con los resultados de las absorbancias y los porcentajes nominales disueltos de Paracetamol presentan para la disolución manual un intervalo de porcentaje disuelto entre 0.0 % y 59.7 %, esto se debe a la dilución que se le realiza a la muestra (5:10), para seguirla metodología manual validada. Para el cálculo final del porcentaje disuelto de Paracetamol por la metodología manual se toma en cuenta el factor de dilución para obtener el resultado correcto de las muestras.

Con los resultados obtenidos de las curvas de calibración del método automatizado, se demuestra que a pesar de presentar valores de absorbancia mayores a uno, la ley de Lambert Beer se cumple en todo el intervalo de trabajo, esto se debe a que la curva se comporta como una recta, lo cual nos indica que la cantidad de luz absorbida por el Paracetamol es proporcionalmente lineal a su concentración, esto se puede basar a que el coeficiente de absortividad molar no presenta una variación en el intervalo de concentración de 177.6 $\mu\text{g/mL}$ a 266.4 $\mu\text{g/mL}$, lo que demuestra que el Paracetamol no presenta fenómenos de dispersión de la luz y/o agregación de moléculas en el medio de disolución empleado. Sin embargo más adelante mediante la comparación de la metodología de disolución automatizada y manual, se podrá concluir que el intervalo de concentraciones de la curva estándar del método automatizado no afecta la cuantificación del porcentaje disuelto de Paracetamol por esta metodología.

Todas las curvas estándar empleadas en las corridas de ambas metodologías cumplen con los criterios de aceptación especificados en el protocolo del estudio de robustez del método analítico de disolución ($r = 0.98 - 1.00$, $r^2 > 0.995$ y $\text{CV} \leq 2.0\%$), con base en lo cual se aceptan todas las curvas estándar para calcular los coeficientes del programa de disolución automatizado y para ser empleadas en el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol por el método manual.

Los coeficientes (P0, P1 y P2) empleados en el programa de disolución automatizado de las corridas analíticas para el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol se presentan a continuación.

Tabla 8. Coeficientes calculados para el programa de disolución automatizada de las corridas analíticas.

| Corrida | P0 | P1 | P2 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | -0.232 | 70.715 | 0 |
| 2 | 0.145 | 68.933 | 0 |
| 3 | -0.164 | 69.606 | 0 |
| 4 | 0.568 | 65.787 | 0 |
| 5 | -0.066 | 72.262 | 0 |
| 6 | 0.513 | 66.290 | 0 |
| 7 | -0.292 | 74.737 | 0 |
| 8 | 0.853 | 67.769 | 0 |

Nota. Los valores de los coeficientes son el promedio de las dos curvas estándar empleadas para cada corrida.

La curva estándar de la metodología automatizada se ajusta a una recta conllevando a que el coeficiente P2 se descarte dentro del cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol, con base a lo cual el coeficiente que se introduce dentro del programa de disolución automatizada es el valor de cero para este factor.

Al ajustar la curva a una recta el coeficiente P1 representa el factor con mayor influencia en la determinación del porcentaje disuelto de Paracetamol durante el cálculo automático del programa de disolución automatizado, así que se debe de introducir el valor hasta milésimas, ya que es la sensibilidad que maneja el programa.

Los valores del coeficiente P0 calculado para cada corrida muestran valores por debajo de uno, su variación no representa un factor que afecte de manera significativa durante el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol, por lo anterior los valores negativos de este coeficiente no se pueden emplear para calcular la respuesta y al programa se introduce el valor de cero.

5.2. Resultados del porcentaje disuelto de Paracetamol.

Después de verificar la adecuabilidad de los sistemas, las curvas de calibración y de calcular los coeficientes del programa de disolución automatizada, se llevaron a cabo las corridas analíticas como se indican en el protocolo del estudio de robustez, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 9. Resultados promedios del porcentaje disuelto de Paracetamol, mediante la metodología automatizada.

| Corrida | Factores | | | | | | | % Disuelto de Paracetamol | | | | \bar{x} | D.E. | C.V. (%) |
|---------|-----------|---------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------|--------|--------|-----------|------|----------|
| | (A) pH | (B) Factor falso | (C) Volumen (mL) | (D) Desgasificación | (E) Factor falso | (F) Velocidad (rpm) | (G) Longitud de detección (nm) | Vaso 1 | Vaso 2 | Vaso 3 | Vaso 4 | | | |
| 1 | 5.85 | --- | 890 | Si | --- | 55 | 248 | 103.3 | 104.7 | 104.1 | 102.9 | 103.8 | 0.8 | 0.8 |
| 2 | 5.85 | --- | 890 | No | --- | 45 | 248 | 100.8 | 102.6 | 101.7 | 100.4 | 101.4 | 1.0 | 1.0 |
| 3 | 5.85 | --- | 910 | No | --- | 55 | 238 | 103.3 | 107.0 | 103.5 | 104.9 | 104.7 | 1.7 | 1.6 |
| 4 | 5.75 | --- | 910 | Si | --- | 45 | 248 | 97.8 | 96.6 | 97.5 | 96.3 | 97.0 | 0.8 | 0.8 |
| 5 | 5.85 | --- | 910 | Si | --- | 45 | 238 | 97.2 | 95.2 | 98.9 | 95.1 | 96.6 | 1.8 | 1.9 |
| 6 | 5.75 | --- | 890 | Si | --- | 55 | 238 | 104.3 | 102.1 | 101.7 | 105.3 | 103.3 | 1.7 | 1.7 |
| 7 | 5.75 | --- | 910 | No | --- | 55 | 248 | 104.5 | 105.2 | 106.7 | 104.3 | 105.2 | 1.1 | 1.0 |
| 8 | 5.75 | --- | 890 | No | --- | 45 | 238 | 97.4 | 99.0 | 97.8 | 99.1 | 98.3 | 0.9 | 0.9 |

\bar{x} = Promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol, D.E.= Desviación estándar, C.V.= Coeficiente de variación.

Tabla 10. Resultados promedios del porcentaje disuelto de Paracetamol, mediante la metodología manual.

| Corrida | Factores | | | | | | | % Disuelto de Paracetamol | | | | \bar{x} | D.E. | C.V. (%) |
|---------|-----------|---------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------|--------|--------|-----------|------|----------|
| | (A) pH | (B) Factor falso | (C) Volumen (mL) | (D) Desgasificación | (E) Factor falso | (F) Velocidad (rpm) | (G) Longitud de detección (nm) | Vaso 1 | Vaso 2 | Vaso 3 | Vaso 4 | | | |
| 1 | 5.85 | --- | 890 | Si | --- | 55 | 248 | 104.0 | 102.2 | 104.6 | 103.3 | 103.5 | 1.0 | 1.0 |
| 2 | 5.85 | --- | 890 | No | --- | 45 | 248 | 102.6 | 101.9 | 101.7 | 100.1 | 101.6 | 1.1 | 1.0 |
| 3 | 5.85 | --- | 910 | No | --- | 55 | 238 | 104.1 | 101.4 | 104.8 | 105.7 | 104.0 | 1.8 | 1.8 |
| 4 | 5.75 | --- | 910 | Si | --- | 45 | 248 | 97.7 | 98.6 | 95.8 | 97.0 | 97.3 | 1.2 | 1.2 |
| 5 | 5.85 | --- | 910 | Si | --- | 45 | 238 | 99.5 | 97.1 | 96.6 | 94.4 | 96.9 | 2.1 | 2.1 |
| 6 | 5.75 | --- | 890 | Si | --- | 55 | 238 | 105.3 | 103.1 | 103.5 | 100.9 | 103.2 | 1.8 | 1.7 |
| 7 | 5.75 | --- | 910 | No | --- | 55 | 248 | 103.0 | 105.8 | 104.2 | 106.7 | 104.9 | 1.7 | 1.6 |
| 8 | 5.75 | --- | 890 | No | --- | 45 | 238 | 98.0 | 96.8 | 99.7 | 97.5 | 98.0 | 1.2 | 1.2 |

\bar{x} = Promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol, D.E.= Desviación estándar, C.V.= Coeficiente de variación.

Los resultados obtenidos del porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución bajo las condiciones indicadas, son aceptadas con base a que cumple con los criterios de aceptación especificados en el protocolo de robustez del método analítico de disolución (porcentaje disuelto de Paracetamol ≥ 80 % y C.V. ≤ 5.0 %), obteniendo un coeficiente de variación entre los diferentes vasos en los que se llevo a cabo el estudio un valor por debajo del 5.0 %, por lo cual no se repitió ningún corrida analítica para ambas metodologías, sin embargo la disolución manual muestra una variación mayor con respecto a la automatizado, lo que tentativamente implica una variabilidad más alta debido al empleo de un número mayor de pasos durante el procesamiento de la muestra, demostrando tentativamente que la metodología manual puede comprometer el resultado analítico de la prueba, sin embargo se necesita de mayor información para confirmarlo.

5.3. Cálculo de efectos e interpretación.

Al aprobar los resultados obtenidos de las muestras por la metodología automatizada y manual se llevo a cabo el cálculo de los efectos de los factores estudiados los cuales se calcularon con la siguiente ecuación⁴:

$$E_x = \frac{\sum Y(+)}{n/2} - \frac{\sum Y(-)}{n/2}$$

Ejemplo para el cálculo del factor pH del medio de disolución (factor A):

$$E_x = \frac{406.427}{8/2} - \frac{403.858}{8/2} = 101.607 - 100 - 965 = 0.642$$

Los efectos de los factores restantes se calcularon de la misma forma, los resultados se muestran en las tablas siguientes:

Tabla 11. Resultados de los efectos calculados de los factores estudiados en la robustez del método de disolución automatizada.

| Corrida / Factor | A | B | C | D | E | F | G |
|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | 103.753 | -103.753 | -103.753 | 103.753 | -103.753 | 103.753 | 103.753 |
| 2 | 101.374 | 101.374 | -101.374 | -101.374 | 101.374 | -101.374 | 101.374 |
| 3 | 104.697 | 104.697 | 104.697 | -104.697 | -104.697 | 104.697 | -104.697 |
| 4 | -97.029 | 97.029 | 97.029 | 97.029 | -97.029 | -97.029 | 97.029 |
| 5 | 96.602 | -96.602 | 96.602 | 96.602 | 96.602 | -96.602 | -96.602 |
| 6 | -103.345 | -103.345 | -103.345 | 103.345 | 103.345 | 103.345 | -103.345 |
| 7 | -105.162 | 105.162 | 105.162 | -105.162 | 105.162 | 105.162 | 105.162 |
| 8 | -98.322 | -98.322 | -98.322 | -98.322 | -98.322 | -98.322 | -98.322 |
| $\sum y (+)$ | 406.427 | 406.445 | 403.490 | 400.730 | 406.483 | 416.958 | 407.318 |
| $\sum y (-)$ | 403.858 | 403.840 | 406.795 | 409.555 | 403.801 | 393.327 | 402.966 |
| n | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Efecto | 0.642 | 0.651 | -0.826 | -2.206 | 0.671 | 5.908 | 1.088 |

n = Número de experimentos del diseño.

Posterior al cálculo de los efectos de la metodología automatizada de disolución se realizó la interpretación estadística de los efectos, para determinar cuáles presentan un efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad en el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución, para lo cual se realizó el cálculo la varianza, el error estándar y el efecto crítico, para aplicar la regla de toma de decisión. Para el cálculo del efecto crítico se llevo a cabo mediante la siguiente ecuación⁴:

$$E_{crítico} = t_{crítica(\alpha, n-1)} \times (SE)_e$$

Para el cálculo del error estándar se empleó la siguiente ecuación⁴:

$$(SE)_e = \sqrt{\frac{4s^2}{n}}$$

Sustituyendo la ecuación del cálculo del error estándar en la ecuación para el cálculo del efecto crítico, quedando de la siguiente manera:

$$E_{crítico} = t_{crítica(\alpha, n-1)} \times \sqrt{\frac{4s^2}{n}}$$

Ejemplo para el cálculo del error crítico del factor pH del medio de disolución (factor A):

$$E_{crítico} = 1.8946_{(0.05,7)} \times \sqrt{\frac{4 \times 12.370}{8}} = 1.8946 \times 2.487 = 4.712$$

Los efectos críticos de los factores restantes se calcularon de la misma forma, los resultados se muestran en las tablas siguientes:

Tabla 12. Resultados de varianza, error estándar, efecto crítico y toma de decisión respecto al efecto de cada factor en el porcentaje disuelto de Paracetamol por el método automatizado.

| Factor | Efecto | s² | (SE) | t_(0.05,7)* | Efecto crítico | Decisión |
|---------------|---------------|----------------------|-------------|------------------------------|-----------------------|------------------|
| A | 0.642 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |
| B | 0.651 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |
| C | -0.826 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |
| D | -2.206 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |
| E | 0.671 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |
| F | 5.908 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | Se rechaza Ho |
| G | 1.088 | 12.370 | 2.487 | 1.8946 | 4.712 | No se rechaza Ho |

*El valor de $t_{\text{tabla}(0.05, 7)}$ ³⁰.
 s^2 = Varianza, (SE) = Error estándar.

Tabla 13. Resultados de los efectos calculados de los factores estudiados en la robustez del método de disolución manual.

| Corrida / Factor | A | B | C | D | E | F | G |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | 103.510 | -103.510 | -103.510 | 103.510 | -103.510 | 103.510 | 103.510 |
| 2 | 101.559 | 101.559 | -101.559 | -101.559 | 101.559 | -101.559 | 101.559 |
| 3 | 103.993 | 103.993 | 103.993 | -103.993 | -103.993 | 103.993 | -103.993 |
| 4 | -97.276 | 97.276 | 97.276 | 97.276 | -97.276 | -97.276 | 97.276 |
| 5 | 96.907 | -96.907 | 96.907 | 96.907 | 96.907 | -96.907 | -96.907 |
| 6 | -103.214 | 103.214 | -103.214 | 103.214 | 103.214 | 103.214 | -103.214 |
| 7 | -104.947 | -104.947 | 104.947 | -104.947 | 104.947 | 104.947 | 104.947 |
| 8 | -98.008 | -98.008 | -98.008 | -98.008 | -98.008 | -98.008 | -98.008 |
| Σ y (+) | 405.970 | 406.043 | 403.123 | 400.907 | 406.628 | 415.665 | 407.292 |
| Σ y (-) | 403.446 | 403.372 | 406.292 | 408.508 | 402.788 | 402.788 | 402.123 |
| n | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Efecto | 0.631 | 0.668 | -0.792 | -1.900 | 0.960 | 5.478 | 1.292 |

n = Número de experimentos del diseño.

De igual manera que a los efectos de la metodología manual se realizó la interpretación estadística de los efectos, para determinar cuáles presentan un efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 7 grados de libertad en el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución, para lo cual se realizó el cálculo la varianza, el error estándar y el efecto crítico, para aplicar la regla de toma de decisión.

Tabla 14. Resultados de varianza, error estándar, efecto crítico y toma de decisión respecto al efecto de cada factor en el porcentaje disuelto de Paracetamol por el método manual.

| Factor | Efecto | s² | (SE) | t_(0.05,7)* | Efecto crítico | Decisión |
|---------------|---------------|----------------------|-------------|------------------------------|-----------------------|------------------|
| A | 0.631 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |
| B | 0.668 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |
| C | -0.792 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |
| D | -1.900 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |
| E | 0.960 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |
| F | 5.478 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | Se rechaza Ho |
| G | 1.292 | 11.540 | 2.402 | 1.8946 | 4.551 | No se rechaza Ho |

*El valor de $t_{\text{tabla}(0.05, 7)}$ ³⁰.
 s^2 = Varianza, (SE) = Error estándar.

Al analizar el efecto de los factores sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol por el método de disolución automatizada y manual, encontramos para ambos casos que la velocidad de la agitación únicamente presenta un efecto estadísticamente significativo sobre la respuesta a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 7 grados de libertad.

Mediante la determinación del efecto de los factores sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol, se puede denotar que los factores falsos muestran los valores más bajos de los efectos junto con el pH del medio de disolución, lo cual nos hace un indicativo sobre el ruido que presentan los sistemas de disolución, con base en lo anterior se comprueba que el ruido no presenta un efecto estadísticamente

significativo en el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución, comprobando que el ruido del sistema es adecuado.

El pH del medio de disolución impone el grado de ionización de las moléculas en solución, sin embargo la variación que se estudia en la robustez del método analítico de disolución automatizado no representa un factor que afecte significativamente, con base a que el Paracetamol se encuentra en un pH donde no afecta su ionización ya que al presentar un carácter de ácido débil con un pka de 9.46³¹, nos indica que el Paracetamol siempre se encuentra en su forma no ionizada en el intervalo de pH estudiado en todas la corridas analíticas.

El volumen del medio de disolución es un factor que normalmente se cuida durante el desarrollo de la prueba de disolución, ya que presenta un efecto directo en el cálculo del porcentaje disuelto, sin embargo los resultados muestran que no presenta un efecto estadísticamente significativo en la respuesta en el intervalo de 890 a 910 mL del medio, indicando que la pequeña variación del volumen no afecta el cálculo del porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución.

La longitud de onda de detección no presentó un efecto estadísticamente significativo en el porcentaje disuelto de Paracetamol, esto se debe a que durante la detección del analito se encontraba dentro de una longitud de máxima absorción conllevando ninguna alteración en la cuantificación. Se comprueba al igual que en el estudio realizado por A. Khaskheli y colaboradores²⁴, que no existe una interferencia en la determinación de Paracetamol por otros fármacos presentes en la muestra en proporción 1:1, ya que el estudio se realizo con un producto multifármaco.

La desgasificación del medio de disolución, fue otro de los factores que no presentó efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol, lo cual no indica que el exceso de aire depositado en el medio en

forma de burbujas finas depositados en las paredes de los vasos y en la superficie del medio de disolución, no modificando significativamente las condiciones hidrodinámicas del sistema de difusión del fármaco disuelto. El valor elevado del efecto de este factor, más no significativo se puede deber a las burbujas que rodean la superficie de la forma farmacéutica empleada, provocando que zonas de la tableta no se encuentre humectadas correctamente, lo cual conlleva a la reducción de la superficie libre para la disolución del fármaco en el medio de disolución.

La velocidad de agitación es el único factor que presenta un efecto estadístico significativo en el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución, lo cual se explica por medio del contacto directo entre las partículas del soluto no disueltas y las moléculas del medio de disolución que aún no se unen a las partículas del soluto, es decir al aumentar la velocidad de agitación el contacto entre las moléculas de la forma farmacéutica y del medio de disolución aumentaran conllevando con ello un mayor porcentaje disuelto del analito, mientras que al disminuir la velocidad el contacto será menor provocando una disminución en la respuesta medida^{32 y 33}. Este factor puede ser afectado por el alineamiento, centrado y excentricidad del aparato que se usa en el método de disolución por tal motivo se realizó la calibración del disolutor y el reporte se presenta en el Anexo 2, para confirmar que estos factores no intervinieron durante el estudio.

5.4. Cálculo del intervalo de los factores donde se elimina el efecto sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol.

A los factores que presentan efectos estadísticamente significativos de la metodología de disolución automatizada y manual, se les estimó el intervalo real donde se elimine el efecto en el porcentaje de disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución.

Para ambos metodologías el único factor que presentó efecto significativo en la respuesta fue la velocidad de agitación, por lo cual en la siguiente tabla se muestra el intervalo real calculado donde se elimina el efecto sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución.

Tabla 15. Intervalo real de la velocidad de agitación donde el factor no presenta efecto significativo sobre la respuesta.

| | Metodología automatizada | Metodología manual |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------|
| Valor nominal | 50 rpm | 50 rpm |
| Valor real bajo (-1) | 45 rpm | 45 rpm |
| Valor Real alto (1) | 55 rpm | 55 rpm |
| Efecto | 5.908 | 5.478 |
| Efecto crítico | 4.712 | 4.551 |
| Intervalo sin efecto | 46 a 54 rpm | 46 a 54 rpm |

El nuevo intervalo donde la velocidad de agitación no presenta un efecto significativo en el porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución para la metodología automatizada y manual de disolución es de 46 a 54 rpm.

5.5. Comparación de la metodología de disolución automatizada y manual.

La comparación de las metodologías de disolución automatizada y manual se realizó por medio la prueba *t-student pareada* como se indica en el protocolo, la cual se llevo a cabo por medio del programa estadístico Statgraphics Centurion®.

La prueba estadística se realizó por separado en cada una de las corridas analíticas, ya que para llevarse a cabo la comparación de las metodologías, los factores de la disolución deben ser iguales para ambos casos.

La prueba *t-student pareada* se realiza a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 3 grados de libertad, la cual evaluó las siguientes hipótesis para cada corrida analítica:

- Ho: La diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología de disolución automatizada y manual es igual a cero.
- Ha: La diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología de disolución automatizada y manual es diferente de cero.

A continuación se muestran los resultados de la prueba *t-student pareada*, para la verificación de la confiabilidad de la metodología de disolución automatizada para una forma farmacéutica sólida conteniendo Paracetamol.

Tabla 16. Resultados del cálculo de la *t-student pareada* y toma de decisión respecto a la diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología de disolución automatizada y manual, en las corridas analíticas del estudio.

| Corrida | $t_{\text{calculada}}$ | $t_{\text{tabla (0.025, 3)}}$ * | Decisión |
|---------|------------------------|---------------------------------|------------------|
| 1 | -0.2957 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 2 | 0.3621 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 3 | -0.4101 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 4 | 0.3208 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 5 | 0.2746 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 6 | -0.1050 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 7 | -0.2285 | 3.1824 | No se rechaza Ho |
| 8 | -0.3403 | 3.1824 | No se rechaza Ho |

*El valor de $t_{\text{tabla (0.025, 3)}}$ ³⁰.

Los resultados completos del programa estadístico de la prueba *t-student pareada* se presentan en el Anexo 3.

Los resultados de la prueba *t-student pareada* acepta la hipótesis nula (Ho) lo que significa que la diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol de la metodología de disolución automatizada y manual es igual a cero, lo cual interpreta que no existe diferencia significativa a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 3 grados de libertad, entre la metodología automatizada con respecto a la manual para la prueba de disolución de una forma farmacéutica sólida conteniendo Paracetamol, en todas las corridas analíticas realizadas en el estudio de robustez.

En base a lo anterior confirmamos que la metodología de disolución automatizada es confiable para la prueba de disolución de una forma farmacéutica sólida conteniendo Paracetamol.

Al no encontrar una diferencia significativa entre la metodología de disolución automatizada con respecto a la manual, se demuestra que el intervalo de concentraciones de la curva de calibración de la disolución automatizada y las absorbancias obtenidas de estas, cumplen en todo momento con la Ley de Lambert Beer, por lo cual se pueden emplear para la cuantificación del porcentaje disuelto de Paracetamol, ya que no presenta algún efecto o error durante el cálculo de la respuesta.

6. Conclusiones.

- Se calculó el efecto de los factores para la disolución automatizada y manual, sobre el porcentaje disuelto de paracetamol obteniendo los siguientes resultados respectivamente:
 - pH del medio de disolución: 0.642 y 0.631
 - Volumen del medio de disolución: -0.826 y -0.792
 - Desgasificación del medio de disolución: -2.206 y -1.900
 - Velocidad de la agitación: 5.908 y 5.478
 - Longitud de onda de detección: 1.088 y 1.292
- El único factor que presentó un efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 7 grados de libertad, sobre el porcentaje disuelto de Paracetamol a los 30 minutos por el método de disolución automatizada y manual es la velocidad de agitación.
- El método de disolución automatizada y manual es robusto a los siguientes intervalos:
 - pH del medio de disolución: 5.75 a 5.85
 - Volumen del medio de disolución: 890 a 910mL.
 - Desgasificación del medio de disolución: no desgasificado y desgasificado.
 - Velocidad de agitación: 46 a 54rpm.
 - Longitud de onda de detección: 238 a 248nm.
- Se confirmó la confiabilidad de la metodología de disolución automatizada por medio de la comparación con la metodología manual, con base a los resultados de la prueba *t-student pareada* a una nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con 3 grados de libertad, donde no se observó diferencia del promedio del porcentaje disuelto de Paracetamol después de 30 minutos de disolución entre las metodologías en todas las corridas analíticas del estudio de robustez.
- Se determinó que el intervalo de concentración de la curva estándar de la disolución automatizada no presenta efectos o errores para el cálculo del

porcentaje disuelto de Paracetamol, por medio del programa de disolución automatizado.

- Se concluyó que el intervalo de trabajo de la metodología de disolución automatizada cumple en todo momento con la ley de Lambert Beer.

7. Bibliografía.

1. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 10ª ed., México, 2011.
2. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, Guía de validación de métodos analíticos, 2ª ed., México, 2002.
3. I. Molnar, H.-J Rieger, K.E. Monks, Aspects of the “Design Space” in high pressure liquid chromatography method development, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 3193-3200.
4. Y. Vander Heyden, A. Nijhuis, J. Smeyers-Verbeke, B.G.M. Vandeginste, D.L. Massart, Guidance for robustness/ruggedness test in method validation, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24 (2001) 723-753.
5. J.A. Van Leeuwen, L.M.C. Buydens, B.G.M. Vandeginste, G. Kateman, P.J. Schoenmakers, M. Mullholland, RES, an expert system for the set-up and interpretation of a ruggedness test in HPLC method validation. Part 1: The ruggedness test in HPLC method validation, *Chemometrics and Intelligent Laboratory systems*, 10 (1991) 337-347.
6. D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi and J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*, Elsevier, Amsterdam, 1997.
7. Guidelines prepared within the International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use (ICH), *Validation of Analytical Procedure, Q2A Definitions and Terminology*, Geneva, 1995.
8. G. Pulido, *Análisis y diseño de experimentos*, Mc Graw Hill, México, 2008.
9. Lynn D. Torbeck, *Pharmaceutical and medical device validation by experimental design*, informa Healthcare, London, UK, 2007, p. 3-7, 18-29.
10. C. Montgomery, *Diseño y análisis de experimentos*, John Wiley & Sons, 2ª ed., México, 2008.
11. J. Ermer, J. H. McB. Miller, *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*, Wiley-VCH, Germany, 2005, p. 120-159.

- 12.R.L. Plackett, J.P. Burman, The design of optimum multifactorial experiments, *Biometrika* 33 (1946) 305-325.
- 13.H. Fabre, Robustness testing in liquid chromatography and capillary electrophoresis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 14 (1996) 1125-1132.
- 14.Y. Vander Heyden, F. Questier, L. Massart, Ruggedness testing of chromatographic methods: selection of factors and levels, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18 (1998) 43-56.
- 15.M. Mulholland, Ruggedness testing in analytical chemistry, *TRAC*, 7 (1988) 383-389.
- 16.J.C. Miller, J.N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, Ellis Horwood, United States, 1993, p. 53-59.
- 17.Y. Vander Heyden, F. Questier, D.L. Massart, A ruggedness test strategy for procedures related factors: experimental set-up and interpretation, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17 (1998) 153-168.
- 18.Ge Bai, M. Armenante, V. Plank, M. Gentzler, K. Ford, P. Harmon, Hydrodynamic Investigation of USP Dissolution Test Apparatus II, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96 (2007) 2327-2349.
- 19.Ge Bai, M. Armenante, Hydrodynamic, Mass Transfer, and Dissolution Effects Induced by Tablet Location during Dissolution Testing, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98 (2009) 1511-1531.
- 20.Guidance prepared by the Immediate Release Expert Working Group of Biopharmaceutics Coordinating Committee in the Center for Drug Evaluation and Research at the Food and Drug Administration, *Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*, United States, 1997.
- 21.Joint report of the section for Official Laboratories and Medicines Control Services and the section of Industrial Pharmacists of the F.I.P., *Fip Guidelines for Dissolution Testing of Solid Oral Products*, Estados Unidos de América 1999.

- 22.E. Cárcamo, Cinética de disolución farmacocinética biodisponibilidad, Control de calidad biofarmaceutico de medicamentos, Biblioteca Digital Universidad de Chile, 1992.
- 23.A. Criado, S. Cárdenas, M. Gallego, Continuous flow spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceuticals following continuous microwave assisted alkaline hydrolysis, *Talanta* 53 (2000) 417-423.
- 24.A. Khaskheli, A. Shah, Simpler spectrophotometric assay of paracetamol in tablets and urines samples, *Spectrochimica Acta Part A* 68 (2007) 747-751.
- 25.N. Abril, A. Ruiz, E. Fernández, A. Galván, J. Jorrín, J. Pinedo, Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, España, 2002, p. 1-8.
- 26.D.Harris, Análisis químico cuantitativo, 3ª ed., Reverté, España, 2003, p. 407-493.
- 27.M. Valcárcel, M. S. Cárdenas, Automatización y miniaturización en química analítica, Springer-Verlag Ibérica, 1ª ed., España, 2000, p., 1-30.
- 28.A. Skoog, J. Holler, R. Crouch, Principio de análisis instrumental, Ceangage Learning, 6ª ed. México, 2008, p. 929-942.
- 29.H. Doddapaneni, J. Jushchyshyn, Enhanced decision making from dissolution automation, *Dissolution Technologies* 6 (1999) 16-18.
- 30.P. Armitage, G. Berry, J.N.S. Matthews, Statistical Methods in Medical Research. 4ª ed., Blackwell Publishing, United States, 1994. p. 748-749.
31. DrugBank [base de datos en Internet], Canada [actualizada el 08 de febrero de 2013], Disponible en: <http://www.drugbank.ca/>
- 32.R. Gennaro, Remington Farmacia, 20ª ed., Editorial médica panamericana, Argentina, 2003, p. 764-781.
- 33.W. Daub, S. Seese, Química, 7ª ed., Pearson Educación, México, 1996, p. 365-370.

Anexo 1. Resultados analíticos.

Corrida 1 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 1 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 1 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.428 | 8 |
| RA 1-2 | 3.428 | 8 |
| RA 1-3 | 3.428 | 8 |
| RA 1-4 | 3.428 | 8 |
| RA 1-5 | 3.428 | 8 |
| Promedio | 3.428 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.104 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.253 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.395 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.530 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.674 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.002 | DE | 0.0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 0.4 |
| | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 70.734 | 0.163 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.164 | | 7 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.258 | | 6 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.392 | | 6 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.534 | | 6 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.679 | | 6 | |
| | | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | | b | 0.009 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.9 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 70.695 | -0.627 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 70.715 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = -0.232 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.464 | 103.3 | 103.3 |
| Vaso 3 | 1.484 | 104.7 | 104.7 |
| Vaso 4 | 1.476 | 104.1 | 104.1 |
| Vaso 5 | 1.458 | 102.9 | 102.9 |
| Promedio | | 103.8 | 103.8 |
| DE | | 0.8 | 0.8 |
| C.V. (%) | | 0.8 | 0.8 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 2 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 2 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 2 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.1 | 98.7 | 21.8 | 50 | 436.3 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.420 | 8 |
| RA 1-2 | 3.420 | 8 |
| RA 1-3 | 3.420 | 8 |
| RA 1-4 | 3.420 | 8 |
| RA 1-5 | 3.420 | 8 |
| Promedio | 3.420 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 174.5 | 78.5 | 1.095 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 196.3 | 88.3 | 1.271 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 218.1 | 98.2 | 1.396 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 239.9 | 108.0 | 1.583 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 261.8 | 117.3 | 1.678 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.007 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.8 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 69.494 | 0.455 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.163 | | 7 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.306 | | 7 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.425 | | 7 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.612 | | 7 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.719 | | 7 | |
| | | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | | b | 0.002 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.1 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 68.373 | -0.165 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 68.993 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = 0.145 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.460 | 100.8 | 100.8 |
| Vaso 3 | 1.487 | 102.6 | 102.6 |
| Vaso 4 | 1.473 | 101.7 | 101.7 |
| Vaso 5 | 1.454 | 100.4 | 100.4 |
| Promedio | | 101.1 | 101.1 |
| DE | | 1.0 | 1.0 |
| C.V. (%) | | 1.0 | 1.0 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 3 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 3 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 3 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|---------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.412 | 8 |
| RA 1-2 | 3.412 | 8 |
| RA 1-3 | 3.412 | 8 |
| RA 1-4 | 3.412 | 8 |
| RA 1-5 | 3.412 | 8 |
| Promedio | 3.412 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.155 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.236 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.427 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.560 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.700 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.000 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.8 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 69.662 | -0.010 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.169 | | 7 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.262 | | 6 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.420 | | 6 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.558 | | 6 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.707 | | 6 | |
| | | | | | m | 0.014 | Promedio | 7 |
| | | | | | b | 0.005 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 69.549 | -0.318 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 69.606 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = -0.164 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.487 | 103.3 | 103.3 |
| Vaso 3 | 1.540 | 107.0 | 107.0 |
| Vaso 4 | 1.490 | 103.5 | 103.5 |
| Vaso 5 | 1.509 | 104.9 | 104.9 |
| Promedio | | 104.7 | 104.7 |
| DE | | 1.7 | 1.7 |
| C.V. (%) | | 1.6 | 1.6 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 4 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 4 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 4 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.3 | 98.7 | 22.0 | 50 | 440.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.431 | 8 |
| RA 1-2 | 3.431 | 8 |
| RA 1-3 | 3.431 | 8 |
| RA 1-4 | 3.431 | 8 |
| RA 1-5 | 3.431 | 8 |
| Promedio | 3.431 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.170 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.332 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.496 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.637 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.813 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.009 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.2 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 65.714 | 0.595 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 176.1 | 79.2 | 1.190 | | 7 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 198.1 | 89.1 | 1.334 | | 7 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 220.1 | 99.0 | 1.481 | | 7 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 242.1 | 108.9 | 1.630 | | 7 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 264.1 | 118.9 | 1.835 | | 7 | |
| | | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | | b | -0.008 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.4 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 65.861 | 0.541 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 65.787 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = 0.568 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.478 | 97.8 | 97.8 |
| Vaso 3 | 1.459 | 96.6 | 96.6 |
| Vaso 4 | 1.474 | 97.5 | 97.5 |
| Vaso 5 | 1.454 | 96.2 | 96.2 |
| Promedio | | 97.0 | 97.0 |
| DE | | 0.8 | 0.8 |
| C.V. (%) | | 0.8 | 0.8 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 5 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 5 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 5 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.3 | 98.7 | 22.0 | 50 | 440.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.4 | 98.7 | 22.1 | 50 | 442.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.440 | 8 |
| RA 1-2 | 3.440 | 8 |
| RA 1-3 | 3.440 | 8 |
| RA 1-4 | 3.440 | 8 |
| RA 1-5 | 3.440 | 8 |
| Promedio | 3.440 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 176.1 | 79.2 | 1.098 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 198.1 | 89.1 | 1.230 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 220.1 | 99.0 | 1.360 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 242.1 | 108.9 | 1.465 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 264.1 | 118.9 | 1.642 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.003 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.2 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 73.089 | -0.235 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 176.9 | 79.6 | 1.102 | | 6 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 199.0 | 89.5 | 1.256 | | 6 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 221.1 | 99.5 | 1.400 | | 6 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 243.2 | 109.4 | 1.527 | | 6 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 265.3 | 119.4 | 1.670 | | 6 | |
| | | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | | b | -0.001 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 0.6 |
| | | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 71.436 | 0.102 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 72.262 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = -0.066 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.346 | 97.2 | 97.2 |
| Vaso 3 | 1.318 | 95.2 | 95.2 |
| Vaso 4 | 1.370 | 98.9 | 98.9 |
| Vaso 5 | 1.317 | 95.1 | 95.1 |
| Promedio | | 96.6 | 96.6 |
| DE | | 1.8 | 1.8 |
| C.V. (%) | | 1.9 | 1.9 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 6 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 6 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 6 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.1 | 98.7 | 21.8 | 50 | 436.3 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.426 | 8 |
| RA 1-2 | 3.426 | 8 |
| RA 1-3 | 3.426 | 8 |
| RA 1-4 | 3.426 | 8 |
| RA 1-5 | 3.426 | 8 |
| Promedio | 3.426 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.162 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.334 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.448 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.614 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.803 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.008 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 66.541 | 0.534 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 174.5 | 78.5 | 1.166 | | 7 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 196.3 | 88.3 | 1.343 | | 7 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 218.1 | 98.2 | 1.451 | | 7 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 239.9 | 108.0 | 1.618 | | 7 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 261.8 | 117.8 | 1.809 | | 7 | |
| | | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | | b | -0.007 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.6 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 66.039 | 0.493 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 66.290 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = 0.513 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.566 | 104.3 | 104.3 |
| Vaso 3 | 1.533 | 102.1 | 102.1 |
| Vaso 4 | 1.526 | 101.7 | 101.7 |
| Vaso 5 | 1.580 | 105.3 | 105.3 |
| Promedio | | 103.3 | 103.3 |
| DE | | 1.7 | 1.7 |
| C.V. (%) | | 1.7 | 1.7 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 7 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 7 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 7 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.4 | 98.7 | 22.1 | 50 | 442.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.432 | 8 |
| RA 1-2 | 3.432 | 8 |
| RA 1-3 | 3.432 | 8 |
| RA 1-4 | 3.432 | 8 |
| RA 1-5 | 3.432 | 8 |
| Promedio | 3.432 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.056 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.171 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.330 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.442 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.600 | | 6 |
| | | | | m | 0.013 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.004 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.0 |
| | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 74.472 | 0.261 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 176.9 | 79.6 | 1.103 | | 6 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 199.0 | 89.5 | 1.223 | | 6 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 221.1 | 99.5 | 1.332 | | 6 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 243.2 | 109.4 | 1.441 | | 6 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 265.3 | 119.4 | 1.601 | | 6 | |
| | | | | | m | 0.013 | Promedio | 6 |
| | | | | | b | 0.011 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 2.0 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 75.002 | -0.844 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 74.737 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = -0.292 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.402 | 104.5 | 104.5 |
| Vaso 3 | 1.412 | 105.2 | 105.2 |
| Vaso 4 | 1.431 | 106.7 | 106.7 |
| Vaso 5 | 1.399 | 104.3 | 104.3 |
| Promedio | | 105.2 | 105.2 |
| DE | | 1.1 | 1.1 |
| C.V. (%) | | 1.0 | 1.0 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 8 Disolución automatizada.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 8 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 8 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RA 1 | 22.1 | 98.7 | 21.8 | 50 | 436.3 |
| Solución de Referencia 2 | RA 2 | 22.2 | 98.7 | 21.9 | 50 | 438.2 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 3.417 | 8 |
| RA 1-2 | 3.417 | 8 |
| RA 1-3 | 3.417 | 8 |
| RA 1-4 | 3.417 | 8 |
| RA 1-5 | 3.417 | 8 |
| Promedio | 3.417 | 8 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 174.5 | 78.5 | 1.108 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 196.3 | 88.3 | 1.270 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 218.1 | 98.2 | 1.407 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 239,9 | 108.0 | 1.564 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 261.8 | 117.8 | 1.752 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.014 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.9 |
| | | | | r² | 0.998 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 1 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 68.282 | 0.986 |

| Curvas Estándar para Disolución Automatizada | | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 | |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- | |
| 1 | 4.0 | 10 | 175.3 | 78.9 | 1.133 | | 6 | |
| 2 | 4.5 | 10 | 197.2 | 88.7 | 1.299 | | 7 | |
| 3 | 5.0 | 10 | 219.1 | 98.6 | 1.457 | | 7 | |
| 4 | 5.5 | 10 | 241.0 | 108.5 | 1.616 | | 7 | |
| 5 | 6.0 | 10 | 262.9 | 118.3 | 1.761 | | 7 | |
| | | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | | b | -0.011 | DE | 0 |
| | | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Coeficientes para el Programa de Disolución Automatizado de la Curva Estándar 2 | | | |
|---|----------|----------|-------------|
| Fórmula | P2 = --- | P1 = 1/m | P0 = -(b/m) |
| Valor | N/A | 67.257 | 0.719 |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra con el Programa de Disolución Automatizado

$$\% [P.A.M] = P1 \cdot A_m + P0$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

P1 = 67.769 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

P0 = 0.853 Coeficiente promedio calculado de las curvas estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] calculado | % [P.A.M] programa |
|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|
| Vaso 1 | 1.425 | 97.4 | 97.4 |
| Vaso 3 | 1.448 | 99.0 | 99.0 |
| Vaso 4 | 1.430 | 97.8 | 97.8 |
| Vaso 5 | 1.450 | 99.1 | 99.1 |
| Promedio | | 98.3 | 98.3 |
| DE | | 0.9 | 0.9 |
| C.V. (%) | | 0.9 | 0.9 |
| Especificación | | C.V. (%) ≤ 5.0 | C.V. (%) ≤ 5.0 |
| Dictamen | | Cumple | Cumple |

Corrida 1 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 1 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 1 | | | |
|------------------|--|--------------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5,85 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|---------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.2 | 98.7 | 11.1 | 50 | 221.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.684 | 3 |
| RM 1-2 | 0.684 | 3 |
| RM 1-3 | 0.684 | 3 |
| RM 1-4 | 0.684 | 3 |
| RM 1-5 | 0.684 | 3 |
| Promedio | 0.684 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 88.4 | 39.8 | 0.557 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 99.5 | 44.8 | 0.663 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 110.5 | 49.7 | 0.703 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 121.6 | 54.7 | 0.771 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 132.7 | 59.7 | 0.845 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.001 | DE | 0.0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 0.5 |
| | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.593 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.641 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.709 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.780 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.854 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.009 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.9 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b) / m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.014 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = 0.002 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.737 | 104.0 |
| Vaso 3 | 0.724 | 102.2 |
| Vaso 4 | 0.741 | 104.6 |
| Vaso 5 | 0.732 | 103.3 |
| Promedio | | 103.5 |
| DE | | 1.0 |
| C.V. (%) | | 1.0 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 2 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 2 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 2 | | | |
|-----------|---|-------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.4 | 98.7 | 11.3 | 50 | 225.0 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.701 | 3 |
| RM 1-2 | 0.701 | 3 |
| RM 1-3 | 0.701 | 3 |
| RM 1-4 | 0.701 | 3 |
| RM 1-5 | 0.701 | 3 |
| Promedio | 0.701 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 90.0 | 40.5 | 0.565 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 101.3 | 45.6 | 0.656 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 112.5 | 50.6 | 0.719 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 123.8 | 55.7 | 0.816 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 135.0 | 60.8 | 0.866 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.003 | DE | 0.0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.6 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.593 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.666 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.726 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.820 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.875 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | 0.002 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.1 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b) / m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.015 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = -0.001 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.743 | 102.6 |
| Vaso 3 | 0.738 | 101.9 |
| Vaso 4 | 0.737 | 101.7 |
| Vaso 5 | 0.725 | 100.1 |
| Promedio | | 101.6 |
| DE | | 1.1 |
| C.V. (%) | | 1.0 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 3 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 3 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 3 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|---------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.1 | 98.7 | 11.0 | 50 | 219.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.706 | 3 |
| RM 1-2 | 0.706 | 3 |
| RM 1-3 | 0.706 | 3 |
| RM 1-4 | 0.706 | 3 |
| RM 1-5 | 0.706 | 3 |
| Promedio | 0.706 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 87.6 | 39.4 | 0.577 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 98.6 | 44.4 | 0.619 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 109.6 | 49.3 | 0.714 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 120.5 | 54.2 | 0.779 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 131.5 | 59.2 | 0.851 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.000 | DE | 0.0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.8 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.596 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.643 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.723 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.793 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.869 | | 7 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 7 |
| | | | | b | 0.003 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b) / m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.014 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = 0.001 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.749 | 104.1 |
| Vaso 3 | 0.730 | 101.4 |
| Vaso 4 | 0.754 | 104.8 |
| Vaso 5 | 0.761 | 105.7 |
| Promedio | | 104.0 |
| DE | | 1.8 |
| C.V. (%) | | 1.8 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 4 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 4 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 4 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.2 | 98.7 | 11.1 | 50 | 221.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.4 | 98.7 | 11.3 | 50 | 225.0 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.713 | 3 |
| RM 1-2 | 0.713 | 3 |
| RM 1-3 | 0.713 | 3 |
| RM 1-4 | 0.713 | 3 |
| RM 1-5 | 0.713 | 3 |
| Promedio | 0.713 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 88.4 | 39.8 | 0.590 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 99.5 | 44.8 | 0.673 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 110.5 | 49.7 | 0.754 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 121.6 | 54.7 | 0.825 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 132.7 | 59.7 | 0.915 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.005 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.2 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 90.0 | 40.5 | 0.608 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 101.3 | 45.6 | 0.683 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 112.5 | 50.6 | 0.757 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 123.8 | 55.7 | 0.834 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 135.0 | 60.8 | 0.938 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.004 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b) / m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.015 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = -0.004 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.738 | 97.7 |
| Vaso 3 | 0.745 | 98.6 |
| Vaso 4 | 0.724 | 95.8 |
| Vaso 5 | 0.733 | 97.0 |
| Promedio | | 97.3 |
| DE | | 1.2 |
| C.V. (%) | | 1.2 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 5 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 5 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 5 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | + | 5.85 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.2 | 98.7 | 11.1 | 50 | 221.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RA 1-1 | 0.694 | 3 |
| RA 1-2 | 0.694 | 3 |
| RA 1-3 | 0.694 | 3 |
| RA 1-4 | 0.694 | 3 |
| RA 1-5 | 0.694 | 3 |
| Promedio | 0.694 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 88.4 | 39.8 | 0.551 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 99.5 | 44.8 | 0.618 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 110.5 | 49.7 | 0.683 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 121.6 | 54.7 | 0.736 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 132.7 | 59.7 | 0.824 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.002 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.0 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.557 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.634 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.706 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.770 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.842 | | 6 |
| | | | | m | 0.014 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.000 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 0.6 |
| | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(Am-b)/m]*2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

Am = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.015 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = -0.004 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.689 | 99.5 |
| Vaso 3 | 0.672 | 97.1 |
| Vaso 4 | 0.669 | 96.6 |
| Vaso 5 | 0.654 | 94.4 |
| Promedio | | 96.9 |
| DE | | 2.1 |
| C.V. (%) | | 2.1 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 6 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 6 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 6 | | | |
|-----------|---|-------|---------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | + | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | + | Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.1 | 98.7 | 11.0 | 50 | 219.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.744 | 3 |
| RM 1-2 | 0.744 | 3 |
| RM 1-3 | 0.744 | 3 |
| RM 1-4 | 0.744 | 3 |
| RM 1-5 | 0.744 | 3 |
| Promedio | 0.744 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.592 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.680 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.737 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.821 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.918 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.004 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.2 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 87.6 | 39.4 | 0.585 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 98.6 | 44.4 | 0.675 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 109.6 | 49.3 | 0.728 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 120.5 | 54.2 | 0.820 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 131.5 | 59.2 | 0.909 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.004 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.6 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b) / m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.015 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = -0.004 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.791 | 105.3 |
| Vaso 3 | 0.775 | 103.1 |
| Vaso 4 | 0.778 | 103.5 |
| Vaso 5 | 0.758 | 100.9 |
| Promedio | | 103.2 |
| DE | | 1.8 |
| C.V. (%) | | 1.7 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 7 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 7 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 7 | | | |
|------------------|--|--------------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | + | 910 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | + | --- |
| F | Velocidad de agitación | + | 55 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | + | 243 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|--|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|------------------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.2 | 98.7 | 11.1 | 50 | 222.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.3 | 98.7 | 11.2 | 50 | 223.1 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|--|-----------------------|-----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.694 | 3 |
| RM 1-2 | 0.694 | 3 |
| RM 1-3 | 0.694 | 3 |
| RM 1-4 | 0.694 | 3 |
| RM 1-5 | 0.694 | 3 |
| Promedio | 0.694 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 88.4 | 39.8 | 0.533 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 99.5 | 44.8 | 0.591 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 110.5 | 49.7 | 0.670 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 121.6 | 54.7 | 0.727 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 132.7 | 59.7 | 0.807 | | 6 |
| | | | | m | 0.013 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.002 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.0 |
| | | | | r² | 1.000 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|-------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 89.2 | 40.2 | 0.557 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 100.4 | 45.2 | 0.618 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 111.5 | 50.2 | 0.672 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 122.7 | 55.2 | 0.727 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 133.8 | 60.2 | 0.807 | | 6 |
| | | | | m | 0.013 | Promedio | 6 |
| | | | | b | 0.006 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.5 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b)/m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.013 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = 0.002 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|-----------------------|-------|---------------------|
| Vaso 1 | 0.691 | 103.0 |
| Vaso 3 | 0.710 | 105.8 |
| Vaso 4 | 0.699 | 104.2 |
| Vaso 5 | 0.716 | 106.7 |
| Promedio | | 104.9 |
| DE | | 1.7 |
| C.V. (%) | | 1.6 |
| Especificación | | C.V. (%) \leq 5.0 |
| Dictamen | | Cumple |

Corrida 8 Disolución manual.

| | |
|-------------------------|----------------------------|
| No. de análisis: | Corrida 8 |
| Proyecto: | Estudio de robustez |
| Producto: | Tabletas Paracetamol 200mg |
| Analito: | Paracetamol |
| Lote: | DFF1007-08 |
| Concentración: | 200mg |
| Prueba: | Disolución |

| Corrida 8 | | | |
|-----------|---|-------|------------------|
| | Factor | Nivel | Valor |
| A | pH del medio de disolución | - | 5.75 |
| B | Factor falso | - | --- |
| C | Volumen del medio de disolución | - | 890 mL |
| D | Desgasificación del medio de disolución | - | No Desgasificado |
| E | Factor falso | - | --- |
| F | Velocidad de agitación | - | 45 rpm |
| G | Longitud de onda de detección | - | 238 nm |

| Peso de los Estándares y Diluciones de las Soluciones de Referencia | | | | | | |
|---|------------------------|-----------|------------|----------------|------------|-----------------------|
| Estándar: | Secundario Paracetamol | Peso (mg) | Pureza (%) | Peso real (mg) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
| Lote: | 1009003806 | | | | | |
| Solución de Referencia 1 | RM 1 | 11.2 | 98.7 | 11.1 | 50 | 222.1 |
| Solución de Referencia 2 | RM 2 | 11.4 | 98.7 | 11.3 | 50 | 225.0 |

| Verificación del sistema: Adecuabilidad | | |
|---|-----------------------|----------------|
| Identificación | Abs Li-2 | Fri Li-2 |
| RM 1-1 | 0.738 | 3 |
| RM 1-2 | 0.738 | 3 |
| RM 1-3 | 0.738 | 3 |
| RM 1-4 | 0.738 | 3 |
| RM 1-5 | 0.738 | 3 |
| Promedio | 0.738 | 3 |
| DE | 0.000 | 0 |
| C.V. (%) | 0.0 | 0.0 |
| | Especificación | C.V. (%) ≤ 2.0 |
| | Dictamen | Cumple |

| Cálculo Teórico de la Tableta de Paracetamol 200mg | | | | |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Cantidad de muestra | Analito | Cantidad del Analito (mg) | Volumen del Medio (mL) | Concentración Teórica (µg/mL) |
| 1 Tableta | Paracetamol | 200 | 900 | 222.2 |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 1 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 88.4 | 39.8 | 0.561 | | 6 |
| 2 | 4.5 | 10 | 99.5 | 44.8 | 0.664 | | 6 |
| 3 | 5.0 | 10 | 110.5 | 49.7 | 0.712 | | 6 |
| 4 | 5.5 | 10 | 121.6 | 54.7 | 0.792 | | 6 |
| 5 | 6.0 | 10 | 132.7 | 59.7 | 0.888 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 6 |
| | | | | b | -0.007 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.8 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

| Curvas Estándar para Disolución Manual | | | | | | | |
|--|---------------|------------|-----------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------------|
| Curva Estándar 2 | | | | | | | |
| Nivel | Alícuota (mL) | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) | % Disuelto nominal | Abs | | Fri Li-2 |
| 0 | 0.0 | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.000 | | --- |
| 1 | 4.0 | 10 | 90.0 | 40.5 | 0.582 | | 7 |
| 2 | 4.5 | 10 | 101.3 | 45.6 | 0.668 | | 7 |
| 3 | 5.0 | 10 | 112.5 | 50.6 | 0.748 | | 7 |
| 4 | 5.5 | 10 | 123.8 | 55.7 | 0.830 | | 7 |
| 5 | 6.0 | 10 | 135.0 | 60.8 | 0.905 | | 7 |
| | | | | m | 0.015 | Promedio | 7 |
| | | | | b | -0.005 | DE | 0 |
| | | | | r | 1.000 | C.V. (%) | 1.7 |
| | | | | r² | 0.999 | Especificación | CV (%) ≤ 2.0 |
| | | | | | | Dictamen | Cumple |

Cálculo del Porcentaje Disuelto de la Muestra de Disolución Manual

$$\% \text{ [P.A.M]} = [(A_m - b)/m] * 2$$

Donde:

% [P.A.M] = Concentración en por ciento del principio activo recobrado, en la muestra.

A_m = Absorbancia de la muestra.

2 = Factor de dilución

m = 0.015 Pendiente de la recta de la curva estándar.

b = -0.006 Intersección en el eje de las ordenadas de la curva estándar.

| Muestra | Abs | % [P.A.M] |
|----------------|---------------------|-----------|
| Vaso 1 | 0.717 | 98.0 |
| Vaso 3 | 0.708 | 96.8 |
| Vaso 4 | 0.729 | 99.7 |
| Vaso 5 | 0.713 | 97.5 |
| Promedio | | 98.0 |
| DE | | 1.2 |
| C.V. (%) | | 1.2 |
| Especificación | C.V. (%) \leq 5.0 | |
| Dictamen | Cumple | |

Anexo 2. Reporte de calibración disolutor.

UNIDAD ANALÍTICA PARA ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

REPORTE DE CALIBRACIÓN DEL DISOLUTOR

EQUIPO: Hanson Research SR6

NO. DE INVENTARIO UNAM: 2153 770

REALIZADO POR: Enrique L. Pérez Roséndiz

FECHA: 2012-02-02

APROBADO POR: Ernesto Salgado Olivera

FECHA: 2012-02-03

| AJUSTE MECÁNICO | VASOS | | | | | | LÍMITE ESPECIFICADO |
|--|-------|------|------|------|------|------|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 1. Rectitud de las flechas | OK | OK | OK | OK | OK | OK | < 0.1 mm |
| 2. Nivel de la base y soporte de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | Nivelados |
| 3. Perpendicularidad de los vasos (Alineación) | OK | OK | OK | OK | OK | OK | 1.5° a la perpendicular |
| 4. Centrado de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | ± 2 mm |
| 5. Bamboleo de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | ± 2 mm (0.75 mm óptimo) |
| 6. Vibración de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | 0.1 mils (0.00245mm) |
| 7. Inspección de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | |
| 8. Diámetro interno de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | 10 - 10.5 cm |
| 9. Altura de los vasos | OK | OK | OK | OK | OK | OK | 16 - 17.5 cm |
| 10. Inspección de las paletas | OK | OK | OK | OK | OK | OK | |
| 11. Dimensiones de las paletas | OK | OK | OK | OK | OK | OK | Cumplen con FEUM |
| 12. Equidistancia de las paletas | OK | OK | OK | OK | OK | OK | Cumplen con FEUM |
| 13. Inspección de las paletas | OK | OK | OK | OK | OK | OK | |
| 14. Dimensiones de las canastillas | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | 20.2 ± 1.0 mm (diámetro) 25.4 ± 2.0 mm (altura) |
| 15. Altura del agitador o de la canastilla al fondo del vaso | OK | OK | OK | OK | OK | OK | 2.5 ± 0.2 cm |
| 16. Velocidad de agitación | OK | OK | OK | OK | OK | OK | rpm ± 4% |
| 17. Longitud de los muestreadores (cm) | 40.0 | 39.4 | 38.5 | 39.0 | 38.8 | 38.4 | |

Anexo 3. Resultados del programa Statgraphics Centurion® de la prueba *t-student* pareada.

Corrida 1.

Prueba de Hipótesis para Manual 1 - Automatizada 1

Media Muestral = -0.225

Mediana Muestral = 0.45

Desviación Estándar de la Muestra = 1.52179

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.295705

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 2.

Prueba de Hipótesis para Manual 2 - Automatizado 2

Media Muestral = 0.2

Mediana Muestral = -0.15

Desviación Estándar de la Muestra = 1.10454

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = 0.362143

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 3.

Prueba de Hipótesis para Manual 3 - Automatizado 3

Media Muestral = -0.675

Mediana Muestral = 0.8

Desviación Estándar de la Muestra = 3.29178

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.410112

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 4.

Prueba de Hipótesis para Manual 4 - Automatizado 4

Media Muestral = 0.25

Mediana Muestral = 0.35

Desviación Estándar de la Muestra = 1.55885

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = 0.32075

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 5.

Prueba de Hipótesis para Manual 5 - Automatizado 5

Media Muestral = 0.3

Mediana Muestral = 0.6

Desviación Estándar de la Muestra = 2.1848

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = 0.274625

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 6.

Prueba de Hipótesis para Manual 6 - Automatizado 6

Media Muestral = -0.15

Mediana Muestral = 1.0

Desviación Estándar de la Muestra = 2.85832

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.104957

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 7.

Prueba de Hipótesis para Manual 7 - Automatizado 7

Media Muestral = -0.25

Mediana Muestral = -0.45

Desviación Estándar de la Muestra = 2.18861

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.228456

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Corrida 8.

Prueba de Hipótesis para Manual 8 - Automatizado 8

Media Muestral = -0.325

Mediana Muestral = -0.5

Desviación Estándar de la Muestra = 1.91028

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.340264

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.