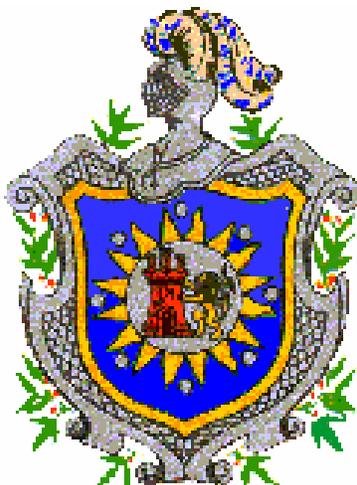


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN –LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE FARMACIA**



**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO
DE DICLOFENAC SODICO EN TRES PRESENTACIONES
FARMACEUTICA TABLETA, AMPOLLAS, SUPOSITORIO POR
CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO QUÍMICO
FARMACÉUTICO.**

AUTORES:

Br. Karla Vanessa Ortiz Chavarria
Br. Edwin Antonio López Cáceres.

TUTOR: Lic. Kelvin Núñez

León, Abril del 2003



INTRODUCCION

La industria farmacéutica requiere de mayores exigencias en los análisis de control de calidad de medicamento debido al incremento en la introducción de productos relacionado en la salud, con lo que en la actualidad los laboratorios no solo se preocupan de analizar, si un producto cumple o no con los requerimientos de calidad mediante la utilización de métodos analíticos establecidos para cada uno de ellos, si no también se esfuerzan para validar cada método utilizado en el control de calidad de sus productos.

Los laboratorios de control de calidad de los organismos reguladores e industria farmacéutica, hacen uso de métodos analíticos para drogas con diferentes formas farmacéuticas establecidas en las distintas farmacopeas.

En la USP XXIV el método establecido para validar la diclofenac sódica como producto terminado, es la utilización de fase móvil en proporción 7:3 de solución buffer de fosfato monobásico de sodio y metanol, así como también se efectúan métodos de análisis a materia prima por HPLC y volumetría no acuosa. En el laboratorio del departamento de análisis de drogas y tóxicos de la Facultad de Ciencias Químicas, se han realizado validaciones a diferentes productos terminados en distintas formas farmacéutica como: Dexametasona (tableta), Furosemida (ampolla, tableta), Enalapril (tableta), Diclofenac Sódico (materia prima), Acetaminofén (M.P), y Dipirona Sódica (M.P).



La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas convenientemente documentadas y demostrativas de que un proceso de fabricación o método de control es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalo definido.

El objetivo principal de la validación analítica es de asegurar de que un procedimiento analítico relacionado dará resultado reproducible y confiable.

Las normas de buenas prácticas de fabricación y control de calidad de productos farmacéuticos han venido planteando que la validación debe aplicarse tanto a los procesos de fabricación como a los métodos de análisis y control.

Es importante que los laboratorios del sector químico desarrollen procedimientos de ensayo internos que conlleven a una inversión más satisfactoria tanto de los recursos humanos como material debido a la globalización de la economía mundial y el surgimiento de nuevas enfermedades.

El propósito de este estudio es validar el principio activo de Diclofenac Sódico en tres presentaciones farmacéutica, utilizando el cromatógrafo líquido de alta presión para que este sea un método de análisis seguro, confiable, rápido, reproducible, preciso y aceptable.



OBJETIVO GENERAL

Desarrollar y Validar un método de análisis para tres presentaciones farmacéutica de Diclofenac Sódico tabletas, ampollas y supositorio aplicando cromatografía líquida de alta resolución.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Desarrollar el método analítico de la Diclofenac Sódico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).
- Validar el método desarrollado aplicando los parámetros y criterios establecidos en el proceso de validación.
- Aplicar el método para determinar el contenido de Diclofenac Sódico en tres presentaciones farmacéuticas, tabletas, ampollas y supositorios.



MARCO TEORICO

La industria farmacéutica esta interesada en la validación de métodos analíticos debido al gran ingreso de nuevos productos que tienen que ver con la salud y requieren de método de análisis apropiado.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación incluye una evaluación de precisión, linealidad, exactitud y especificidad que proporcionara una medida del comportamiento del método.

La validación es necesaria por que proporciona un alto grado de confianza y seguridad del proceso productivo o del método analítico así como también en la mayoría de los resultados.

La USPXXIV establece que los requisitos necesarios que debe cumplir un método analítico son los siguientes:

1. Especificidad
2. Rango
3. Precisión
4. Exactitud
5. Limite de detección
6. Limite de cuantificación
7. Linealidad
8. Tolerancia
9. Robustez



Existen categorías que facilitan el estudio y el reconocer el tipo de información se requiere para la validación de un método analítico.

CATEGORÍA I: métodos analíticos para la cuantificación de los principales componentes del fármaco o de los principios activos en productos farmacéuticos terminado.

CATEGORÍA II: métodos analíticos para la determinación de impurezas o productos de degradación en el producto terminado, incluyendo ensayos cuantitativos y pruebas de límites.

CATEGORÍA III: métodos analíticos para evaluar las características de las formas farmacéuticas terminadas, tales como disolución o liberación de fármacos.

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

Se consideran tres tipos de validación:

- Validación prospectiva: aquella que se realiza a técnicas nuevas.
- Validación retrospectiva: para técnica utilizadas repetidamente, no validada anteriormente y de la que no se tiene documentación suficiente para probar la bondad del método.
- Revalidación es la repetición parcial o total de una validación debido a cambio efectuado en las condiciones originales que puedan afectar la bondad del método validado o cuando el método analítico lleva largo tiempo utilizándose.



Precisión: Es el grado de correlación o cercanía entre los resultados analíticos individuales que se obtienen al aplicar repetidamente el método a varias muestras, de una homogénea común.

La precisión puede expresarse a tres niveles:

1. – **Repetibilidad:** es la precisión entre determinaciones independientes en las mismas condiciones. (un solo operador, el mismo equipo, la misma columna, la misma fase móvil etc.) Se lleva sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una mezcla homogénea del producto. Los ensayos en este contexto, son los análisis independientes de muestra que han pasado por todo el procedimiento analítico, desde la preparación de la muestra hasta los resultados de las pruebas finales. El número de repeticiones debe ser superior a 5 y la concentración del analito en la muestra problema suele ser similar a la nominal o declarada.

Puede ser necesario utilizar dos concentraciones del analito (alta y baja) cada uno con sus replica cuando la proporción de analito en la muestra puede oscilar notablemente. La repetibilidad describe la variabilidad mínima al proceso analítico.

2. **Precisión intermedia:** es un termino introducido recientemente expresa la precisión dentro de un laboratorio cuando se emplea una muestra homogénea y se analiza bajo condiciones diferentes, es decir, diferentes analistas, en días diferentes y en equipo diferente, etc. La precisión intermedia refleja las condiciones reales dentro de un laboratorio.

Reproducibilidad: es la precisión en determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones. Debe ser: desarrollada en diferentes días, por diferentes personas, empleando reactivos diferentes, columnas etc.



Y debe realizarse al menos por otro analista. La reproducibilidad describe la máxima variabilidad de un procedimiento analítico ya que incluye el estudio en diferentes laboratorios.

Los valores a reportar son los siguientes:

- Resultados individuales.
- Rango.
- Media.
- Desviación estándar.
- Coeficiente de variación.

Exactitud

Indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximo posible al verdadero valor. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. Una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada y revela la existencia de errores determinados que debieran de corregirse.

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

- Las desviaciones por exceso suelen producirse cuando existen interferencias analíticas del método y la selectividad no es la adecuada: los resultados finales son superiores a los verdaderos. En este caso, debería modificarse el método para hacerlo más selectivo.
- Las desviaciones por defecto suelen darse en métodos analíticos muy laboriosos en varias fases, extracciones, purificaciones, etc. que se traducen en una disminución de la recuperación.



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

Rango

Es el intervalo entre los niveles superior e inferior (incluyendo estos) de la sustancia, en que se cumpla los requisitos de precisión, exactitud y linealidad del método. Para su determinación se preparan muestras adicionando la sustancia a placebos en los extremos superior e inferior del intervalo o rango que se desea establecer, así como dentro del mismo. Se analizan las muestras de manera repetida en cada una de los niveles y se calcula la precisión, exactitud y linealidad a lo largo del intervalo.

Linealidad

Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado.

Dentro de este termino se incluye la proporcionalidad entre concentraciones de analito y respuestas, así como el intervalo o rango también se relaciona con la sensibilidad de calibrado.

El ensayo de linealidad puede efectuarse tanto sobre soluciones patrón como muestra.

Las fases son los siguientes:

1. Cerciorarse de que el intervalo lineal dinámico del instrumento sea más amplio que el intervalo de concentraciones a estudiar.



2. Preparar una serie de patrones de analito de concentraciones creciente, se selecciona de acuerdo con las cantidades esperadas.
3. Cada análisis se efectuara como mínimo por duplicado.
4. Se determina la curva de calibración que relaciona la absorbancia con la concentración del analito. Se calcula la recta de regresión por el método de ajuste: $Y = bx + a$

Donde:

x: concentración

b: Pendiente

a: Intercepto

1. Tratamiento estadístico, a fin de evaluar la linealidad y la proporcionalidad.

La Interpretación se efectúa a través de la regresión.

- Coeficiente de correlación r: Refleja el grado de relación entre la concentración(x) y respuesta (y) su valor mínimo es 1

LIMITE DE DETECCION Y LIMITE DE CUANTIFICACION.

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerido para dar un resultado significativo.

Según USP XXIII, el limite de detección es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas.

Un resultado “positivo” no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa, además, conocer el limite de detección en las condiciones del método; De lo contrario se puede incurrir en el falso positivo: suponer el analito presente en la muestra cuando de hecho no lo esta.



El límite de cuantificación o determinación es según USP XXIII, la menor concentración C_o o cantidad Q_o de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecida.

El límite de cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable).

Numéricamente es mayor el límite de cuantificación y representa la menor cantidad de analito que pueda analizarse con un C_v aceptable. Concentraciones menores pueden detectarse pero no cuantificarse.

SELECTIVIDAD-ESPECIFICIDAD.

Los términos selectividad y especificidad se consideran equivalentes y se definen como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito, sin interferencias de impurezas, algunos autores definen ambos términos y consideran como selectividad a la capacidad de detectar simultáneamente o separadamente sustancias químicas diferentes presentes en una misma muestra y especificidad como la capacidad de detectar el analito sin interferencia de ningún otro compuesto.

En la actualidad, la tendencia mayoritaria es el empleo de método relativamente selectivo por el empleo de CG Y HPLC, en los resultados.



La selectividad es una condición esencial para conseguir una buena exactitud por lo que es un criterio clave. Los estudios varían según el tipo de método analítico:

- Método de identificación: La selectividad debe demostrar que el método funciona en presencia de otras sustancias que pueden interferir y de los de composición similar.
- Ensayo de pureza: La selectividad debe garantizar pretenden analizar cualitativa o cuantitativamente.

Determinación cuantitativa de un componente: cuando se determina la impureza en una materia prima o el contenido de principio activo u otro componente en un medicamento el estudio de selectividad debe asegurar que la señal medida con el método analítico procede únicamente de la sustancia a analizar sin interferencia de excipiente, productos de degradación o impureza.

Cabe distinguir dos casos perfectamente diferenciado: materia prima y producto terminado.

Para el caso de materia prima, la selectividad se obtiene comparando los resultados analíticos de un patrón de referencia con los de un patrón cargado con todas las sustancias que potencialmente puedan estar presentes como contaminantes.



TOLERANCIA

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones de operación como diferentes temperaturas, laboratorio, columnas, lotes de reactivos, equipos, etc.

La tolerancia generalmente se expresa como la carencia de influencia en los resultados por cambios en las condiciones de operación. Es una medida de la reproducibilidad de los resultados analíticos bajo las condiciones normales de operación de laboratorio a laboratorio y de analista a analista.

Para su determinación, se realizan los análisis de muestras tomadas de un mismo lote homogéneo, en diferentes laboratorio, por diferentes analistas, en diferentes días, etc. Las cuales pueden diferir pero se mantienen dentro de los parámetros específicos del método.

La reproducibilidad se calcula mediante el coeficiente de variación de los resultados obtenidos y pueden compararse con la precisión del método determinada previamente bajo condiciones normales de operación.

ROBUSTEZ

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



Esto se realiza cuando se precisa un estudio completo de reproducibilidad, como es el caso de un estudio ínter laboratorio, por lo que el laboratorio que ha desarrollado el método analítico efectuó previamente el estudio de robustez.

Para su estudio, se introducen deliberadamente variaciones razonables en las condiciones experimentales y se observa su influencia. No se estudia cada variable de 1 a 1, sino que se introducen varios cambios a la vez; de forma tal que se pueden investigar los efecto de cada uno de ello.

LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determina construyendo una curva de calibración (concentración vs. Respuesta medida) utilizando cuando menos cinco diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo entre las concentraciones analizadas dependerá del propósito del método; para control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica.

Criterios:

$$CV \leq 1.5\%$$

$$R \geq 0.99, r^2 \geq 0.98$$



Precisión del Sistema

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del Sistema.

Criterios:

$$CV \leq 1.5\%$$

LINEARIDAD DEL METODO

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos tres diferentes cantidades de las sustancias de intereses, cada uno de manera independiente haciendo los análisis por triplicado.

Criterios:

Cantidad adicionada vs. Cantidad recuperada: $m = 1$, $b = 0$, $r^2 \geq 0.98$

Exactitud y Repetibilidad al 100%

Se determina con 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés, utilizando el método propuesto.

Criterios:

El porcentaje recuperado y CV deberán de estar de acuerdo con la tabla siguiente:

| | Promedio | CV |
|--------------------------------|-----------|------------|
| Método: | | |
| Cromatografico | 98 –102% | $\leq 2\%$ |
| Titrimetrico | 98 –102% | $\leq 2\%$ |
| Químicos y espectrofotometrico | 97 – 103% | $\leq 3\%$ |
| Microbiológico | 95 – 105% | $\leq 5\%$ |



PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

Se determina de una muestra homogénea del producto cercano al 100% de la concentración teórica.

Criterios:

CV debe cumplir con lo siguiente

| Método | Cv |
|-------------------------------|------------|
| Cromatográfico | $\leq 2\%$ |
| Químico y espectrofotométrico | $\leq 3\%$ |
| Microbiológico | $\leq 5\%$ |

Especificidad para métodos de control de calidad con el método propuesto:

1. Analizar placebos del producto
2. Identificar las respuestas de los reactivos y de los excipientes de otras sustancias presentes

Estabilidad de la Muestra Analítica

Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de tres muestras con los obtenidos de la misma muestra después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones.



Criterios:

La muestra se establece si el intervalo de confianza a 95% (IC) con respecto a la media del análisis no deben de exceder con los siguientes porcentajes:

| | |
|--------------------------------|-----------|
| Cromatográfico | $\pm 2\%$ |
| Titrimétrico | $\pm 2\%$ |
| Químicos y espectrofotométrico | $\pm 3\%$ |
| Microbiológico | $\pm 5\%$ |

METODOLOGÍA.

LINEARIDAD DEL SISTEMA.

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Concentración de
la Dilución

Solución patrón (x).

propiedad medida(y).

| | |
|----------|------------------------------------|
| X_1 | $Y_{11}, Y_{12} \dots Y_{1N}$ |
| X_2 | $Y_{21}, Y_{22} \dots Y_{2N}$ |
| \vdots | $\vdots \quad \vdots \quad \vdots$ |
| \vdots | $\vdots \quad \vdots \quad \vdots$ |
| X_t | $Y_{t1}, Y_{t2} \dots Y_{tn}$ |

t : número de diluciones.

n : número de aplicaciones (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón



Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de aplicaciones por dilución, sea equivalente.

2) Cálculos preliminares para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$\Sigma X = n (X_1 + X_2 + \dots + X_t)$$

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} + \dots + y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\Sigma X^2 = n (X_1^2 + X_2^2 + \dots + X_t^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 + y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\Sigma XY = X_1 (y_{11} + y_{12} + y_{1n}) + X_2 (y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n}) + \dots + X_t (y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn})$$

3) cálculos finales para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$r = \left(\frac{\left[nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y) \right]^2}{\left[nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2 \right] \left[nt (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2 \right]} \right)^{1/2}$$

$$r^2 = \frac{\left[nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y) \right]^2}{\left[nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2 \right] \left[nt (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2 \right]}$$



4) cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

- a. calcular para cada punto de la linealidad del sistema el siguiente factor:

$$F = \frac{\text{propiedad medida (y)}}{\text{Concentración de la dilución de la solución patrón (x)}}$$

$$F_{11} = \frac{Y_{11}}{X_1}$$

$$F_{12} = \frac{Y_{12}}{X_1}$$

$$F_{1n} = \frac{Y_{1n}}{X_1}$$

$$F_{t1} = \frac{Y_{t1}}{X_t}$$

$$F_{t2} = \frac{Y_{t2}}{X_t}$$

$$F_{tn} = \frac{Y_{tn}}{X_t}$$



4.2) Calcular la suma de factores, la suma de cuadros de factores y la media del factor:

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} \dots + F_{t1} + F_{t2} + F_{tn}$$

$$\Sigma F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{t1}^2 + F_{t2}^2 + F_{tn}^2$$

$$\bar{F} = \frac{\Sigma F}{N}$$

Donde : N = número de puntos de la linearidad del Sistema.

5) Cálculos finales para el coeficiente de variación:

$$DE = \left[\frac{N (\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N (N - F)} \right]^{1/2}$$

$$CV \equiv \frac{DE}{F} \times 100$$

LINEARIDAD DEL METODO

A . Cantidad adicionada – Cantidad recuperada

1) Tabular los resultado con base al siguiente formato:

| Cantidad adicionada (x) | Cantidad recuperada (y) |
|---|---|
| $X_{11}, X_{12}, \dots, X_{1n}$ $X_{21}, X_{22}, \dots, X_{2n}$ \vdots $X_{t1}, \quad X_{t2}, \dots, X_{tn}$ | $Y_{11}, Y_{12}, \dots, Y_{1n}$ $Y_{21}, Y_{22}, \dots, Y_{2n}$ \vdots $Y_{t1}, Y_{t2}, \dots, Y_{tn}$ |



t : número de cantidades adicionada.

n : número de replicaciones (cantidad recuperada) por cada cantidad adicionada.

Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de cantidades recuperadas (replicaciones) de cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

1) Cálculos preliminares:

$$\sum X = X_{11} + X_{12} + \dots + X_{1n} + X_{21} + X_{22} + \dots + X_{2n} + \dots + X_{t1} + X_{t2} + \dots + X_{tn}$$

$$\sum Y = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} \dots + Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

$$\sum X^2 = X_{11}^2 + X_{12}^2 + \dots + X_{1n}^2 + X_{21}^2 + X_{22}^2 + \dots + X_{2n}^2 + \dots + X_{t1}^2 + X_{t2}^2 + \dots + X_{tn}^2$$

$$\sum Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \dots + Y_{1n}^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \dots + Y_{2n}^2 + \dots + Y_{t1}^2 + Y_{t2}^2 + \dots + Y_{tn}^2$$

$$\sum XY = X_{11}Y_{11} + X_{12}Y_{12} + \dots + X_{1n}Y_{1n} + X_{21}Y_{21} + X_{22}Y_{22} + \dots + X_{2n}Y_{2n} + \dots + X_{t1}Y_{t1} + X_{t2}Y_{t2} + \dots + X_{tn}Y_{tn}$$

3) Cálculos finales:

$$m = \frac{nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{nt(\sum x) - (\sum y)}$$

$$b = \frac{y - m(\sum x)}{nt}$$

$$\left[nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y) \right]^2$$

$$r^2 = \frac{\left[nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y) \right]^2}{\left[nt(\sum x^2) - (\sum x)^2 \right] \left[nt(\sum y^2) - (\sum y)^2 \right]}$$



B. Por ciento recuperado.

Calcular el por ciento recuperado (R) para cada cantidad recuperada, con la siguiente ecuación:

$$R = (y/x)100$$

1) Tabular los resultado:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

2) Cálculos preliminares:

$$\sum R = R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

$$\sum R^2 = R^2_1, R^2_2, R^2_3, \dots, R^2_n$$

$$R = \left(\frac{\sum R}{N} \right)$$

$$DE = \left[\frac{N (\sum R^2) - (\sum R)^2}{N (N - R)} \right]^{1/2}$$

3) Cálculos finales:

Coefficiente de variación:

$$CV \equiv \frac{DE}{R} x 100$$



CROMATOGRAFÍA LIQUIDA

Es una técnica de separación que se indica como un método para separar una mezcla de varios componentes en sus componentes individuales. “Si se puede disolver entonces se puede resolver, analizar y cuantificar”.

Los principios teórico de la cromatografía líquida moderna fueron establecidas por Martín y Synge en 1941. para que esta teoría fuese puesta en practica fue necesario esperar los avances tecnológico en el desarrollo de micro partículas homogéneas para el empaque de columna, con alta capacidad de separación y el desarrollo de columnas, bomba y detectores que resistieran la alta presiones que se necesitan para hacer fluir el solvente a través de una columna empacada con partículas muy finas y compactadas.

La cromatografía no está limitada por la volatilidad o la estabilidad termal por consiguiente es ideal para separaciones de macromoléculas y de índole iónica que tiene un verdadero interés en el área de aplicaciones biomédicas y bioquímicas.

Este método está basado en la solubilidad de los compuesto por eso es importante seleccionar el solvente apropiado para llevar la muestra a través del sistema.

El desarrollo de esta técnica de separación data cerca de 75 años, y con el advenimiento de la instrumentación moderna la cromatografía brinda cuantificación y reproducibilidad de manera rápida y simple.



PRINCIPIO DE LA CROMATOGRAFÍA

Se basa en una serie de cambio entre la fase móvil y estacionaria que compiten por las moléculas de la mezcla. Entre mayor sea la afinidad de la sustancia por la fase estacionaria mayor será la retención.

La naturaleza de los fenómenos físicos-químico que condicionan las separaciones, dependen esencialmente de la naturaleza de la fase estacionaria.

TIPOS DE CROMATOGRAFÍAS

1. Cromatografía líquida en columna (clc): Puede que la separación se efectúe sobre un tubo cilíndrico de vidrio o metal relleno de un sólido poroso finamente dividido, que actúa como fase estacionaria líquida.
2. Cromatografía en capa delgada (ccd): La separación de los componentes de la mezcla se da por migración diferencial sobre una capa delgada de un sólido.
3. Cromatografía en papel (cp): Es aquella en la que la separación de las sustancias o componentes de una mezcla se da por migración diferencial sobre la superficie del papel filtro.
4. Cromatografía líquida de alta resolución (clar): Es un tipo de cromatografía líquida en la que la separación se realiza en una columna de acero inoxidable rellena de un material adsorbente el cual puede actuar como fase estacionaria.



5. Cromatografía de gases (cg): La separación se realiza dentro de una columna de vidrio o metal rellena de material absorbente, el cual puede actuar como fase estacionaria, los solutos se separan según su volatilidad y capacidad.
6. Cromatografía de intercambio iónico (cii): La separación se basa principalmente en el mecanismo de intercambio de competencia entre las moléculas de la fase móvil y del soluto iónico.
7. Cromatografía de exclusión: La separación se efectúa de acuerdo al tamaño y formas de las moléculas del soluto.
8. Cromatografía de absorción: Está se refiere más al fenómeno absorción o de competencia por las moléculas del soluto y de la fase móvil.
9. Cromatografía de reparto: Actúan los fenómenos de reparto o distribución de las moléculas del soluto entre dos fases líquidas inmiscibles.

PICOS CROMATOGRÁFICOS

La forma de los picos depende de diferentes factores:

- Tiempo de migración: Entre más rápido eluya la muestra, más nítido será pronunciado el pico.
- Volumen del extracto que se deposita o inyecta: Si el volumen es pequeño, el pico es pequeño.
- Calidad del extracto que se inyecta: Debe ser la más pura posible.
- Compatibilidad del sistema: Si hay demasiada afinidad entre las fases por las moléculas no hay picos, sino estelas.



CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA PRESION

Desde los años de 1970, la técnica de HPLC se ha desarrollado rápidamente y por su amplia potencia, es uno de los métodos analíticos más importantes y utilizados. Majors en 1972 contribuyo bastante en la investigación sobre micro partículas para el empaque de columna.

La cromatografía liquida de alta presión(HPLC), utiliza la partición entre una fase móvil y una estacionaria para obtener una separación entre los componentes de la muestra. El gran avance de la misma consiste en la posibilidad de utilizar micro partículas con lo cual se aumenta considerablemente la eficiencia de la separación

COMPONENTES DEL HPLC

1. Reservorio: Para el solvente o depósito(fase móvil).
2. Bomba: De alta presión para forzar el solvente a través de una válvula de inyección. La bomba debe tener un máximo de 6000 psi, debe de ser de flujo continuo y libre de pulsaciones que puedan aparecer en la base del cromato grama.
3. Válvula: De inyección, sitio donde se introduce la muestra. La forma más simple de inyectar una muestra es directamente en la columna.
4. Columna: De acero inoxidable, rellena con partículas pequeñas de la fase estacionaria. El tamaño de estas partículas son normalmente de 5 micrones, esféricas o irregulares, la columna de C₁₈ es muy reconocida por ser versátil para separaciones de fase reserva, puede separar compuestos ácidos, básicos y neutrales.



Existen tres fases estacionaria muy comunes:

- Partícula sólida es de material rígido con una estructura exterior impermeable.
 - Partícula de resina pelicular aumenta la resolución y la capacidad de la muestra.
 - Resina porosa es mejor en separación pero tiende a aumentar el tiempo de análisis.
5. Detector: Mide la concentración de componentes separados. Debe de seleccionarse de acuerdo al sistema, un buen detector y una buena columna son la combinación ideal para un buen resultado cromatográfico.
6. Registrador: Imprime el cromatograma, cada uno de los cuales corresponde a un componente de la mezcla. Además de procesar los datos obtenidos por el detector controla la fase móvil para la separaciones con elusión isocrática o gradiente y monitorea además el flujo de la bomba supervisando continuamente todos los parámetros de la separación

VENTAJAS DEL HPLC

- El tiempo de análisis es RÁPIDO.
- Las columnas pueden separar mezclas complejas RESOLUCIÓN.
- Los análisis cuantitativos son ejecutados con facilidad y exactitud. Los errores relativos son menores de 1%. EXACTITUD
- Dependiendo de la muestra y el detector es posible medir un nanograma de compuesto SENSIBILIDAD.
- Cuenta con sistemas que inyectan la muestra, realizan la separación, imprimen la identificación de los picos y su concentración y luego repite el ciclo con la muestra siguiente. AUTOMATIZACIÓN.
- No está limitada a la volatilidad o a la estabilidad térmica de la sustancia.



- Las muestras no son destruidas por el detector y pueden ser recogida y utilizadas puras(separaciones en escala preparativas).

RAZONES POR LAS CUALES SE UTILIZA HPLC

- Gran variabilidad de configuración aparativa.
- Gran cantidad de diferentes sistemas de fases estacionaria.
- Gran números de fases móviles y modificaciones de ellas.
- Amplio campo de uso.

APLICACIONES DE HPLC

- Para sustancias solubles en un solvente o una mezcla de ellos.
- Sustancias no solubles.
- Sustancias muy polares y/o iónicas.
- Sustancias de alto peso molecular.
- Sustancias termolábiles.

CAMPOS DE USO DEL HPLC

- Control de pureza y calidad de productos.
- Análisis de medicamentos.
- Análisis de sustancias efectivas de matrices biológicas.
- Análisis de residuo de plaguicidas.
- Análisis de sustancias tóxicas para el medio ambiente.
- Análisis de polímeros sintéticos.
- Separación y limpieza de biopolímeros.
- Aislamiento de productos sensibles.



IMPORTANCIA DE CORRER UN BLANCO EN EL CROMATOGRAFO

Si no corre en blanco no sabrá si los picos vienen de la muestra o de las impurezas de los solventes, no importa si esta corriendo fase normal, reserva, o intercambio iónico.

CARACTERÍSTICAS DE LOS DISOLVENTES (FASE MÓVIL)

- La muestra debe ser soluble en la fase móvil.
- Alta pureza.
- Inmiscibilidad con la fase estacionaria.
- Calidad espectrofotométrica.
- Debe existir un equilibrio de distribución entre las dos fases.
- Se debe de facilitar la salida de la muestra de la fase estacionaria.
- Siempre debe filtrarse el solvente y estar libre de gas al igual que la muestra.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL SOLVENTE

- Soluble con la muestra.
- Reactividad baja (Inerte)
- Miscibilidad con otros solventes.
- Viscosidad.
- Índice de refracción.
- Transparencia en uv – visible.



PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Esta comprende la disolución completa y liberación de partículas antes de realizar una inyección en el cromatógrafo. Se recomienda la filtración de la muestra a través de un filtro de 0.5 micrones.

Esto evita el alargamiento de los picos o cromatograma, también que se obstruyan las columnas o células de los detectores.

PROCEDIMIENTO DEL HPLC

1. La bomba impulsa al solvente o fase móvil a través del sistema.
2. La muestra es colocada en el inyector mediante una jeringa y continua con el flujo hacia la columna.
3. Dentro de la columna es donde se realiza toda la interacción y desarrollo de la muestra.
4. Una vez pasada la muestra por la columna, el detector, emite los impulsos que se convierten en un cromatograma mediante la registradora.

EVALUACIÓN DE UN CROMATOGRAMA

Los parámetros para observar si hay picos son:

Selectividad (α): Se calcula en base a la separación de los picos en función del tiempo. El valor mínimo de α es 1, si es mayor no hay separación de los picos.

Eficiencia: Mide el ancho de los picos o tamaño de las manchas.

Tiempo: Mide el recorrido frontal.

Resolución: Mide la eficiencia de la separación (mayor que 1), es decir las distancias que hay entre los picos, entre más grandes las distancias mayor resolución



DISEÑO METODOLOGICO

TIPO DE ESTUDIO:

El estudio desarrollado fue de tipo experimental.

AREA DE ESTUDIO:

Nuestro estudio se realizo en el laboratorio del departamento de análisis de drogas, tóxicos y medicamentos de la Facultad de Ciencias Química ubicado en el complejo docente de la salud (campus médico). En este laboratorio se desarrollan prácticas con los estudiantes de los diferentes cursos de la carrera de farmacia, así como trabajos monográficos.

UNIVERSO:

Siendo las unidades de análisis 5000 tabletas de Diclofenac Sódico del lote # 173026, 2500 ampollas del lote # 257026 y 1500 supositorios del lote # 186026, ambos del laboratorio Panzyna.

MUESTRA:

Tomamos 50 tabletas de 50 mg de principio activo, 9 ampollas de 75 mg/3 ml y 10 supositorios de 12.5 mg de principio activo de Diclofenac Sódico.

PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCION DE LA INFORMACIÓN:

Las muestras ensayadas fueron obtenidas a través de la compra directa en la farmacia Universitaria del departamento de León, las cuales fueron analizadas siguiendo el procedimiento de análisis desarrollado.

El análisis y procesamiento de los datos obtenidos fue a través del paquete estadístico Excel 2000 y STATISTICA.

**EQUIPO A UTILIZAR: (MATERIALES)**

Equipo HPLC: Hewlett Packard

Serie 1100

Modelo G1310A

ISO PUMP Serial# US 53500107

Columna de acero inoxidable C₈ : 4.5 mm x 150

Detector, adaptado a una computadora AOC Modelo No. 4V

Balanza analítica: Modelo ER-182A

AC115V 50/60hz

Serie 4704233

Agitador baño ultrasónico: Modelo B3-R

EDP:000-951-005

S/N: RGA099914743

REACTIVOS:

Agua destilada.

Metanol grado HPLC A-452-4.

MATERIALES:

Balones aforado pirex de 25, 50ml.

Filtro poro 0.45 mc.

Filtro watman N₀.2

Pipetas de 0.5, 1, 2, 6,10ml.

Beaker Pyrex de 250, 1000ml.

Espátula

Cocina

Embudos

Mortero y pilón

Tubo de ensayos

Equipo de filtración al vacío

**CONDICIONES DEL METODO CROMATOGRAFICO:**

Temperatura: Ambiente

Fase móvil: Metanol-Agua (60:40)

Fase estacionaria: Columna C₈.

Longitud de onda: 275nm.

Velocidad de flujo: 1 ml / min.

PREPARACIÓN DE LA FASE MOVIL: METANOL –AGUA

Tomar metanol grado HPLC, y agua destilada en la proporción (60:40)

Transfíeralo a un balón de 1000ml.

Filtrar a través del filtro de 0.45 µm, usando presión al vacío.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCION ESTÁNDAR:

Pesar exactamente 62.5mg de Diclofenac Sódico USP.

Transfiera a un balón de 50ml

Añadir una pequeña cantidad de fase móvil para disolver.

Llévelo al baño ultrasónico hasta completa disolución.

Afore con fase móvil.

Tome 1ml de la dilución.

Transfiera a un balón de 25ml.

Afore con fase móvil.

Para obtener una concentración final de 50µg/ml

Preparar 5 diluciones para obtener diferentes concentraciones de Diclofenac Sódico de 12, 14, 16, 18,20 µg / ml, para realizar una curva de calibración estándar externa.

**PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:****DICLOFENAC SODICO (TABLETAS)**

Pesar una cantidad de polvo equivalente a 0.0625g de principio activo (Diclofenac Sódico).

Transfiéralo a un balón de 50ml.

Añadir una pequeña cantidad de fase móvil para disolver.

Llévelo al baño ultrasónico hasta completa disolución.

Afore con fase móvil.

Filtrar a través de papel filtro Watman #2

Tome 1ml de la disolución filtrada.

Transfiéralo a un balón de 25ml.

Afore con fase móvil.

Para obtener una concentración final de 50 µg/ml

Preparar 5 diluciones para obtener diferentes concentraciones de Diclofenac Sódico 12, 14, 16, 18, 20 µg / ml, para realizar las respectivas inyecciones.

DICLOFENAC SODICO (AMPOLLAS)

Tomar una alícuota que contenga el equivalente de 0.0625g de principio activo (Diclofenac Sódico).

Transfiéralo a un balón de 50ml.

Añadir una pequeña cantidad de fase móvil para disolver y aforar con fase móvil.

Filtrar a través de papel filtro watman #2

Tome 1ml de la dilución filtrada.

Transfiéralo a un balón de 25ml.

Afore con fase móvil.

Concentración final 50 µg/ml

Preparar 5 diluciones de diferentes concentraciones 12, 14, 16, 18, 20 µg / ml de Diclofenac Sódico para sus respectivas inyecciones.



DICLOFENAC SODICO (SUPOSITORIOS)

Calentar a una temperatura de 35° - 45°C en un balón de 50 ml la cantidad de 25 ml de fase móvil con un supositorio hasta completa disolución.

Tomar una alícuota equivalente a 62.5 mg de principio activo (Diclofenac Sódico).

Filtrar en caliente a través del papel filtro Watman # 2.

Aforar en un balón de 100 ml con fase móvil.

Concentración final de 125 µg / ml

Preparar 5 diluciones de diferentes concentraciones de Diclofenac Sódico

12,14,16,18,20 µg / ml, para sus respectivas inyecciones.

Cada una de las preparaciones tanto solución estándar como muestras fueron inyectadas en el cromatógrafo por triplicado bajo las condiciones detalladas anteriormente.

ENSAYOS PARA LA VALIDACIÓN DEL METODO ANALITICO:

En la validación del método analítico de Diclofenac Sódico en tres presentaciones por HPLC, se siguió el método tradicional estadístico por regresión lineal haciendo énfasis en:

Linearidad del sistema: 5 concentraciones por triplicado.

Linealidad del método: 3 concentraciones por triplicado.

Exactitud y Repetibilidad al 100%: Sextuplicado



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

LINEARIDAD DEL SISTEMA:

GRAFICO #1

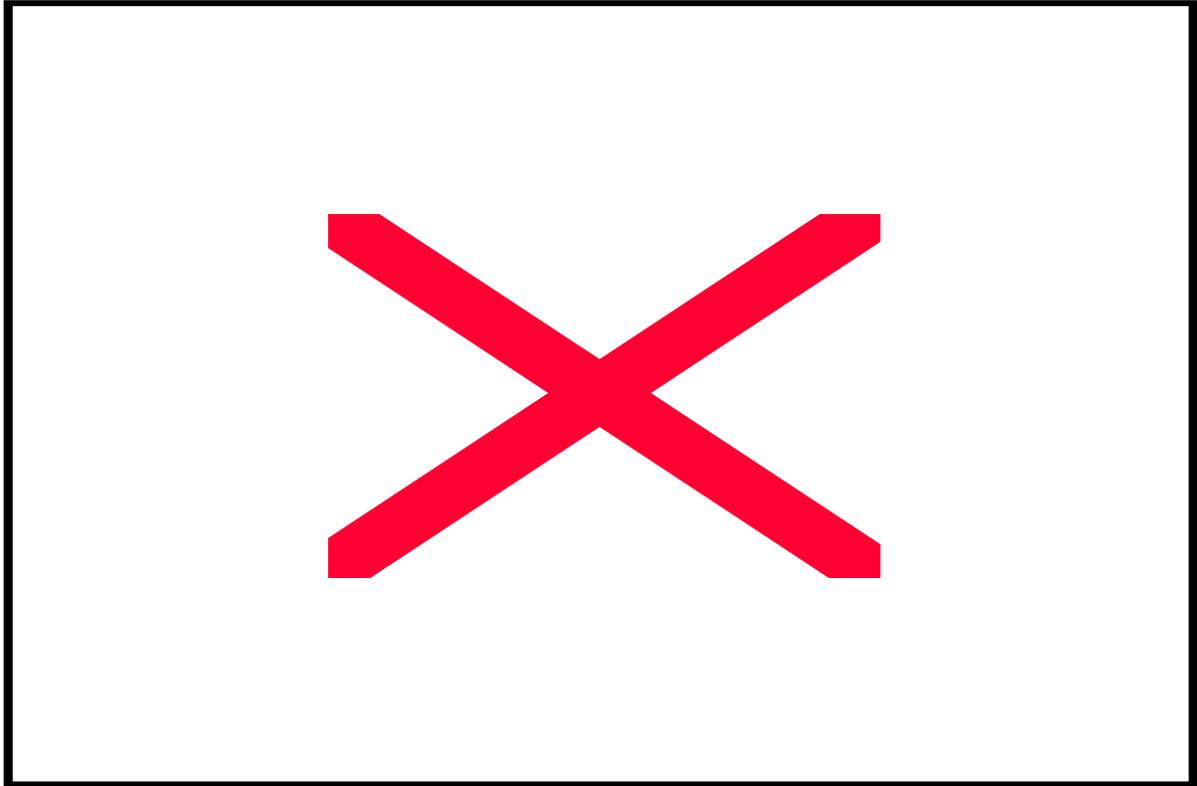




GRAFICO #2

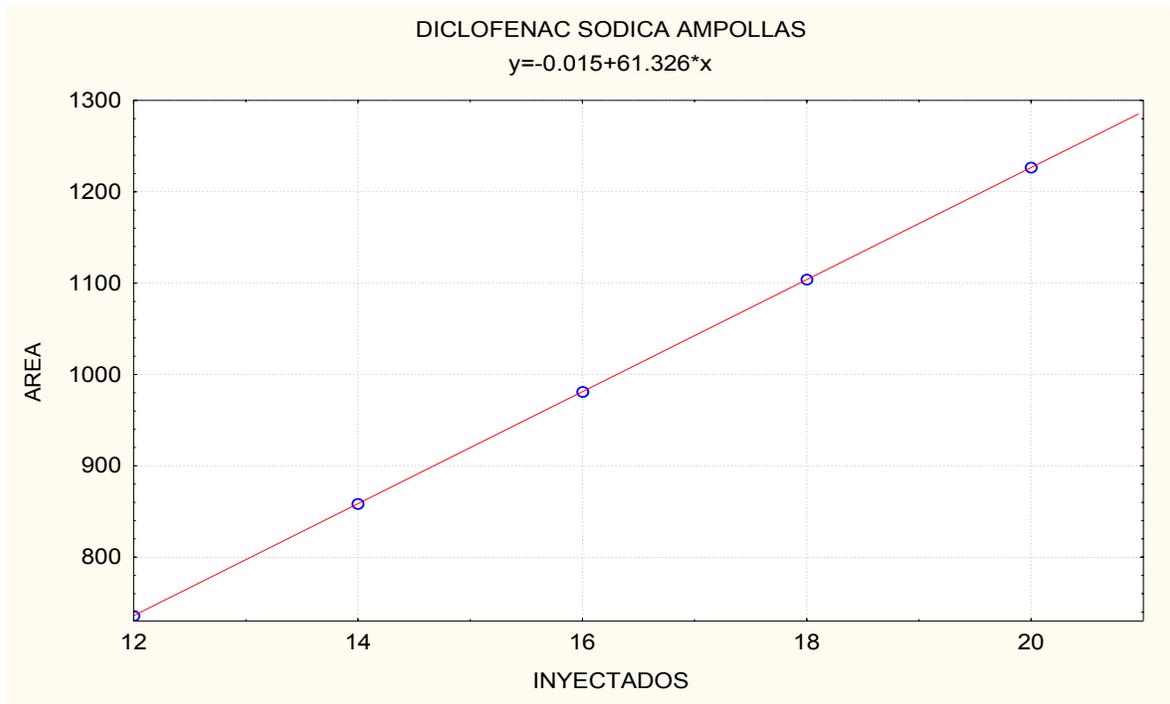
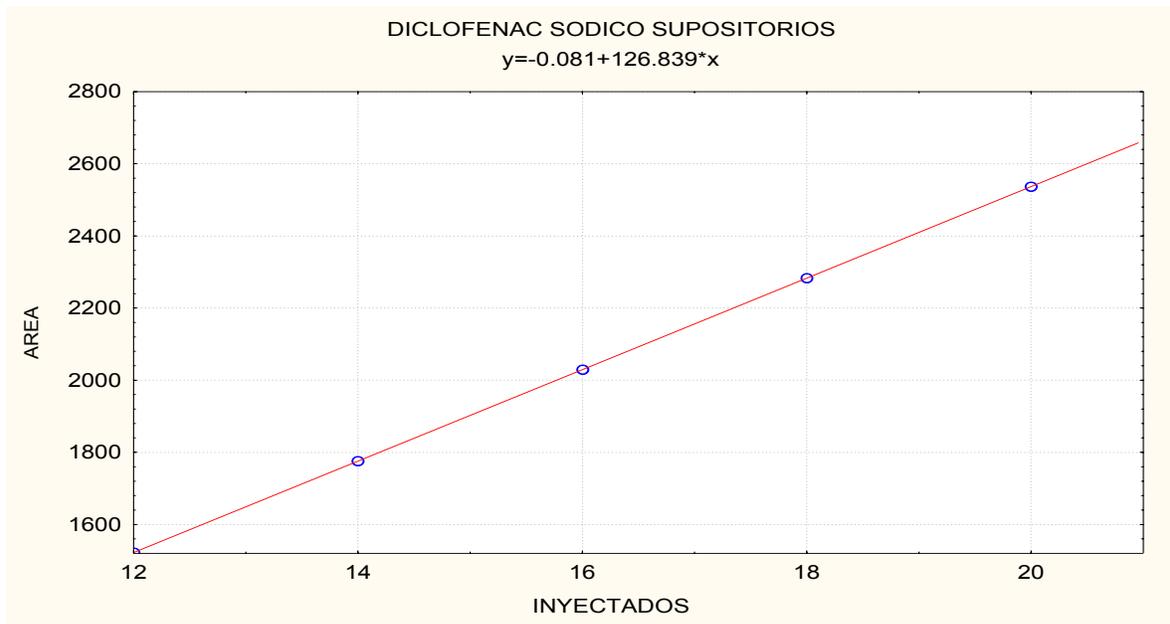


GRAFICO #3





CUADRO No. 1.

LINEARIDAD DEL SISTEMA

| PRINCIPIOS ACTIVOS | CRITERIOS | | |
|--------------------------------------|-----------|----------------|--------|
| | r | r ² | CV |
| DICLOFENAC SODICO TABLETAS | 0.99999 | 0.9999 | 0.0022 |
| DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS | 0.99791 | 0.9999 | 0.0528 |
| DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS | 0.998 | 0.9993 | 0.5352 |

De acuerdo a los gráficos 1-3 y cuadro # 1 hay linealidad en el sistema, ya que encuentra dentro del rango de confiabilidad, cumpliendo al mismo tiempo con los criterios de que $r = 0.9999$ (0.99), $r^2 = 0.9997$ (0.98), $CV = (\leq 2\%)$. El rango de las concentraciones en las cuales existe linealidad es de 12 a 20 $\mu\text{g/ml}$, hay cumplimiento de la Ley de Beer, (ver anexos, tablas del 1-3).



LINEARIDAD DEL METODO

GRAFICO # 4

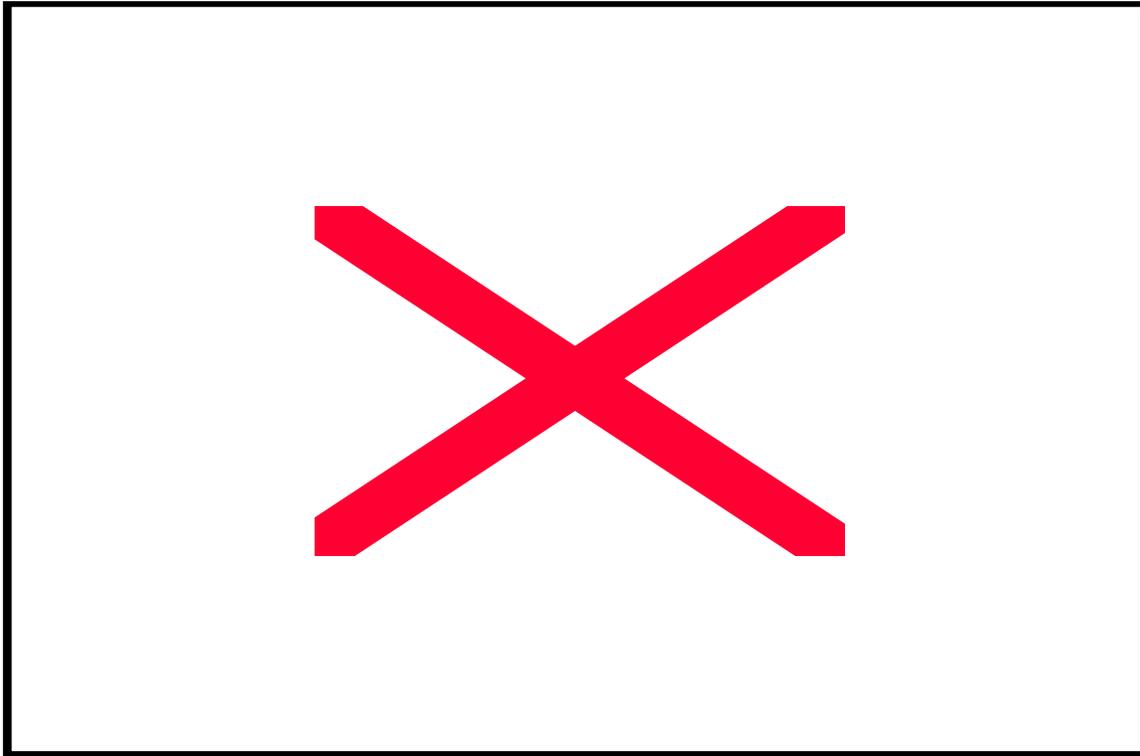
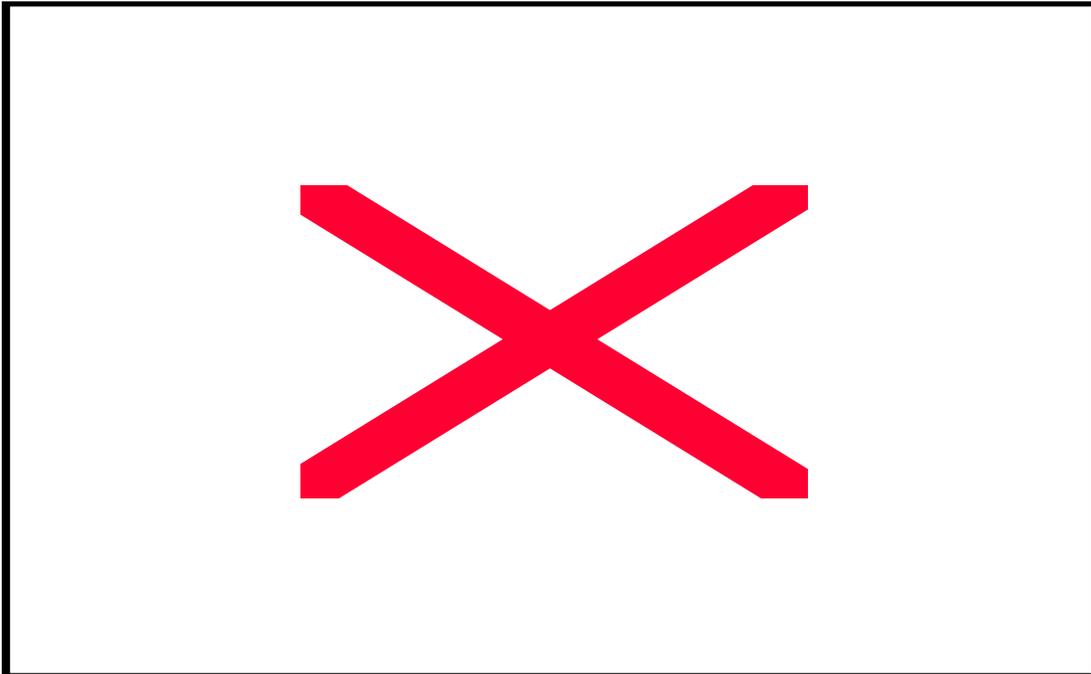
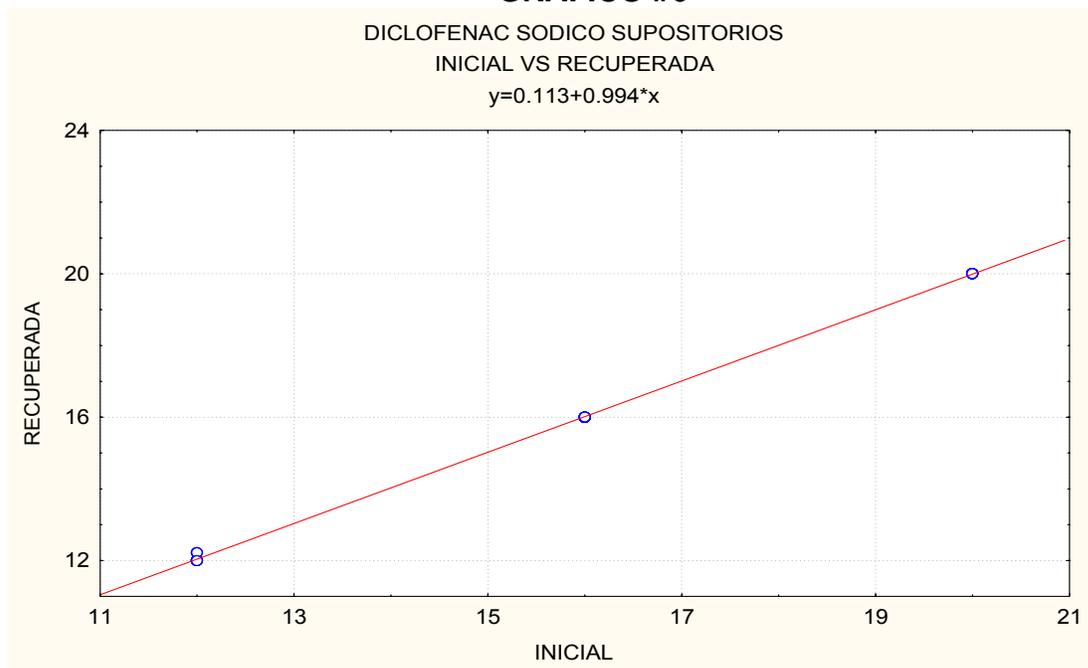


GRAFICO #5



**GRAFICO #6****CUADRO No. 2.****LINEARIDAD DEL METODO**

| PRINCIPIOS ACTIVOS | CRITERIOS | | | | |
|--------------------------------|-----------|----------------|-------|-------|---------|
| | r | r ² | b | m | cv |
| DICLOFENAC SODICO TABLETAS | 0.99988 | 0.99976 | 0.119 | 0.994 | 0.45585 |
| DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS | 0.99990 | 0.99981 | 0.089 | 0.995 | 0.76609 |
| DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS | 0.99987 | 0.99974 | 0.113 | 0.994 | 0.46878 |

En los gráficos 4 – 6 y el cuadro # 2, podemos observar que la linealidad del método está dentro del rango de confiabilidad y cumple con los criterios:

$m = 0.994$ (≈ 1), $b = 0.119$ (≈ 0), $r = 0.9998$ (≥ 0.99), $r^2 = 0.9999$ (≥ 0.98), $CV = 0.4558$ ($\leq 2\%$), el porcentaje recuperado fue de 99 – 101% (98 – 102%).(ver anexos, tablas del 4-6).

**EXACTITUD Y PRECISION DEL METODO.**

Existe un rango de exactitud de 99 – 101% y en cuanto a la precisión se trabajó a días diferentes y analistas diferentes, obteniéndose un rango de confiabilidad en lo que respecta al coeficiente de variación 0.0047,0.5708,0.056 ($\leq 2\%$), encontrado en el análisis realizado a la Diclofenac Sódico.

Tabletas

| | | Analista | |
|------------|----------|-----------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| Día | 1 | 99.99 | 99.99 |
| | | 100.0 | 99.99 |
| | | 99.99 | 100 |
| | 2 | 99.99 | 99.99 |
| | | 100 | 100 |
| | | 99.99 | 99.99 |

DE = 0.0047

CV = 0.0047

Supositorios

| | | Analista | |
|------------|----------|-----------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| Día | 1 | 99.9991 | 100 |
| | | 101.8503 | 99.9995 |
| | | 100 | 99.9995 |
| | 2 | 99.9985 | 99.9987 |
| | | 100.1792 | 100.0012 |
| | | 100.1792 | 100 |

DE = 0.5722

CV = 0.5708



| | | Ampollas | |
|------------|----------|-----------------|----------|
| | | Analista | |
| Día | | 1 | 2 |
| | | 1 | 99.797 |
| 100.0042 | 99.9975 | | |
| 99.9992 | 100.0005 | | |
| 2 | 99.9979 | 99.9575 | |
| | 99.9986 | 99.9994 | |
| | 100.0007 | 100 | |

DE = 0.056

CV = 0.056



CONCLUSIONES

El método de análisis desarrollado para la Diclofenac Sódico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), por fase inversa es muy versátil, rápido, altamente reproducible y con una elevada sensibilidad para una diversidad de concentraciones de 12, 14, 16, 18 y 20 μg y en las condiciones de 3 analistas llevadas a cabo.

Este método aplicado a las diferentes presentaciones farmacéuticas de Diclofenac sódico cumple con los parámetros de validación establecidos en cuanto a la linealidad, exactitud y precisión.

El método desarrollado puede ser aplicado para determinar la cantidad de Diclofenac Sódico en tableta, ampolla y supositorio, bajo las condiciones establecidas utilizando para ello una curva de calibración estándar externa.



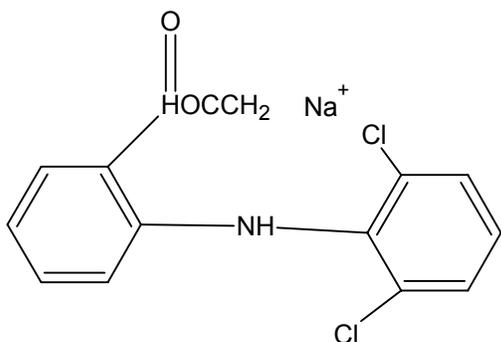
RECOMENDACIÓN

Continuar realizando ensayos de validación de métodos analíticos por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, que se utiliza para controlar la calidad de los medicamentos, ya que es una herramienta que ofrece ventajas como la rapidez, reproducibilidad y una alta sensibilidad.



BIBLIOGRAFIA

- BERRY.I.R
Practical process validation of pharmaceutical products.
Septiembre 1986.
- Guía técnica para la elaboración de monografía de validación.
- HUBER. L
Evaluation and validation of estándar methods.
- INTERNET
<http://www.pharm.uky.Edu/ASRG/HPLC/hplcmytry.htm>
<http://www.pharmacode.com>
<http://www.pharmafile.com>
- ROBERTO. LEON. Ph.D
Libro básico para cromatografía de liquido.
Primera edición abril 1982.
- USP 24 NF 19.
The united states Pharmacopeia. National Formulary
Pag: 546 - 547
- Validación de métodos analíticos de AFI(asociación farmacéutica internacional).

**DICLOFENAC SODICO** $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$

PM = 318.14

Acciones:

Antiinflamatorio analgésico

Solubilidad:

En agua Etanol, Metanol.

Insoluble en éter, acetona, benceno y cloroformo



LINEARIDAD DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO TABLETAS

Método Analítico HPLC

Procedimiento: Diez determinaciones, tres concentraciones

LINEARIDAD

$r = 0.99988284$

$r^2 = 0.9997657$

$b = 0.119$

$m = 0.994$

$CV = 0.45585782$

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ $CV < 2\%$

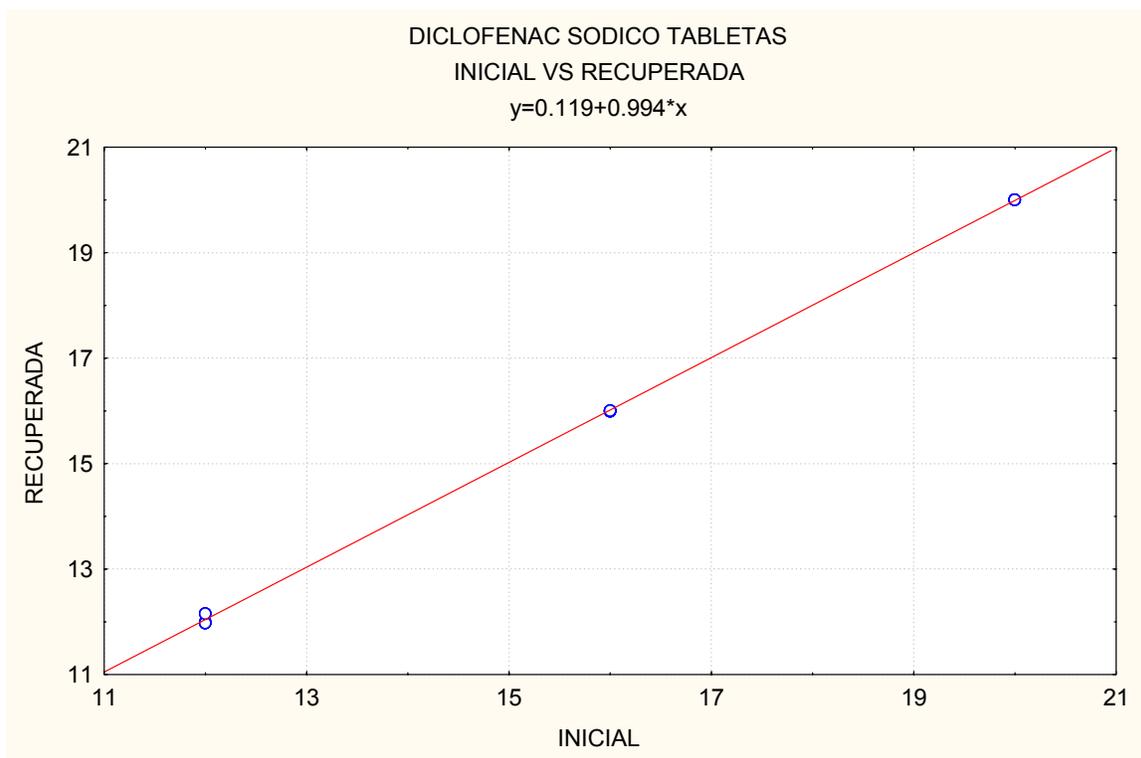




TABLA No. 4

**LINEARIDAD DEL METODO: DIEZ DETERMINACIONES, TRES
CONCENTRACIONES (DICLOFENAC SODICO TABLETAS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 2 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 3 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 4 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 5 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 6 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 7 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 8 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 9 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 10 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 11 | 16 | 15.9932 | 99.9575 |
| 12 | 16 | 16.0021 | 100.0131 |
| 13 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 14 | 16 | 15.9932 | 99.9575 |
| 15 | 16 | 16 | 100 |
| 16 | 16 | 16.0021 | 100.0131 |
| 17 | 16 | 16 | 100 |
| 18 | 16 | 16 | 100 |
| 19 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 20 | 16 | 16.0021 | 100.0131 |
| 21 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 22 | 20 | 20.0001 | 100.0005 |
| 23 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 24 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 25 | 20 | 20 | 100 |
| 26 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 27 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 28 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 29 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 30 | 20 | 20.0043 | 100.0215 |



LINEARIDAD DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS

Método Analítico HPLC

Procedimiento: Diez determinaciones, tres concentraciones

LINEARIDAD

$$r = 0.99990552$$

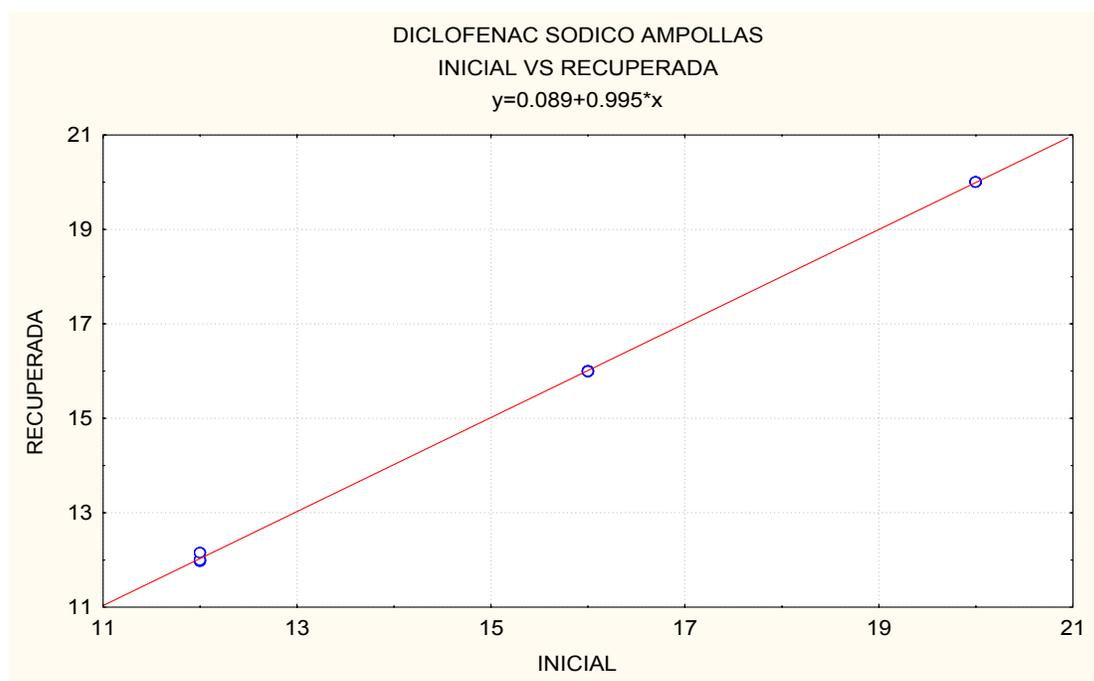
$$r^2 = 0.99981105$$

$$b = 0.089$$

$$m = 0.995$$

$$CV = 0.76609933$$

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ $CV < 2\%$



**TABLA No. 5****LINEARIDAD DEL METODO: DIEZ DETERMINACIONES, TRES
CONCENTRACIONES (DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 2 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 3 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 4 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 5 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 6 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 7 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 8 | 12 | 11.9756 | 99.797 |
| 9 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 10 | 12 | 12.1526 | 101.272 |
| 11 | 16 | 15.9932 | 99.9575 |
| 12 | 16 | 16.0021 | 100.0131 |
| 13 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 14 | 16 | 16.0021 | 96.5306 |
| 15 | 16 | 15.9932 | 99.9575 |
| 16 | 16 | 16.0021 | 100.0131 |
| 17 | 16 | 15.9932 | 99.9575 |
| 18 | 16 | 16 | 100 |
| 19 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 20 | 16 | 16 | 100 |
| 21 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 22 | 20 | 20.0001 | 100.0005 |
| 23 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 24 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 25 | 20 | 20 | 100 |
| 26 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 27 | 20 | 19.9996 | 99.998 |
| 28 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 29 | 20 | 19.9995 | 99.9975 |
| 30 | 20 | 20.0043 | 100.0215 |



LINEARIDAD DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS

Método Analítico HPLC

Procedimiento: Diez determinaciones, tres concentraciones

LINEARIDAD

$$r = 0.99987015$$

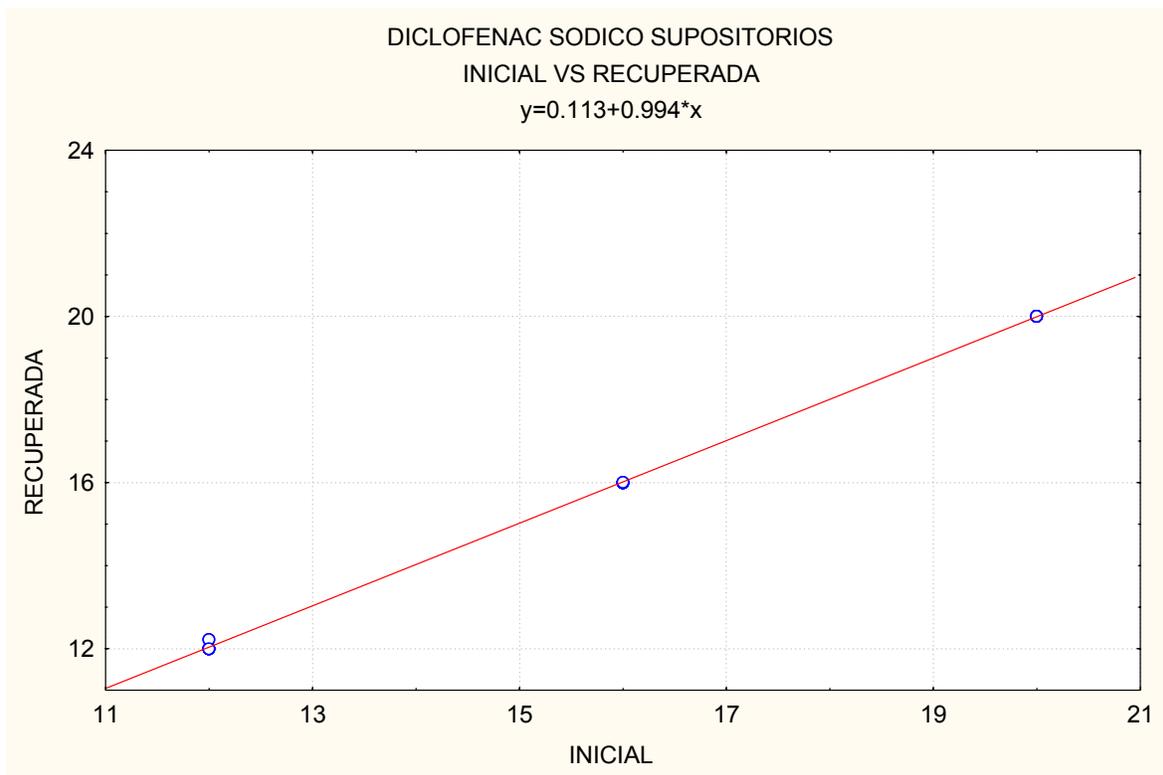
$$r^2 = 0.99974031$$

$$b = 0.113$$

$$m = 0.994$$

$$CV = 0.46878533$$

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ $CV < 2\%$



**TABLA No. 6****LINERARIDAD DEL METODO: DIEZ DETERMINACIONES, TRES
CONCENTRACIONES (DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 99.99916667 |
| 2 | 12 | 12 | 100 |
| 3 | 12 | 11.9999 | 99.99916667 |
| 4 | 12 | 12.2221 | 101.8508333 |
| 5 | 12 | 12 | 100 |
| 6 | 12 | 11.9999 | 99.99916667 |
| 7 | 12 | 11.9999 | 99.99916667 |
| 8 | 12 | 12 | 100 |
| 9 | 12 | 12.2221 | 101.8508333 |
| 10 | 12 | 11.9999 | 99.99916667 |
| 11 | 16 | 15.9998 | 99.99875 |
| 12 | 16 | 16.0002 | 100.00125 |
| 13 | 16 | 16 | 100 |
| 14 | 16 | 15.9999 | 99.999375 |
| 15 | 16 | 16 | 100 |
| 16 | 16 | 15.9999 | 99.999375 |
| 17 | 16 | 15.9998 | 99.99875 |
| 18 | 16 | 16 | 100 |
| 19 | 16 | 16.0002 | 100.00125 |
| 20 | 16 | 16.0032 | 100.02 |
| 21 | 20 | 20.0002 | 100.001 |
| 22 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 23 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 24 | 20 | 20 | 100 |
| 25 | 20 | 20 | 100 |
| 26 | 20 | 20.0022 | 100.011 |
| 27 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 28 | 20 | 20.0002 | 100.001 |
| 29 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 30 | 20 | 19.9998 | 99.999 |



TABLA No. 1

**LINEARIDAD DEL SISTEMA: CINCO DETERMINACIONES, UNA MUESTRA
(DICLOFENAC SODICO TABLETAS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | ÁREA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|---------------------|---------------------|------------|-----------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 911.28796 | 99.9992 |
| 2 | 12 | 12.0005 | 911.3335 | 100.0042 |
| 3 | 12 | 11.9756 | 909.4426 | 99.9992 |
| 4 | 14 | 13.9997 | 1063.1554 | 99.9979 |
| 5 | 14 | 13.9998 | 1063.1629 | 99.9986 |
| 6 | 14 | 14.0001 | 1063.1857 | 100.0007 |
| 7 | 16 | 15.9999 | 1215.05315 | 99.9981 |
| 8 | 16 | 16 | 1215.06074 | 100 |
| 9 | 16 | 15.9999 | 1215.0532 | 99.9994 |
| 10 | 18 | 18.0005 | 1366.983 | 100.0028 |
| 11 | 18 | 18.0008 | 1367.0041 | 100.0044 |
| 12 | 18 | 17.9999 | 1366.9354 | 99.9994 |
| 13 | 20 | 19.9996 | 1518.7955 | 99.998 |
| 14 | 20 | 20.0001 | 1518.8335 | 100.0005 |
| 15 | 20 | 19.9995 | 1518.7879 | 99.9975 |



TABLA No. 2

**LINEARIDAD DEL SISTEMA: CINCO DETERMINACIONES, UNA MUESTRA
(DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | ÁREA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|------------------------|------------------------|-----------|--------------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 735.8942 | 99.797 |
| 2 | 12 | 12.0005 | 735.9309 | 100.0042 |
| 3 | 12 | 11.9756 | 734.4040 | 99.9992 |
| 4 | 14 | 13.9997 | 858.5319 | 99.9979 |
| 5 | 14 | 13.9998 | 858.5381 | 99.9986 |
| 6 | 14 | 14.0001 | 858.5565 | 100.0007 |
| 7 | 16 | 15.9999 | 981.1943 | 99.9575 |
| 8 | 16 | 16 | 981.2004 | 99.9994 |
| 9 | 16 | 15.9932 | 980.7834 | 100 |
| 10 | 18 | 18.0005 | 1103.8811 | 100.0028 |
| 11 | 18 | 17.9999 | 1103.8443 | 99.9994 |
| 12 | 18 | 18.0008 | 1103.8995 | 100.0044 |
| 13 | 20 | 19.9996 | 1226.4760 | 99.998 |
| 14 | 20 | 20.0001 | 1226.5066 | 99.9975 |
| 15 | 20 | 19.9995 | 1226.4698 | 100.0005 |



TABLA No. 3

**LINEARIDAD DEL SISTEMA: CINCO DETERMINACIONES, UNA MUESTRA
(DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS)**

| DETERMINACIONES | CANTIDAD ADICIONADA | CANTIDAD RECUPERADA | ÁREA | PORCENTAJE RECUPERADO |
|-----------------|---------------------|---------------------|-----------|-----------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 1521.9971 | 99.99916667 |
| 2 | 12 | 12.2221 | 1550.1796 | 101.8508333 |
| 3 | 12 | 12 | 1522.0098 | 100 |
| 4 | 14 | 13.9998 | 1775.6527 | 99.99857143 |
| 5 | 14 | 14.0251 | 1778.8616 | 100.1792857 |
| 6 | 14 | 14.0000 | 1775.6780 | 100 |
| 7 | 16 | 15.9998 | 2029.3209 | 99.99875 |
| 8 | 16 | 16.0002 | 2029.3716 | 100.00125 |
| 9 | 16 | 16 | 2029.3462 | 100 |
| 10 | 18 | 17.9999 | 2283.0018 | 99.99944444 |
| 11 | 18 | 18.2032 | 2308.7872 | 101.1288888 |
| 12 | 18 | 18.0002 | 2283.0399 | 100.0011111 |
| 13 | 20 | 20.0002 | 2536.7082 | 100.001 |
| 14 | 20 | 19.9999 | 2536.6701 | 99.9995 |
| 15 | 20 | 20 | 2536.6827 | 100 |

**EXACTITUD DEL METODO**

Producto: DICLOFENAC SODICO TABLETAS
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 100.141183
Desviación Estándar: 0.45650142
CV = 0.45585782

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO TABLETAS
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproducibilidad)

Valor medio: 100.141183
Desviación Estándar: 0.45650142
CV = 0.45585782

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.

**EXACTITUD DEL METODO**

Producto: DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS

Forma: Producto Terminado

Método Analítico: HPLC

Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 99.9879967

Desviación Estándar: 0.76600738

CV = 0.76609933

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO AMPOLLAS

Forma: Producto Terminado

Método Analítico: HPLC

Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproducibilidad)

Valor medio: 99.9879967

Desviación Estándar: 0.76600738

CV = 0.76609933

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.

**EXACTITUD DEL METODO**

Producto: DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 100.124208
Desviación Estándar: 0.4693676
CV = 0.46878533

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: DICLOFENAC SODICO SUPOSITORIOS
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproducibilidad)

Valor medio: 100.124208
Desviación Estándar: 0.4693676
CV = 0.46878533

Observación: Como $CV < 2\%$ se cumple con el criterio.



GLOSARIO

Calibración: Es una parte de cualificación y consiste en el ajuste interno del equipo, maquina, o instrumento.

Cromató grama: Gráficos o resultados obtenidos después de realizar la cromatografía.

Cualificar: Es dotar o verificar las cualidades o características inherentes a un aparato (equipo, maquina, etc).

Disolvente: Mezclas de sustancias fluidas que constituyen la fase móvil en una cromatografía

Detección: Función- de un detector después del desarrollo.

Desarrollo: Cuando la fase movable junto con la muestra pasa a través del absorbente o soporte y se desarrolla un cromató grama.

Eluente: Disolvente polar utilizado para extraer las sustancias separadas por cromatografía en papel o en capa delgada.

Elusión: Cuando toda la muestra sale del absorbente de la columna.

Fase estacionaria: Fase en la cual se empaca la columna y es responsable por la retención selectiva de los compuestos.

Fase móvil: Fase que fluye a través de la columna, eluyendo las sustancias presentes en la muestra.



Muestra: Sustancia que se desea separar en forma colectiva.

Relación de Flujo (RF): Razón o cociente de las distancias recorridas simultáneamente, desde el origen hasta el centro de las manchas de una sustancia.

Sistema gradiente: Sistema de elusión cuya polaridad se cambia de manera preestablecida durante el proceso de separación.

Sistema isocrático: Sistema que utiliza una fase móvil de polaridad constante durante todo el proceso de separación.

Tiempo de retención de una muestra: Es el tiempo transcurrido por la muestra desde su inyección hasta la elusión del punto máximo del pico.

Validar: Es verificar documentalmente que un método o proceso hace lo que tiene que hacer.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
 ESCUELA DE FARMACIA
 LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS

INSTRUCCIÓN DE TRABAJO DE CONTROL DE CALIDAD

| | |
|--|---|
| | ITCC # H.1 |
| Título : | Página 1 de 3 |
| Método de análisis por H.P.L.C. de Diclofenac Sódica en tabletas. | Fecha de emisión: 5/02/03 |
| Redactado por: revisado por Aprobado por _____ _____ | Revisión # 0 _____ Fecha de revisión: |

PROPÓSITO: El propósito de este procedimiento es validar el método de Diclofenac Sódico utilizando el cromatógrafo líquido de alta presión HPLC.

ALCANCE: Este procedimiento será aplicado a las tabletas de Diclofenac Sódico que deben ser validada por este laboratorio independientemente del laboratorio fabricante.

EQUIPOS Y REACTIVOS:

Equipo HPLC 1100 HEWLETT PACKARD.

Embudos

Balanza analítica.

Tubos de ensayos

Baño ultrasónico

Beacker 250ml

Metanol grado HPLC.

Agua destilada.

Estándar de diclofenac sódico.



Balones de 25, 50ml

Pipetas de 0.5, 1, 2, 6 y 10ml

Mortero y pilón

PROCEDIMIENTOS RELACIONADOS:

P.O.S. HPLC 1100

P.O.S. Balanza analítica

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO:

ANÁLISIS QUÍMICO: Proceder a como se indica en el P.O.S. del equipo HPLC, luego seguir el método de análisis a como se indica.

A. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

- 1) Preparar fase móvil: (metanol(60):(40)agua) para 500 ml
 - 2) Pesar lo equivalente a 0.0625 g de Diclofenac Sódico, disolver en fase móvil y llevarlo a un balón de 50 ml, Utilizar baño ultra sónico y luego aforar con fase móvil. Filtrar a través de papel filtro Watman No.2
 - 3) Tomar una alícuota de 1 ml de la solución filtrada y llevarlo a un balón de 25 ml y aforar para obtener una concentración final de 50 µg/ml.
 - 4) Preparar 5 diluciones para obtener diferentes concentraciones de Diclofenac Sódico: 12, 14, 16, 18 y 20 µg/ml.
-



B. ANÁLISIS CUANTITATIVO:

5) Preparar condiciones de lectura:

Fase móvil : metanol: agua (60:40) para 500 ml

Fase estacionaria : columna c – 8 μ m

Límite de detección: 275nm

Cuota de flujo : 1 ml /min.

Concentración : 50 μ g / ml

6) Realizar inyecciones sucesivas del estándar y de la muestra. Los tiempos de retención del estándar y de la muestra deben coincidir en tiempo y forma.

7) Realizar la cuantificación de Diclofenac Sódico en las muestras analizadas.

8) Los datos obtenidos de la presentes instrucción de trabajo deben ser escrito en el cuaderno de control del análisis y reportadas en el formato “informe de análisis” del laboratorio de control de calidad de medicamentos (UNAN-León).

El resultado de los cálculos deberá oscilar entre 90-110% del principio activo de Diclofenac Sódico en la forma farmacéutica analizada tableta.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
 ESCUELA DE FARMACIA
 LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS

INSTRUCCIÓN DE TRABAJO DE CONTROL DE CALIDAD

| | |
|---|---------------------------|
| | ITCC # H.1 |
| Título : | Página 1 de 3 |
| Método de análisis por H.P.L.C. de Diclofenac Sódica en ampollas. | Fecha de emisión: 5/02/03 |
| Redactado por: revisado por Aprobado por | Revisión # 0 |
| _____ _____ _____ | Fecha de revisión : |

PROPÓSITO: El propósito de este procedimiento es validar el método de Diclofenac Sódico utilizando el cromatógrafo líquido de alta presión HPLC.

ALCANCE: Este procedimiento será aplicado a las ampollas de Diclofenac Sódico que deben ser validada por este laboratorio independientemente del laboratorio fabricante.

EQUIPOS Y REACTIVOS:

Equipo HPLC 1100 HEWLETT PACKARD.

Embudos

Balanza analítica.

Tubos de ensayos

Baño ultrasónico

Beaker 250ml

Metanol grado HPLC.

Agua destilada.

Estándar de diclofenac sódico.

Balones de 25, 50ml

Pipetas de 0.5, 1, 2, 6 y 10ml



PROCEDIMIENTOS RELACIONADOS:

P.O.S. HPLC 1100

P.O.S. Balanza analítica

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO:

ANÁLISIS QUÍMICO: Proceder a como se indica en el P.O.S. del equipo HPLC, luego seguir el método de análisis a como se indica. Concentración

C. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

- 1) Preparar fase móvil: (metanol (60) :(40) agua) para 500 ml
 - 2) Tomar una alícuota de la ampolla que contenga el equivalente de 62.5 mg de principio activo de Diclofenac Sódico que es de 2.5 ml, disolver en fase móvil y llevarlo a un balón de 50ml y luego aforar con fase móvil. Filtrar a través de papel filtro Watman # 2.
 - 3) Tomar una alícuota de 1ml de disolución filtrada, transfíralo a un balón de 25ml y aforar con fase móvil para obtener una concentración final de 50 µg/ml.
 - 4) Preparar 5 diluciones de diferentes concentraciones: 12, 14, 16, 18 y 20 µg/ml de Diclofenac Sódico.
-



D. ANÁLISIS CUANTITATIVO:

5) Preparar condiciones de lectura:

Fase móvil : metanol: agua (60:40) para 500 ml

Fase estacionaria : columna c – 8 μ m

Limite de detección: 275nm

Cuota de flujo : 1 ml /min.

Concentración : 50 μ g / ml

6) Realizar inyecciones sucesivas del estándar y de la muestra. Los tiempos de retención del estándar y de la muestra deben coincidir en tiempo y forma.

7) Realizar la cuantificación de Diclofenac Sódico en las muestras analizadas.

8) Los datos obtenidos de la presentes instrucción de trabajo deben ser escrito en el cuaderno de control del análisis y reportadas en el formato “informe de análisis” del laboratorio de control de calidad de medicamentos (UNAN-León).

El resultado de los cálculos deberá oscilar entre 90-110% del principio activo de Diclofenac Sódico en la forma farmacéutica analizada, ampolla.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
 ESCUELA DE FARMACIA
 LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS

INSTRUCCIÓN DE TRABAJO DE CONTROL DE CALIDAD

| | |
|---|---------------------------|
| | ITCC # H.1 |
| Título : | Página 1 de 3 |
| Método de análisis por H.P.L.C. de Diclofenac Sódica en supositorios. | Fecha de emisión: 5/02/03 |
| Redactado por: revisado por Aprobado por | Revisión # 0 |
| _____ _____ _____ | Fecha de revisión : |

PROPÓSITO: El propósito de este procedimiento es validar el método de Diclofenac Sódico utilizando el cromatógrafo líquido de alta presión HPLC.

ALCANCE: Este procedimiento será aplicado a los supositorios de Diclofenac Sódico que deben ser validada por este laboratorio independientemente del laboratorio fabricante.

EQUIPOS Y REACTIVOS:

Equipo HPLC 1100 HEWLETT PACKARD.

Embudos

Balanza analítica.

Tubos de ensayos

Baño ultrasónico

Beaker 250ml

Metanol grado HPLC.

Agua destilada.

Estándar de diclofenac sódico.

Balones de 25, 50ml

Pipetas de 0.5, 1, 2, 6 y 10ml

Cocina

**PROCEDIMIENTOS RELACIONADOS:**

P.O.S. HPLC 1100

P.O.S. Balanza analítica

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO:

ANÁLISIS QUÍMICO: Proceder a como se indica en el P.O.S. del equipo HPLC, luego seguir el método de análisis a como se indica. Concentración

E. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

- 1) Preparar fase móvil: (metanol (60) :(40) agua) para 500 ml
 - 2) Calentar a una temperatura de 35° - 45°C en un balón de 50 ml la cantidad de 25 ml de fase móvil con un supositorio hasta completa disolución.
 - 3) Tomar una alícuota de 1 ml equivalente a 62.5 mg de principio activo de Diclofenac Sódico. Filtrar en caliente a través de papel filtro Watman # 2.
 - 4) Depositar en un balón de 100ml la cantidad filtrada y aforar con fase móvil para obtener una concentración final de 125 µg/ml, luego preparar 5 disoluciones a diferentes concentraciones de Diclofenac Sódico: 12, 14, 16, 18 y 20 µg/ml .
-



F. ANÁLISIS CUANTITATIVO:

5) Preparar condiciones de lectura:

Fase móvil : metanol: agua (60:40) para 500 ml

Fase estacionaria : columna c – 8 μ m

Limite de detección: 275nm

Cuota de flujo : 1 ml /min.

Concentración : 50 μ g / ml

6) Realizar inyecciones sucesivas del estándar y de la muestra. Los tiempos de retención del estándar y de la muestra deben coincidir en tiempo y forma.

7) Realizar la cuantificación de Diclofenac Sódico en las muestras analizadas.

8) Los datos obtenidos de la presentes instrucción de trabajo deben ser escrito en el cuaderno de control del análisis y reportadas en el formato “informe de análisis” del laboratorio de control de calidad de medicamentos (UNAN-León).

El resultado de los cálculos deberá oscilar entre 90-110% del principio activo de Diclofenac Sódico en la forma farmacéutica analizada supositorio



AGRADECIMIENTO

A DIOS, nuestro señor que me permitió concluir mi carrera, me ilumino, guió con fe y sabiduría.

A MIS PADRES, que con su ayuda, comprensión y su gran amor me fortaleció para poder continuar con mi meta.

A MIS PROFESORES, gracias por su apoyo y conocimientos brindados.

A MI TUTOR, Lic. KELVIN NUÑEZ MARTINEZ por haber compartido sus conocimientos y agradezco por colaborar a realizar y culminar este estudio.

Agradezco a todas las personas que han participado de una u otra forma, en la realización y colaboración de este trabajo.

GRACIAS.

KARLA VANESSA ORTIZ.



DEDICATORIA

Les dedico mi gran sacrificio, que con mucha lucha, orgullo y satisfacción culmine:

A DIOS dedico mi profesión, porque el fue una luz en mi camino y seguirá siendo por siempre.

A MIS PADRES: REYNA CHAVARRIA, RODRIGO ORTIZ por su amor, confianza, esperanza y apoyo económico brindado para por finalizar mi sueño.

A MIS SEIS HERMANOS(AS) por el cariño, apoyo y comprensión que siempre me han brindados. ROSA, RODRIGO, MARBELY, JUAN, REYNA Y ENIA.

A MI TIA Y SU ESPOSO: XIOMARA CHAVARRIA, CARLOS SARRIA por su confianza, fe y apoyo económico para que lograra concluir mi carrera.

A LA FAMILIA GUIDO – ALTAMIRANO Y DOÑA OLIMPIA SLINGER cuyas personas el señor puso en mi camino para que mi familia y yo tuviéramos este momento de alegría.

A MIS AMIGAS por estar siempre conmigo y por su colaboración

Y a las personas que de una forma u otra ayudaron que yo coronara mi carrera.

GRACIAS.

KARLA VANESSA ORTIZ.



INDICE

| CONTENIDOS | PAGINAS |
|------------------------------|---------|
| INTRODUCCION..... | 1 |
| OBJETIVOS... .. | 3 |
| MARCO TEORICO..... | 4 |
| DISEÑO METODOLOGICO | 30 |
| RESULTADOS Y DISCUSION... .. | 35 |
| CONCLUSION..... | 42 |
| RECOMENDACIONES..... | 43 |
| BIBLIOGRAFIAS..... | 44 |
| ANEXOS..... | |



LINEARIDAD DEL METODO: DIEZ DETERMINACIONES, TRES MUESTRAS
DICLOFENAC SODICO (STANDAR)

| Determinaciones | Cantidad adicionada | Cantidad recuperada | Porcentaje recuperado |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 2 | 12 | 12 | 100 |
| 3 | 12 | 12.0002 | 100.001 |
| 4 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 5 | 12 | 12 | 100 |
| 6 | 12 | 12.0001 | 100.0008 |
| 7 | 12 | 12 | 100 |
| 8 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 9 | 12 | 12.0002 | 100.001 |
| 10 | 12 | 11.9999 | 99.9992 |
| 11 | 16 | 16.0001 | 100.0006 |
| 12 | 16 | 16 | 100 |
| 13 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 14 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 15 | 16 | 16 | 100 |
| 16 | 16 | 15.9999 | 99.9994 |
| 17 | 16 | 15.9998 | 99.9987 |
| 18 | 16 | 16 | 100 |
| 19 | 16 | 16.0002 | 99.9994 |
| 20 | 16 | 15.9999 | 99.9995 |
| 21 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 22 | 20 | 20.0003 | 100.0015 |
| 23 | 20 | 20.0001 | 100.0005 |
| 24 | 20 | 20 | 100 |
| 25 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 26 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 27 | 20 | 20.0003 | 100.0015 |
| 28 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |
| 29 | 20 | 20 | 100 |
| 30 | 20 | 19.9999 | 99.9995 |



Agradecimiento.

A Dios y a la virgen santísima por todas esas bendiciones que diariamente recibimos. Por haberme permitido alcanzar esta meta y haber puesto en mi camino gente buena y valiosa.

A mi mamá, por estar siempre a mi lado, brindándome amor, cariño incondicional, dándome animo a seguir adelante y por todos esos consejos que no son en vano y hacer este momento tan especial.

Al Dr. Fonseca por su incondicional ayuda para superarme como futuro profesional y sobre todo como persona.

Gracias

Edwin Antonio López Cáceres.



Dedicatoria.

A Dios y Maria Santísima por ser siempre la luz en mi camino.

A mi mamá Sra. Juana Cáceres, por ser una madre ejemplar que con su amor y apoyo es el eje principal de mi formación, quien trabajó arduamente para que fuese lo que ahora soy y convertirme en un ser dispuesto a servir a mis semejantes.

A mi hijo por ser el regalo más grande que dios me ha dado, es mi mayor fuente de inspiración y uno de los pilares que me sostiene con vida en este mundo.

Gracias

Edwin Antonio López Cáceres.

**DICLOFENAC SODICO ESTANDAR**

$$r = 1$$

$$r^2 = 1$$

$$b = 0.00002$$

$$m = 1$$

$$CV = 0.0007$$

