



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE BENZOCAÍNA Y CLORURO DE  
CETILPIRIDINIO EN TABLETAS DE DISOLUCIÓN BUCAL EN EL  
LABORATORIO NEOFÁRMACO CIA. LTDA.**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: GERMANIA LISSETH ARIAS GUERERO**

**DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA MSc.**

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, **Germania Lisseth Arias Guerrero**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Germania Lisseth Arias Guerrero, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 07 de diciembre del 2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Germania Arias". The signature is stylized with loops and flourishes.

**Germania Lisseth Arias Guerrero**

**060465394-9**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUIMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE BENZOCAÍNA Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN TABLETAS DE DISOLUCIÓN BUCAL EN EL LABORATORIO NEOFÁRMACIA. LTDA.** realizado por la señorita: **GERMANIA LISSETH ARIAS GUERRERO** ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc.  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



2023-12-07

BQF. Diego Renato Vinueza Tapia MSc.  
**DIRECTOR DEL TRABAJO DE  
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2023-12-07

BQF. John Marcos Quispillo Moyota MSc.  
**ASESOR DEL TRABAJO DE  
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2023-12-07

## **DEDICATORIA**

A mis padres Luis y Lucila, que siempre han estado a mi lado aconsejándome, brindándome su apoyo, amor y confianza, muy agradecida por sus enseñanzas y superación cada día, por ustedes soy lo que soy. A mis hermanos Alexander, Abigail, que en el día a día con su presencia, respaldo y cariño me impulsan para salir adelante, además de saber que mis logros también son los suyos.

Germania

## AGRADECIMIENTO

A Dios por los buenos tiempos y los malos, por ser luz, mi escudo y por cada una de las bendiciones derramadas sobre mí a largo de mi caminar. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a mi querida Escuela de Bioquímica y Farmacia, docentes y amistades, que contribuyeron y formaron parte de este camino hacia mi formación profesional. A Laboratorio Neofármaco del Ecuador, por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de desarrollar mi trabajo de titulación en esta prestigiosa empresa y además proporcionarme todas las herramientas necesarias para lograr este objetivo. A los Bioquímicos Farmacéuticos Carlitos Pazmiño y Melissa Fiallos, quienes con su experiencia y conocimiento han sabido guiarme durante el desarrollo del presente proyecto. A todos los amigos de control de calidad por brindarme su amistad y apoyo incondicional en todo momento. Al Bioquímico farmacéutico Diego Vinuesa, que como docente y tutor me brindó la asesoría, confianza y el apoyo necesario para la ejecución de este proyecto. De la misma manera la Bioquímico farmacéutico John Quispillo por la colaboración y asesoramiento brindado.

Germania

## INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE TABLAS .....	x
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
INDICE DE ANEXOS .....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1. <b>DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA</b> .....	3
1.1. <b>Planteamiento del problema</b> .....	3
1.2. <b>Justificación</b> .....	4
1.3. <b>Objetivos</b> .....	5
1.3.1. <i>Objetivo general</i> .....	5
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	5

### CAPÍTULO II

2. <b>MARCO TEÓRICO</b> .....	6
2.1. <b>Información del laboratorio</b> .....	6
2.1.1. <i>Misión</i> .....	6
2.1.2. <i>Visión</i> .....	6
2.2. <b>Referencias teóricas</b> .....	7
2.2.1. <i>Benzocaína</i> .....	7
2.2.2. <i>Cloruro de cetilpiridinio</i> .....	7
2.2.3. <i>Tabletas de disolución bucal</i> .....	8
2.2.4. <b>Validación</b> .....	8
2.2.4.1. <i>Tipos de validación</i> .....	8
2.2.4.2. <i>Categorías de validación</i> .....	9
2.3. <b>Protocolo de validación</b> .....	10
2.3.1. <i>Validación de métodos analíticos</i> .....	10
2.3.2. <i>Ensayos estadísticos</i> .....	13
2.3.2.1. <i>Distribución T Student</i> .....	13

2.3.2.2.	<i>Prueba de Levene</i> .....	13
2.3.2.3.	<i>Análisis de Varianza ANOVA</i> .....	14
2.3.2.4.	<b><i>Diseño de Cribado</i></b> .....	14
2.3.3.	<b><i>Métodos analíticos</i></b> .....	14
2.3.4.	<b><i>Cromatografía</i></b> .....	14
2.3.5.	<b><i>High-performance liquid chromatography (HPLC)</i></b> .....	15
2.3.5.1.	<i>Equipo HPLC</i> .....	15
2.3.5.2.	<i>Parámetros cromatográficos</i> .....	17
2.3.5.3.	<i>Tipos de cromatografía según la polaridad de la fase estacionaria</i> .....	18
2.3.5.4.	<i>Cromatografía de interacción iónica/ pares iónicos (IC)</i> .....	19
2.3.5.5.	<i>Gradiente de elución HPLC</i> .....	19
2.3.6.	<b><i>Valoración volumétrica</i></b> .....	19
2.3.6.1.	<i>Valoración</i> .....	20
2.3.6.2.	<i>Indicadores</i> .....	20
2.3.7.	<b><i>Volumetría de neutralización</i></b> .....	20

### CAPÍTULO III

3.	<b>METODOLOGÍA</b> .....	21
3.1.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	21
3.1.1.	<b><i>Materiales</i></b> .....	21
3.1.2.	<b><i>Equipos</i></b> .....	22
3.1.3.	<b><i>Reactivos</i></b> .....	22
3.1.4.	<b><i>Estándares de referencia</i></b> .....	23
3.2.	<b>Validación del método analítico</b> .....	23
3.2.1.	<b><i>Preparación de soluciones</i></b> .....	23
3.2.1.1.	<i>Preparación de estándares</i> .....	23
3.2.1.2.	<i>Preparación de las muestras</i> .....	24
3.2.2.	<b><i>Parámetros de desempeño a evaluar</i></b> .....	25
3.2.2.1.	<i>Categoría I</i> .....	25
3.2.2.2.	<i>Selectividad</i> .....	27
3.2.2.3.	<i>Linealidad y Rango</i> .....	31
3.2.2.4.	<i>Exactitud</i> .....	35
3.2.2.5.	<i>Precisión</i> .....	36
3.2.2.6.	<i>Precisión intermedia</i> .....	36
3.2.2.7.	<i>Robustez</i> .....	37
3.2.2.8.	<i>Estabilidad</i> .....	41

3.2.2.9.	<i>Idoneidad del sistema</i> .....	44
3.2.2.10.	<i>Incertidumbre de la medición</i> .....	44
3.2.3.	<b>Registro y revisión de datos</b> .....	46

## CAPÍTULO IV

4.	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS</b> .....	55
4.1.	<b>Validación del método analítico</b> .....	55
4.1.1.	<i>Selectividad</i> .....	55
4.1.2.	<i>Linealidad y rango</i> .....	57
4.1.2.1.	<i>Cloruro de cetilpiridinio</i> .....	64
4.1.3.	<i>Exactitud</i> .....	71
4.1.4.	<i>Precisión</i> .....	72
4.1.5.	<i>Robustez</i> .....	75
4.1.6.	<i>AUC</i> .....	77
4.1.7.	<i>Numero de platos teóricos</i> .....	79
4.1.8.	<i>Tiempo de retención</i> .....	81
4.1.9.	<i>Factor de asimetría</i> .....	82
4.1.10.	<i>Benzocaína diluyente B</i> .....	84
4.1.10.1.	<i>AUC</i> .....	84
4.1.10.2.	<i>Número de Platos teóricos</i> .....	86
4.1.10.3.	<i>Tiempo de retención</i> .....	88
4.1.10.4.	<i>Factor de Asimetría</i> .....	89
4.1.11.	<i>Cloruro de cetilpiridinio</i> .....	91
4.1.12.	<i>Estabilidad</i> .....	92
4.1.13.	<i>Degradación forzada</i> .....	94
4.1.14.	<i>Idoneidad del sistema</i> .....	95
4.1.15.	<i>Incertidumbre de la medición</i> .....	96

CONCLUSIONES	.....	99
--------------	-------	----

RECOMENDACIONES	.....	100
-----------------	-------	-----

## BIBLIOGRAFIA

## ANEXOS

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 3-1:</b>	Equipos utilizados en la validación del método analítico .....	22
<b>Tabla 3-2:</b>	Reactivos utilizados en la validación del método analítico .....	22
<b>Tabla 3-3:</b>	Estándares utilizados en la validación del método analítico.....	23
<b>Tabla 3-4:</b>	Concentración de Benzocaína diluyente A y B para parámetro de selectividad ....	27
<b>Tabla 3-5:</b>	Diluciones de Cloruro cetilpiridinio para parámetro de selectividad.....	29
<b>Tabla 3-6:</b>	Pesos y diluciones para parámetro de linealidad para Benzocaína diluyente A ....	32
<b>Tabla 3-7:</b>	Pesos y diluciones para parámetro de linealidad para Benzocaína diluyente B ....	32
<b>Tabla 3-8:</b>	Pesos y diluciones para parámetro de linealidad para cloruro de cetilpiridinio.....	34
<b>Tabla 3-9:</b>	Diseño experimental para la realización del parámetro de precisión intermedia...	37
<b>Tabla 3-10:</b>	Pesos y diluciones para el parámetro Robustez, Benzocaína diluyente A y B.....	37
<b>Tabla 3-11:</b>	Factores y niveles propuesto para parámetro de Robustez- Benzocaína.....	38
<b>Tabla 3-12:</b>	Factores experimentales para la ejecución del diseño superficie de respuesta .....	38
<b>Tabla 3-13:</b>	Variables respuestas establecido para el diseño experimental .....	38
<b>Tabla 3-14:</b>	Combinaciones de factores y niveles para diseño superficie de respuesta .....	39
<b>Tabla 3-15:</b>	Pesos y diluciones para parámetro Robustez para Cloruro de cetilpiridinio.....	40
<b>Tabla 3-16:</b>	Factores y niveles propuesto para Robustez- cloruro de cetilpiridinio .....	40
<b>Tabla 3-17:</b>	Factores experimentales para la ejecución del diseño de Cribado.....	40
<b>Tabla 3-18:</b>	Variables respuestas establecido para el diseño experimental. ....	41
<b>Tabla 3-19:</b>	Condiciones de ensayo para el análisis de Estabilidad de la Benzocaína. ....	41
<b>Tabla 3-20:</b>	Pesos y diluciones para parámetro de Estabilidad .....	41
<b>Tabla 3-21:</b>	Intervalo de tiempo para estabilidad de la solución de Cloruro de cetilpiridinio ..	42
<b>Tabla 3-22:</b>	Pesos y diluciones para parámetro de Estabilidad – Cloruro de Cetilpiridinio.....	42
<b>Tabla 3-23:</b>	Tipos de degradación forzada – para Benzocaína y Cloruro de Cetilpiridinio .....	42
<b>Tabla 3-24:</b>	Pesos y diluciones para parámetro degradación forzada Benzocaína Diluyente B	43
<b>Tabla 3-25:</b>	Pesos y diluciones para degradación forzada- Cloruro de cetilpiridinio.....	44
<b>Tabla 4-1:</b>	Resultados del parámetro de Selectividad del principio activo Benzocaína.....	55
<b>Tabla 4-2:</b>	Resultados del parámetro de Selectividad para Cloruro de cetilpiridinio.....	56
<b>Tabla 4-3:</b>	Resultados del análisis de linealidad del sistema y método para Benzocaína. ....	57
<b>Tabla 4-4:</b>	Resultados del análisis de linealidad y rango para Benzocaína .....	58
<b>Tabla 4-5:</b>	Verificación de varianza de la linealidad del Estándar diluyente A y B.....	62
<b>Tabla 4-6:</b>	Verificación de varianza de la linealidad del placebo cargado diluyente A y B.....	62
<b>Tabla 4-7:</b>	Resultados del análisis de linealidad del para Cloruro de cetilpiridinio .....	64
<b>Tabla 4-8:</b>	Resultados del análisis de linealidad del para Cloruro de cetilpiridinio .....	65
<b>Tabla 4-9:</b>	Verificación de varianza de la linealidad de Cloruro de cetilpiridinio y placebo ..	68

<b>Tabla 4-10:</b> Comparación de linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio vs placebo .....	71
<b>Tabla 4-11:</b> Análisis de Exactitud del sistema para Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio.....	71
<b>Tabla 4-12:</b> Repetibilidad de precisión intermedia de Cloruro de cetilpiridinio y Benzocaína	72
<b>Tabla 4-13:</b> Análisis ANOVA para el análisis del estándar de cloruro de cetilpiridinio.....	73
<b>Tabla 4-14:</b> Análisis ANOVA para el análisis del placebo cargado.....	73
<b>Tabla 4-15:</b> Análisis ANOVA para el análisis del Estándar Benzocaína A .....	74
<b>Tabla 4-16:</b> Análisis ANOVA para el análisis del Placebo cargado Benzocaína A .....	74
<b>Tabla 4-17:</b> Análisis ANOVA para el análisis del Estándar Benzocaína B .....	74
<b>Tabla 4-18:</b> Análisis ANOVA para el análisis del Placebo cargado B.....	75
<b>Tabla 4-19:</b> Resumen de los resultados de robustez Benzocaína Diluyente A y B .....	75
<b>Tabla 4-20:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable ÁREA BAJO LA CURVA. ....	79
<b>Tabla 4-21:</b> Condiciones óptimas de robustez para NÚMERO DE PLATOS TEORICOS. ....	80
<b>Tabla 4-22:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable TIEMPO DE RETENCIÓN. ...	82
<b>Tabla 4-23:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable FACTOR DE ASIMETRÍA....	83
<b>Tabla 4-24:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable AUC.....	85
<b>Tabla 4-25:</b> Condiciones óptimas de robustez para NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS. ....	87
<b>Tabla 4-26:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable TIEMPO DE RETENCIÓN. ...	89
<b>Tabla 4-27:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable FACTOR DE ASIMETRÍA....	90
<b>Tabla 4-28:</b> Condiciones óptimas de robustez para la variable (%) PRINCIPIO ACTIVO.....	92
<b>Tabla 4-29:</b> Resumen de resultados estabilidad de la muestra para estándares Benzocaína. ....	92
<b>Tabla 4-30:</b> Resultados de estabilidad de la muestra para Cloruro de cetilpiridinio. ....	93
<b>Tabla 4-31:</b> Degradación Forzada de Estándares benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio .....	94
<b>Tabla 4-32:</b> Resultados del parámetro de Idoneidad del sistema. ....	95
<b>Tabla 4-33:</b> Incertidumbre de la medición para Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio. ....	97

## INDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b>	Formación de la benzocaína.....	7
<b>Ilustración 2-2:</b>	Estructura química del cloruro de cetilpiridinio .....	8
<b>Ilustración 3-1:</b>	Diagrama de Ishikawa para determinación de las fuentes de incertidumbre.	45
<b>Ilustración 4-1:</b>	Graficas de residuos- Linealidad de Estándar Benzocaína A y B .....	63
<b>Ilustración 4-2:</b>	Graficas de residuos- Linealidad del Método Benzocaína A y B.....	63
<b>Ilustración 4-3:</b>	Esquema de Cuantiles Estándar vs Placebo cargado .....	64
<b>Ilustración 4-4:</b>	Linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio .....	69
<b>Ilustración 4-5:</b>	Gráfica de residuos- Linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio .....	69
<b>Ilustración 4-6:</b>	Linealidad placebo cargado .....	70
<b>Ilustración 4-7:</b>	Gráfica de residuos- Linealidad Placebo cargado.....	70
<b>Ilustración 4-8:</b>	Diagrama de Pareto Estandarizada para AUC de Benzocaína Diluyente A..	78
<b>Ilustración 4-9:</b>	Gráfico de efectos principales para AUC de Benzocaína con diluyente A ...	78
<b>Ilustración 4-10:</b>	Malla superficie de respuesta para variable AUC Benzocaína Diluyente A.	78
<b>Ilustración 4-11:</b>	Diagrama de Pareto Número de platos teóricos Benzocaína Diluyente A ....	79
<b>Ilustración 4-12:</b>	Efectos para el Número de platos teóricos de Benzocaína diluyente A.....	80
<b>Ilustración 4-13:</b>	Malla superficie de numero de platos teóricos Benzocaína Diluyente A.....	80
<b>Ilustración 4-14:</b>	Diagrama de Pareto tiempo de retención de Benzocaína Diluyente A .....	81
<b>Ilustración 4-15:</b>	Malla superficie para variable tiempo retención Benzocaína diluyente A....	81
<b>Ilustración 4-16:</b>	Diagrama de Pareto para Factor de Asimetría de Benzocaína Diluyente A..	82
<b>Ilustración 4-17:</b>	Efectos principales para el Factor de Asimetría de Benzocaína diluyente A	83
<b>Ilustración 4-18:</b>	Malla superficie variable Factor de Asimetría Benzocaína Diluyente A .....	83
<b>Ilustración 4-19:</b>	Diagrama de Pareto Estandarizada para AUC de Benzocaína Diluyente B..	84
<b>Ilustración 4-20:</b>	Efectos principales para AUC de Benzocaína diluyente B .....	84
<b>Ilustración 4-21:</b>	Malla superficie respuesta para variable AUC Benzocaína Diluyente B.....	85
<b>Ilustración 4-22:</b>	Diagrama de Pareto-Número de platos teóricos Benzocaína Diluyente B ...	86
<b>Ilustración 4-23:</b>	Efectos principales de Número de platos teóricos Benzocaína diluyente B.	86
<b>Ilustración 4-24:</b>	Malla superficie para Número de platos teóricos Benzocaína Diluyente B..	87
<b>Ilustración 4-25:</b>	Diagrama de Pareto- tiempo de retención para Benzocaína Diluyente B. ....	88
<b>Ilustración 4-26:</b>	Efectos principales para Tiempo de retención de Benzocaína diluyente B ..	88
<b>Ilustración 4-27:</b>	Malla superficie para Tiempo de retención para Benzocaína Diluyente B...	88
<b>Ilustración 4-28:</b>	Diagrama de Pareto para el Factor Asimetría de Benzocaína Diluyente B...	89
<b>Ilustración 4-29:</b>	Efectos principales para Factor de asimetría de Benzocaína diluyente B.....	90
<b>Ilustración 4-30:</b>	Malla superficie para Factor de Asimetría de Benzocaína Diluyente B .....	90
<b>Ilustración 4-31:</b>	Esquema de Pareto cantidad de principio activo-Cloruro de cetilpiridinio.	91

<b>Ilustración 4-32:</b> Malla Superficie estimada para Estándar Cloruro de cetilpiridinio .....	91
<b>Ilustración 4-33:</b> Fuente de incertidumbre-medición Benzocaína y cloruro de cetilpiridinio.	97
<b>Ilustración 4-34:</b> Fuente de Incertidumbre de la medición para Cloruro de Cetilpiridinio .....	97

## **INDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** CROMATOGRAMAS DE SELECTIVIDAD BENZOCAÍNA DILUYENTE A
- ANEXO B:** CROMATOGRAMAS DE SELECTIVIDAD BENZOCAÍNA DILUYENTE B
- ANEXO C:** RECTAS DE REGRESIÓN DE ANÁLISIS DE LINEALIDAD BENZOCAÍNA DILUYENTE A
- ANEXO D:** RECTAS DE REGRESIÓN DE ANÁLISIS DE LINEALIDAD BENZOCAÍNA DILUYENTE B
- ANEXO E:** CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A
- ANEXO F:** CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B
- ANEXO G:** CROMATOGRAMAS DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS ESTABLECIDAS EN EL ANÁLISIS DE ROBUSTEZ BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A
- ANEXO H:** CROMATOGRAMAS DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS ESTABLECIDAS EN EL ANÁLISIS DE ROBUSTEZ BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B
- ANEXO I:** CROMATOGRAMAS AL ANÁLISIS DE LA ESTABILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A
- ANEXO J:** CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DE LA ESTABILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B
- ANEXO K:** REPORTE DEL TEST DE LA IDONEIDAD DEL SISTEMA DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A
- ANEXO L:** REPORTE DEL TEST DE LA IDONEIDAD DEL SISTEMA DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B
- ANEXO M:** EVIDENCIA FOTOGRAFICA PARA DETERMINACION DE CLORURO CETILPIRIDINIO MEDIANTE ANÁLISIS VOLÚMETRICO
- ANEXO N:** EVIDENCIA DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR BENZOCAÍNA Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN TABLETAS BUCOSEPT

## RESUMEN

El objetivo del presente proyecto de estudio fue demostrar que el método analítico desarrollado para la determinación de Benzocaína (HPLC) y Cloruro de cetilpiridinio (Análisis Volumétrico), en tabletas de disolución bucal elaboradas por el laboratorio Neofármaco, cumple con los parámetros de validación considerados por informe 37 según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Las características fisicoquímicas de Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio en estándar y placebo cargado, fue esencial para la elaboración del protocolo y posterior validación del método analítico, identificando cada uno de los parámetros de validación y criterios de aceptación en base a reportes de la OMS, Conferencia Internacional de Armonización (ICH), Asociación española de farmacéuticos de la industria (AEFI) y Farmacopea de Estados Unidos (USP); para productos farmacéuticos terminados a granel establecido en la categoría I de la USP, 2023. Demostrando que el método analítico desarrollado es selectivo dado que el porcentaje de discrepancia menor al 5% tanto para Benzocaína en diluyente A y B como en Cloruro de cetilpiridinio, lineal debido a que presenta  $r > 999$  y  $r^2 > 999$  para estándar y placebo cargado a niveles de 70% al 130% para Benzocaína en diluyente A y B y niveles de 12,5% al 150%, para Cloruro de cetilpiridinio, preciso considerando que el (RSD  $< 2,0$ ) al evaluarlo frente al estándar; la exactitud del método se basa en el porcentaje de recuperación (98,145% para Benzocaína en diluyente A, 100,749% Benzocaína diluyente B y 99,631% para Cloruro de cetilpiridinio), Idóneo y Robusto. Demostrando que el método desarrollado, optimizado y validado cumplió con todos los parámetros de validación, en base a los resultados obtenidos siendo consistente y reproducible en las condiciones de operación establecidas para Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio en tabletas de disolución bucal logrando su ejecución para el control de calidad del producto terminado Bucosept.

**Palabras clave:** <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO>, <CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)>, <ANÁLISIS VOLUMÉTRICO>, <PROTOCOLO DE VALIDACIÓN>, <PARÁMETROS DE VALIDACIÓN>.

2237-DBRA-UPT-2023



## ABSTRACT

The main objective of this research study was to demonstrate that the analytical method developed for the determination of Benzocaine (HPLC) and Cetylpyridinium Chloride (Volumetric Analysis), in buccal dissolution tablets produced by the Neofármaco laboratory, complies with the validation parameters considered by report 37 according to the World Health Organization (WHO). The physicochemical characteristics of Benzocaine and Cetylpyridinium Chloride in standard and placebo loaded, were essential for the development of the protocol and subsequent validation of the analytical method, identifying each of the validation parameters and acceptance criteria based on reports from the WHO, International Conference on Harmonization (ICH), Asociación española de farmacéuticos de la industria (AEFI) and United States Pharmacopoeia (USP); for bulk finished pharmaceutical products established in category I of the USP, 2023. Demonstrating that the analytical method developed is selective given that the percentage discrepancy is less than 5% for both Benzocaine in diluent A and B and Cetylpyridinium Chloride, linear because it has  $r > 0.999$  and  $r^2 > 0.999$  for standard and placebo loaded at levels from 70% to 130% for Benzocaine in diluent A and B and levels from 12.5% to 150%, for Cetylpyridinium Chloride, accurate considering that the (RSD < 2.0) when evaluated against the standard; the accuracy of the method is based on the percentage recovery (98.145% for Benzocaine in diluent A, 100.749% Benzocaine diluent B and 99.631% for Cetylpyridinium Chloride), Suitable and Robust. Demonstrating that the developed, optimized, and validated method complied with all the validation parameters, based on the results obtained, being consistent and reproducible in the operating conditions established for Benzocaine and Cetylpyridinium Chloride in buccal dissolution tablets, achieving its execution for the quality control of the finished product Bucosept.

**Keywords:** <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD>, <High Performance Liquid Chromatography (HPLC)>, <VOLUMETRIC ANALYSIS>, <VALIDATION PROTOCOL>, <VALIDATION PARAMETERS>.

  
Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva  
C.I 0603239070

## INTRODUCCIÓN

La validación de los métodos analíticos es ampliamente utilizada en la industria farmacéutica para la identificación y cuantificación de los componentes activos, impurezas y productos de degradación en materias primas y formas terminadas, así como para la determinación de propiedades específicas que influyen en la acción del producto como la disolución y la velocidad de liberación (Marrero y González, 2005, p. 2).

Por otra parte, en la industria farmacéutica, la validación de los métodos analíticos juegan un papel importante ya que, nos permiten su empleo en los estudios de estabilidad, los que son obligatorios para cualquier sustancia activa o forma farmacéutica terminada, estos nos ayudan a precisar el plazo de tiempo en que el producto mantiene constante los parámetros descritos en sus especificaciones de calidad (Marrero y González, 2005, p. 2).

La Agencia de Control, Regulación y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) en la Normativa de “Buenas Prácticas para Laboratorios Farmacéuticos” determinada en el estatuto orgánico resolución No. ARSA-DE 008-2018-JCGO, con fecha última de modificación 2022-02-10, en la disposición octava establece que, los laboratorios farmacéuticos nacionales de medicamentos deben cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura respectivamente para cada tipo de producto, con materia prima utilizada en la elaboración de medicamentos y que cuenten con sus respectivos registros de validación de procesos, de acuerdo al instructivo que la Agencia emita para el efecto (ARCSA, 2022).

Además, la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), de acuerdo a su guía Q2A y la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), en su proyecto de guía de procedimientos analíticos y validación para métodos para medicamentos y productos biológicos, nos da un modelo de cómo llevar a cabo la validación de procedimientos analíticos en la industria farmacéutica para obtener resultados satisfactorios en sus análisis (FDA, 2015) (ICH-Q2A, 2007).

Los laboratorios farmacéuticos tienen la obligación de asegurar que los productos que se ponen a disposición de las personas respondan a las normas internacionales y nacionales de calidad y seguridad (Bolaños & Bond, 2016, p.1). La aplicación vigorosa de buenas prácticas de fabricación es un requisito indispensable para poder asegurar la calidad y seguridad de los medicamentos, a lo largo de todas las fases de preparación de los diferentes productos farmacéuticos (OMS, 2004, p. 2).

En la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP NF-2023), se evidencia el método analítico para la determinación de benzocaína y cloruro de cetilpiridinio por separado en tabletas de disolución bucal, las cuales tienen como método la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) y Análisis Volumétrico respectivamente, tales procesos de validación permiten determinar a los compuestos por separado, actualmente, no se describe ningún método analítico para la determinación de los dos compuestos juntos en tabletas de disolución bucal (USP, 2022, p.1).

## CAPÍTULO I

### 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Planteamiento del problema

En el informe 37, de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se manifiesta que, el objetivo principal de la validación analítica es, asegurar que un procedimiento analítico seleccionado de resultados reproducibles y confiables, que sean adecuados para el propósito previsto. Estos principios se aplican a todos los procedimientos descritos en la farmacopea y también a los procedimientos no incluidos en la farmacopea, los cuales deben emplearse en la industria farmacéutica (OMS, 2010, p.7).

La Red Panamericana para Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF), que corresponde al documento Técnico N° 6 de la OMS N° 957 del 2010, “Buenas Prácticas de la OMS para laboratorio de control de calidad de productos farmacéuticos”, en el punto 16.3 de validación de procedimientos analíticos, considera que, todos los métodos farmacopeicos están validados para el uso previsto por parte de los pacientes como se establece en la monografía y los resultados ya que deben ser documentados en el informe de la validación del mismo (OMS, 2010, p. 33 )

Sin embargo, el laboratorio farmacéutico debe validar que en un producto terminado que se analiza por primera vez, no aparezcan interferencias a partir de los excipientes presentes, o que, para un ingrediente farmacéutico activo, las impurezas que aparecen a partir de una nueva ruta de síntesis estén diferenciadas adecuadamente (OMS, 2010, p. 32 ).

El Laboratorio Neofármaco CIA. LTDA., tiene la necesidad de validar procesos analíticos tanto de la materia prima como de especialidades farmacéuticas y cumplir con el informe de plan maestro de validación actualizado y estudios de estabilidad, debido a la exigencia establecida por la Agencia de Control, Regulación y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) sobre la “Obtención, Renovación, Ampliación, Inclusión de Formas Farmacéuticas y Modificación del Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para los Laboratorios Farmacéuticos Nacionales que Fabriquen, Maquilen, Acondicionen, Almacenen, Distribuyen y Transporten los Productos Naturales Procesados de uso Medicinal” (ARCSA, 2022).

## **1.2. Justificación**

Todos los procedimientos analíticos deben ser adecuados para el uso al que están destinados. Esto se demuestra en la validación, la cual sirve para establecer criterios de aceptación en los ensayos de aptitud del sistema (OMS, 2010, p. 32).

La validación debe realizarse de acuerdo con el protocolo de validación, que incluyen las características de desempeño analítico a ser verificadas como la, selectividad, linealidad y rango, exactitud, precisión, robustez, estabilidad, idoneidad del sistema, incertidumbre de la medición, dentro de los establecidos por organismos Nacionales e Internacionales, y así garantizar que el método analítico desarrollado permita obtener resultados que proporcionen seguridad y fiabilidad, siempre que se trabaje a las mismas condiciones establecidas (AEFI, 2001).

Por tanto, el presente trabajo permitirá comprobar que los resultados obtenidos durante la validación del método analítico para la determinación de benzocaína (Cromatografía líquida HPLC) y cloruro de cetilpiridinio (Análisis volumétrico) en la forma farmacéutica de disolución bucal, cumplan con las especificaciones requeridas en base a los procesos de validaciones establecidas por la USP NF- 2023 Farmacopea Estadounidense, capítulo 1225(validación de procedimientos analíticos) y metodologías internas del Laboratorio Neofármaco Cia. Ltda. El Laboratorio Neofármaco Cia. Ltda., facilitará los recursos técnicos, reactivos e insumos instrumentales y demás materiales para llevar a cabo el presente trabajo experimental puesto que, es de interés mutuo realizar la validación de la metodología analítica establecida para la determinación de benzocaína y cloruro de cetilpiridinio en tabletas de disolución bucal.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Validar un método analítico para la determinación de Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio en tabletas de disolución bucal en el laboratorio NEOFÁRMACO CIA. LTDA.

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

- Estudiar los criterios de validación del método analítico desarrollado para Benzocaína (cromatografía líquida HPLC) y Cloruro de cetilpiridinio (análisis volumétrico).
- Demostrar que el método analítico resulta adecuado en términos estadísticos mediante la aplicación del protocolo de validación.
- Determinar que el método analítico desarrollado proporciona seguridad y fiabilidad en el momento de análisis de los principios activos en el medicamento.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Información del laboratorio

Neofármaco Cia. Ltda., es un laboratorio farmacéutico ubicado en la ciudad de Ambato, fundado en el año 1967 por el Dr. Rodrigo Peña Pazmiño, Doctor Químico Farmacéutico junto con su esposa Señora Sylvia Ortega de Peña, nació con la ideología de *“Proveer salud a la comunidad con productos farmacéuticos de la más alta calidad, excelente presentación y a precios razonables en el mercado”*, trabajó con una excelente trayectoria de 50 años en el mercado farmacéutico del Ecuador (Laboratorio Neofármaco, 2023, p.1).

Laboratorio Neofármaco del Ecuador Cia. Ltda., empresa farmacéutica que elabora productos farmacéuticos, naturales procesados de uso medicinal y cosméticos, donde se establece, declara y asume el compromiso permanente con la calidad, productividad, mejora continua, seguridad y salud en sus procesos, así como el cuidado del entorno; cumpliendo con las normativas vigentes, controlando la calidad, dando el seguimiento oportuno en farmacovigilancia y reduciendo riesgos e incertidumbre durante todo el ciclo de vida del producto. Está certificado con Buenas Prácticas de Manufactura, Calidad Internacional de Certificaciones ISO 9001., reconocidas a nivel Nacional e Internacional con alta calidad, seguridad, eficacia y precio accesible, garantizando así la satisfacción de los clientes (Laboratorio Neofármaco, 2023, p.2).

##### 2.1.1. Misión

“Proveer a la población nacional e internacional medicamentos, productos naturales procesados de uso medicinal y cosméticos, de alta calidad seguridad y eficacia y a un costo asequible; contando con un proceso e insumos adecuados y controlados, personal altamente calificado, tecnología y servicios de vanguardia que aseguran la calidad durante todo el ciclo de vida del producto”(Laboratorio Neofármaco, 2023, p. 1).

##### 2.1.2. Visión

“Alcanzar el liderazgo en la industria farmacéutica en base a la innovación de la cetera de nuevos productos respaldado con los puntos de venta ubicados estratégicamente en todo el país, con el apoyo de personal especializado y altamente motivado por su filosofía de trabajo en equipo, compromiso con la calidad, venta y servicios; buscando permanentemente el desarrollo integral

y equitativo de talento humano a través del bienestar y progreso de todo el personal que hacemos esta industria farmacéutica” (Laboratorio Neofármaco, 2023, p.1).

## 2.2. Referencias teóricas

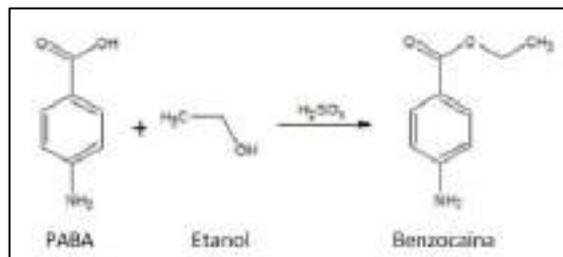
### 2.2.1. Benzocaína

Es un éster del ácido para-aminobenzoico (PABA) insoluble en agua, que se utiliza como anestésico local de baja absorción. Su acción terapéutica es aliviar el dolor de una variedad de afecciones, tales como la dentición, el dolor de garganta, las aftas bucales, la irritación de la boca y las encías (FDA, 2018).

La molécula se absorbe lentamente iniciando su acción de forma inmediata, la duración es de unos 10- 20 minutos en pastillas para disolver en la boca, que actúan de manera local (Bonet, 2011).

La síntesis de la benzocaína se realiza a través de una esterificación de Fisher, proceso que se aplica sobre el ácido p-aminobenzoico (PABA) que reacciona con etanol para formar benzocaína (García, 2021, p.14).

La reacción que describe este proceso es la siguiente:



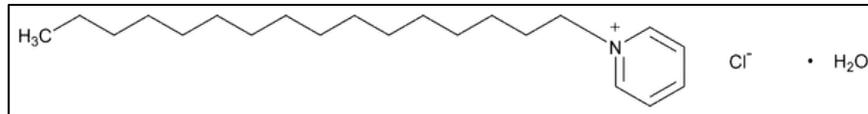
**Ilustración 2-1:** Formación de la benzocaína

Fuente: García, 2021, p.14.

### 2.2.2. Cloruro de cetilpiridinio

Es un derivado del amonio cuaternario, presenta tendencia al unirse a los tejidos orales debido a su fuerte carga positiva, ejerce su acción como antiséptico de amplio espectro de acción frente a bacterias Gram (+) y Gram (-) por ser un surfactante de tipo catiónico alterando la permeabilidad de la membrana microbiana. Su acción terapéutica es el alivio de dolor e irritación de la boca y garganta que acompaña a proceso irritativos (Vademecum, 2015).

Presenta una buena absorción a pH oral (6,7- 7,4) y consta de una permanencia de tiempo en la cavidad oral de 3-5 horas. Además, realiza una actividad antiplaca y frente a las toxinas proinflamatorias liberadas por las bacterias, previniendo la aparición de gingivitis (Dentaid, 2020, p.5).



**Ilustración 2-2:** Estructura química del cloruro de cetilpiridinio

Fuente: USP-NF, 2023, p.1.

### 2.2.3. *Tabletas de disolución bucal*

Es una forma de dosificación sólida conteniendo sustancias medicinales o fármaco con rápida desintegración usualmente en unos segundos cuando es colocada sobre la lengua, sin beber agua liberando el fármaco que se disuelve en la saliva (FDA, 2015).

### 2.2.4. *Validación*

Es el proceso que establece, mediante estudios en el laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. Por el cual se establece la evidencia documental de que un procedimiento analítico presentará un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos, fiables y exactos dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos (USP-NF, 2023, p. 1225).

#### 2.2.4.1. *Tipos de validación*

- *Validación prospectiva*

Se lleva a cabo durante la etapa de desarrollo en que se realiza un análisis de riesgo de cada etapa del proceso, el cual se divide en pasos individuales, que son luego evaluados basándose en la experiencia pasada, a fin de determinar qué pasos pueden llevar a situaciones críticas; es decir es esencial para limitar el riesgo de errores que se producen a escala de producción antes de su comercialización (Ríos y Badilla, 2004, p.5).

Para este tipo de validación, es necesario que el tamaño de los lotes objeto del estudio sean del mismo tamaño y se desarrollen a escala industrial (OMS, 2010).

- *Validación concurrente*

Se aplica durante la manufactura rutinaria de un producto a comercializar, esta validación se lleva a cabo mediante estudios estadísticos a los resultados, tras el análisis de los parámetros críticos de calidad como la robustez, fiabilidad y consistencia del proceso de producción (Ríos y Badilla, 2004, p.5).

- *Validación retrospectiva*

En este proceso se incluye la evaluación de experiencia pasadas a través de la documentación de producción, bajo la condición de que la composición, procedimientos y equipos permanezcan sin cambios. Se puede llevar a cabo un análisis de tendencias para determinar el grado en que los parámetros del proceso se hallan dentro del intervalo admisible (Ríos y Badilla, 2004, p.5).

Evidentemente, no es una medida de garantía de la calidad por sí misma, de manera que nunca debe aplicarse a procesos o productos nuevos. Se puede considerar únicamente en circunstancias especiales, por ejemplo, cuando en una empresa se introducen por primera vez los requisitos de validación.

Si la validación retrospectiva arroja resultados positivos, ello indica que el proceso no necesita atención inmediata y puede validarse de conformidad con el calendario normal (OMS, 2010).

#### 2.2.4.2. *Categorías de validación*

Los requerimientos de las pruebas farmacopeicas varían desde determinaciones analíticas muy rigurosas hasta evaluaciones subjetivas de atributos. Considerando esta amplia variedad, es lógico que diferentes procedimientos de prueba requieren diferentes esquemas de validación (USP-NF, 2023, p.1225).

Por lo que se ha dividido en las siguientes categorías:

- *Categoría I*

Procedimientos analíticos para la cuantificación de componentes principales de fármacos a granel o ingredientes activos (incluyendo conservantes) en productos farmacéuticos terminados (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Categoría II*

Procedimientos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos procedimientos incluyen análisis cuantitativos y pruebas de límite (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Categoría III*

Procedimientos analíticos para la determinación de las características de desempeño (p.ej. disolución, liberación de fármacos entre otros) (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Categoría IV*

Son pruebas de identificación, aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra (USP-NF, 2023, p.1225).

### **2.3. Protocolo de validación**

Este documento conlleva todo el proceso de validación a realizar, la identificación de los parámetros, el diseño del plan experimental y los criterios de aceptación para el método analítico de estudio en dependencia de su utilidad (AEFI, 2001, p.35).

#### *2.3.1.1. Validación de métodos analíticos*

Es el proceso por el cual se demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado, a través de estudios de laboratorio se verifica que las características de desempeño del método cumplan con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. La metodología y el objetivo de los procedimientos analíticos deben estar claramente definidos y comprendidos antes de iniciar los estudios de validación (FDA, 2015, p.10).

Los datos deben generarse bajo un protocolo aprobado por el patrocinador siguiendo las buenas prácticas de fabricación actuales con la descripción de la metodología de cada uno los parámetros de validación y criterios de aceptación predeterminados (FDA, 2015, p.10).

La validación de procedimientos farmacopeicos pueden involucrar algunas o todas las características analíticas típicas sugeridas que se usan en la validación de métodos y se categorizan por tipo de método analítico (USP-NF 2023, p.1225).

En este proceso se comprueban los siguientes parámetros:

- *Selectividad*

Es la capacidad de evaluar inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz. La falta de selectividad de un procedimiento analítico individual puede compensarse usando otros procedimientos analíticos complementarios (USP-NF, 2023, p. 1225).

- *Linealidad e intervalo*

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

El intervalo de un procedimiento analítico es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior del analito en la cual se puede determinar al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el procedimiento según se describe por escrito (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Precisión*

Es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea, se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Exactitud*

Es la proximidad entre los resultados de la prueba mediante ese procedimiento y el valor verdadero. La exactitud de un procedimiento analítico debe establecer en todo su intervalo (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Robustez*

Es una medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas, en los parámetros del procedimiento indicados en la documentación, y provee una indicación de su aptitud durante condiciones normales de uso. La robustez puede determinarse

durante la etapa de desarrollo durante la etapa de desarrollo del procedimiento analítico (USP-NF, 2023, p.1225).

- *Idoneidad del sistema*

Representa un conjunto de procedimientos y parámetros de pruebas de confirmación para asegurar que el sistema (equipos electrónicos, operaciones analíticas y controles a analizar) funcionará correctamente como un sistema integrado en el momento de su uso (FDA, 2015, p.5).

- *Incertidumbre de la medición*

Es un parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores cuantitativos que se atribuyen a un mensurando, basado en la información usada. Esencialmente, nunca se puede conocer con absoluta certeza el valor verdadero (es decir, el valor cuantitativo del mensurando) que se está midiendo (Weitzel et al. 2017, p. 3).

Se asocia una incertidumbre a todas las mediciones realizadas que tiene como factores los siguientes:

- El instrumento de medición.
- El observador.
- Las condiciones externas.
- La naturaleza de la magnitud.

Cada factor contribuye por separado al aumento de la incertidumbre y constituye en un grado mayor o menor a la incertidumbre total de la medición (Weitzel et al. 2017, p. 3).

- *Estabilidad*

Capacidad de un producto farmacéutico para conservar sus propiedades químicas, físicas, microbiológicas y biofarmacéuticas dentro de límites especificados, a lo largo de su tiempo de conservación (OMS, 2012, p.71).

Los estudios de estabilidad es proveer evidencia sobre la variación en la calidad de un producto farmacéutico en el tiempo, bajo la influencia de factores ambientales como la temperatura, humedad e iluminación y establecer el período de validez de un producto en el material de envase elegido y sus condiciones de almacenamiento, así como periodos de reevaluación de las sustancias y productos (OMS, 2012, p. 72).

- *Límite de detección y cuantificación*

El límite de detección (LOD) es considerado como la mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado, aunque no necesariamente cuantificado con precisión y exactitud; el límite de cuantificación (LOQ) es la mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con una adecuada exactitud y precisión. Este parámetro tiene sentido y especial interés en la determinación de concentraciones bajas de analito. El LOD se puede valorar considerando de 2 a 3 desviaciones estándares el ruido, mientras que el LOQ se considera 10 desviaciones estándar del ruido del detector. Se calcula aplicando la siguiente ecuación (AEFI, 2001, p.33).

Donde:

$$LOD = \frac{3.3 \times \sigma}{S'}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma}{S'}$$

$\sigma$  = desviación estándar del intercepto calculado en el ensayo de linealidad

$S'$  = el valor de la pendiente calculada en el ensayo de linealidad

### **2.3.2. Ensayos estadísticos**

#### **2.3.2.1. Distribución T Student**

Es un método de análisis estadístico que hace referencia a la distribución de la probabilidad de t-student, la cual permite estimar el valor de la media poblacional de una variable aleatoria que sigue una distribución normal cuando el parámetro se extrae de una muestra pequeña y se descompone la varianza poblacional (Molina, 2021, p.1).

#### **2.3.2.2. Prueba de Levene**

Es una prueba estadística inferencial utilizada para la evaluar la igualdad de las varianzas para una variable calculada para dos o más grupos. Se calcula para cada dato experimental la diferencia absoluta entre su valor y la mediana de su grupo, llevándose a cabo un análisis de la varianza de un factor sobre esas diferencias (Mongay, 2011, p.133).

### *2.3.2.3. Análisis de varianza ANOVA*

El ANOVA es conjunto de técnicas estadísticas que prueban una hipótesis, de gran utilidad y ductilidad. Es útil cuando hay más de dos grupos que necesitan ser comparados, se emplea cuando hay mediciones repetidas en más de dos ocasiones y los sujetos pueden variar en una o más características que afectan el resultado (Dagnino, 2014, p.1).

### *2.3.2.4. Diseño de cribado*

Consisten en identificar y reducir significativamente los factores más importantes que afectan la calidad del proceso (Polo, 2007, p.106).

### *2.3.3. Métodos analíticos*

Son procedimientos que explican detalladamente todas las operaciones necesarias para efectuar un análisis concreto. En cada uno de los casos la metodología analítica deberá ajustarse a los requerimientos necesarios para cumplir con la finalidad específica, la elección del método analítico será determinante para la veracidad de los resultados obtenidos, ya que no siempre el mismo método analítico será válido para obtener la respuesta correcta, por ejemplo, el método seleccionado para evaluar la pureza de la materia prima del principio activo, no será óptimo para controlar el contenido del mismo en la formulación o para establecer su estabilidad en dicha formulación (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

En las farmacopeas se pueden encontrar las especificaciones de los métodos a utilizar en cada uno de estos casos, así como la instrumentación más idónea, las cuales habitualmente requieren de la utilización de sustancias de referencia apropiadas, de calidad garantizada, tanta para calibrar los equipos utilizados, como para llegar a un resultado cuantitativo con el método de análisis propuesto (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

En todos los casos los métodos analíticos que se utilicen deberán estar siempre validados, como cualquier otro proceso utilizado en la fabricación industrial de medicamentos (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

### *2.3.4. Cromatografía*

Es un procedimiento de separación de varias etapas en los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras que la otra es móvil. La fase

estacionaria puede ser un sólido o un líquido soportado sobre un sólido o un gel. La fase estacionaria puede estar empaquetada en una columna, esparcida como una capa o distribuida como una película, etc. La fase móvil puede ser gaseosa o líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en absorción, distribución de masa (partición), intercambio iónico, o puede basarse en diferencias en las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, como tamaño, masa, volumen, etc (USP-NF, 2023, p.621).

### **2.3.5. *High-performance liquid chromatography (HPLC)***

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) es un tipo de cromatografía de elución, es una técnica de separación muy utilizada debido a su gran versatilidad, ya que cubre un amplio espectro de aplicaciones, con rapidez y con excelentes resultados, siendo además un muy buen método analítico cuantitativo (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

Mediante HPLC, se separan los componentes de una mezcla, en base a la migración diferencial de los mismos, en un sistema que consta de dos fases, una móvil, que fluye continuamente en una determinada dirección, y otra estacionaria, lo cual permanece fija. Se realiza en columna y por sus características particulares se ha convertido en una de las de mayor rendimiento y eficacia (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

Se utilizan columnas de acero inoxidable, e diámetro muy reducido, por ejemplo, 2 mm, rellenas de materiales cuyas partículas tienen un tamaño no mayor de 30-40  $\mu\text{m}$ , usualmente entre 3-10  $\mu\text{m}$ . Este tipo de columna ofrece una gran resistencia al flujo de la fase móvil, o sea una gran caída de presión.

Por esta razón es necesario emplear sistemas de bombeo de alta presión (hasta 6000 psi) que hagan fluir la fase móvil a una velocidad razonable a través de la columna. La cantidad de fase estacionaria dentro de la columna es pequeña, por lo que se requiere que la muestra también sea pequeña ( $\mu\text{g}$ - $\text{mg}$ ) (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

#### **2.3.5.1. *Equipo HPLC***

- *Columna cromatográfica*

Es el corazón del sistema cromatográfico, en ella se produce la retención de los diferentes compuestos que permiten su separación (Pássaro y Rivera, 2016, p.27).

- *Sistemas de bombeo*

La bomba de un equipo HPLC impulsa la fase móvil desde el recipiente que la contiene hacia el inyector y desde allí hacia la columna. El flujo de dicha fase móvil puede ser muy variable, desde  $\mu\text{l}/\text{min}$  hasta  $\text{ml}/\text{min}$  (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

Las bombas están construidas de materiales muy resistentes tanto al ataque químico como al desgaste mecánico, por lo cual están diseñadas para trabajar a presión máxima de operación (usualmente hasta 6000 psi), con un sistema de corte al excederlo, además de poseer facilidad para efectuar el cambio de fases móviles, control y reproducibilidad del caudal mejor del 0,5% relativo e intervalo de volúmenes obtenibles (entre 0,1-10  $\text{ml}/\text{min}$ ) (Quiroga, 2013, p.92).

Las características del flujo debe ser libre de pulsaciones, ya que generarían “ruido” y provocarían variaciones en el flujo del solvente, lo que es muy importante en el análisis cuantitativo ya que, las áreas de los picos de HPLC cambian cuando varían el flujo (Volonté y Quiroga, 2013, p. 33).

- *Sistemas de inyección*

Hace referencia a las válvulas que orientan el caudal hacia la columna según su posición, a través de un loop en el cual se introduce la solución a inyectar; las válvulas se pueden accionar manual o automáticamente. Poseen un cuerpo fijo, un rotor con un sello que gira y un loop externo intercambiable, con volúmenes entre 5-500  $\mu\text{L}$ , que contiene la muestra (Volonté y Quiroga, 2013, p. 95).

El inyector puede ser automático o manual. El sistema de inyección automático permite que la muestra sea introducida a la fase móvil presurizada de manera exacta y precisa, por lo que actualmente los inyectores manuales son raramente utilizados (Snyder y Kirkland, 2010, p.116).

- *Detector UV- visible*

Es el detector más utilizado en la HPLC, en este caso, se encuentra basado en una propiedad del soluto, como es la de absorber radiación UV que no es propia de la fase móvil. Es un detector muy poco sensible a los cambios de flujo y de temperatura; posee un rango lineal y permite detectar analitos en el orden de los nanogramos. No es destructiva y puede emplearse con gradientes de fase móvil. (Volonté y Quiroga, 2013, p. 98).

- *Conducciones y conexiones*

Las conducciones y conexiones entre inyector y columna, y entre columna y detector son de la gran importancia ya que, de estas dependen la presencia de volúmenes muertos, los cuales generan pérdidas en la eficacia del sistema (Volonté y Quiroga, 2013, p. 98).

El tubo de conducción puede considerarse como un volumen muerto del sistema y, por lo tanto, es de vital importancia utilizar tubos capilares en los que el diámetro interno sea pequeño y evitar al máximo posible la utilización de grandes longitudes de tubo de conexión; de este modo, se consigue reducir en la medida de lo posible el volumen muerto del sistema. Las conexiones tienen la misma importancia que el tubo, ya que en ellas es también necesario lograr eliminar la presencia de volúmenes muertos. Las uniones deben reunir determinadas características, entre ellas (Volonté y Quiroga, 2013, p. 98):

- Deben ser inertes a fases móviles y muertas.
- Deben cerrar herméticamente.
- No deben contribuir en forma notable al ensanchamiento de la banda extracolumnar

#### 2.3.5.2. *Parámetros cromatográficos*

- *Cromatograma*

Una representación gráfica o de otro tipo de la respuesta del detector, la concentración del efluente u otra cantidad utilizada como medida de la concentración del efluente en función del tiempo o el volumen. Los cromatogramas idealizados se representan como una secuencias de picos gaussianos en una línea base (USP-NF, 2023, p.621).

- *Tiempo de retención*

Es el tiempo medido entre la inyección y la elución de la concentración máxima de cada componente de la muestra (máxima señal). La distancia entre este máximo de la señal y la línea de la base es la altura del pico (Volonté y Quiroga, 2013, p. 83).

- *Tiempo muerto*

Es el tiempo del primer pico que aparece, no perteneciente a ningún componente de la muestra. Debido a que este valor se utiliza en algunos cálculos cromatográficos hay que determinarlo con

exactitud, por lo general se debe tener precaución de que el primer pico no pertenezca al solvente de disolución de la muestra o alguna impureza desconocida. Para su estimación pueden utilizarse, en Fase Reserva, soluciones diluidas de nitrato de sodio o de dicromato de potasio (Volonté y Quiroga, 2013, p. 83).

- *Factor de capacidad ( $k'$ )*

Es la relación entre el número de moles de cada componente de una muestra en la fase estacionaria y el número de moles de este en la fase móvil. Como  $k'$  en este caso es proporcional al tiempo de retención del soluto se calcula para el pico enésimo (Volonté y Quiroga, 2013, p. 83).

- *Resolución ( $R$ )*

Hace referencia a una medida cuantitativa del grado de separación obtenido entre dos compuestos (Volonté & Quiroga, 2013, p. 85).

- *Número de platos teóricos*

Es la longitud de la columna expresada en mm, estableciendo un equilibrio de distribución del soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil (Volonté y Quiroga, 2013, p. 83)

- *Factor de asimetría o de cola*

Es una media de la asimetría de la señal generada por el analito. Como norma general el factor de asimetría debería encontrarse entre 0,8 y 1,5, aunque se pueden aceptarse valores hasta 2,0 (AEFI, 2001, p.109).

### 2.3.5.3. *Tipos de cromatografía según la polaridad de la fase estacionaria*

- *Cromatografía en fase reversa (FR)*

Es una prueba que se usa una fase estacionaria no polar, como la C18, y una fase móvil polar, como una disolución acuosa. De esta forma los compuestos no polares quedarán retenidos en la columna, mientras que los polares saldrán rápidamente (Méndez, 2009, p.49).

- *Cromatografía en fase normal*

Se basa en la fase estacionaria donde es polar y la fase móvil no polar, de esta manera los compuestos no polares salen antes de la columna, mientras que los polares quedan retenidos (Méndez, 2009, p.49).

#### 2.3.5.4. *Cromatografía de interacción iónica/ pares iónicos (IC)*

Es una técnica instrumental de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), experimentado en los procedimientos de prueba de USP tales como pruebas de identificación, valoraciones y determinación de impurezas, involucrando pruebas de límite y pruebas cuantitativas. Además, se usa para medios aniones y cationes derivados de moléculas orgánicas o inorgánicas, desde moléculas pequeñas hasta macromoléculas biológicas (USP-NF, 2023, p.1065).

La IC se aplica a todos los aspectos de fabricación y la disposición de productos farmacéuticos entre los que se incluye la caracterización de ingredientes activos, excipientes, productos de degradación e impurezas y flujo de procesos (USP-NF 2023, p.1065).

#### 2.3.5.5. *Gradiente de elución HPLC*

Es el cambio controlado de la composición de la fase móvil durante el cromatograma, generalmente de forma gradual, con dos propósitos: separar picos poco resueltos y, por otra parte, acortar los tiempos del análisis. El procedimiento habitual consiste en aumentar durante el cromatograma el porcentaje de uno o varios solventes, de naturaleza menos lejana a la fase estacionaria que la fase móvil inicial (García y Yusá, 2016, p.43).

#### 2.3.6. *Valoración volumétrica*

Es la determinación de la cantidad de una sustancia específica (analito) contenida en una muestra mediante la adición controlada de un reactivo (valorante) con una concentración conocida (Toledo, 2013, p. 5).

Esta técnica se basa en la reacción química completa entre la sustancia y el reactivo. El valorante se añade hasta que la reacción haya finalizado. Con el fin de determinar el final de la valoración, la reacción debe controlarse (indicarse) por medio de una técnica adecuada (Toledo, 2013, p. 5).

#### *2.3.6.1. Valoración*

Es la operación mediante la cual se determina la concentración de una disolución problema midiendo el volumen de una disolución patrón que reacciona estequiométricamente con un volumen conocido del problema. Un equivalente de una sustancia reacciona siempre con un equivalente de otra (Macarulla, 2021, p. 47).

#### *2.3.6.2. Indicadores*

Son unas sustancias que en el punto final de la reacción experimentan un cambio brusco y ostensible. Por ejemplo, si valoramos un ácido con una base y empleamos rojo de metilo como indicador observaremos en el punto final un cambio de color rojo a amarillo (Macarulla, 2021, p. 47).

#### **2.3.7. Volumetría de neutralización**

Es un conjunto de reacciones que tiene lugar entre un ácido y una base con la correspondiente formación de sal y agua. Mediante este método, utilizando una solución valorada de algún ácido se puede realizar la determinación cuantitativa de sustancias que se comportan como base (acidimetría) o, empleando una solución valorada de algún álcali, se pueden determinar cuantitativamente sustancias que se comportan como ácidos (alcalimetría) (Zumbado, 2020, p. 82).

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA

El presente trabajo de integración curricular detalla el proceso de validación de un método analítico mediante la determinación y cuantificación de los parámetros de validación detallados en el protocolo de validación (Selectividad, Linealidad y rango, Exactitud, Precisión, Robustez, Estabilidad, Idoneidad del sistema, Incertidumbre de la medición).

Estos parámetros se evaluaron utilizando la técnica de Cromatografía Líquida de Alta eficiencia (HPLC) para el principio activo Benzocaína y mediante volumetría para el Cloruro de Cetilpiridinio.

#### 3.1. Materiales, equipos y reactivos

##### 3.1.1. *Materiales*

- Benzocaína
- Columna Lichrospher 100RP 8 5 $\mu$ m 125mm x 4mm
- Balones de aforos
- Pipeta automática
- Puntas de plástico
- Filtro de Jeringa
- Gotero
- Vasos de precipitación
- Cloruro de cetilpiridinio
- Erlenmeyer
- Bureta
- balón de aforo
- Vaso de precipitación
- Pipetas
- Mascara de gases
- Guantes de nitrilo

### 3.1.2. Equipos

**Tabla 3-1:** Equipos utilizados en la validación del método analítico

<b>Equipo/Instrumento</b>		<b>MARCA</b>	<b>MODELO</b>
Balanza Analítica		Sartorius	BP210S
Pipeta electrónica		Brand	HandyStep
pH - metro		Mettler Toledo	SevenEasy pH
Bomba de vacío		Boeco	R-300
Agitador Ultrasónico		VWR Scientific Products	75T
Sorbona		WEMA Laboreinrichtungen	-----
Conductímetro		Mettler Toledo	Conductivity S230
Agitador electromagnético AREX		HITACHI	CROMASTER VWR
HPLC (Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia)		HITACHI	CROMASTER VWR
MÓDULOS	Unidad Bomba	HITACHI	CM5160
	Autosampler (Automuestreador)	HITACHI	CM5260
	Horno-Columna	HITACHI	CM5310
	Detector UV-VIS	HITACHI	CM5420

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023.

### 3.1.3. Reactivos

**Tabla 3-2:** Reactivos utilizados en la validación del método analítico

<b>Benzocaína</b>		
<b>REACTIVO/ ESTÁNDAR</b>	<b>MARCA</b>	<b>LOTE/F. EXPIACIÓN</b>
Ácido Orto-Fosfórico	Merck	212149/27-Jun-2026
Fosfato Monobásico de potasio	Merck	M1797473235/30-Nov-2026
Ácido Clorhídrico	Merck	213900/31-Oct-2026
Acetonitrilo grado HPLC	Pharmco	SS0193304ANQV3/30-Mar-2025
Metanol HPLC	Fisher Chemical	213513V2/31-Jul-2026
Agua Purificada	Neo-Fármaco	N/A
<b>Cloruro de cetilpiridinio</b>		

Lauril Sulfato de Sodio	Sigmaaldrich	K53541634217/30-Abr-2026
Ácido sulfúrico	Supelco	53767731144/31-Oct-2023
Etanol	Haymankimia	21133171/09-Feb-2024
Cloroformo	SRLChem	1009518/Oct-2026
Anaranjado de Metilo SR	N/A	55020622613
Agua Purificada	Neo-Fármaco	N/A

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

### 3.1.4. Estándares de referencia

**Tabla 3-3:** Estándares utilizados en la validación del método analítico

Estándares de referencia	Lote	%Pureza	%Humedad
Benzocaína (Working Estándar)	C5832010026V1	99,35%	0,1%
Cloruro de cetilpiridinio	PD/CPC/003/05	99,6%	5,8%

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

## 3.2. Validación del método analítico

### 3.2.1. Preparación de soluciones

#### 3.2.1.1. Preparación de estándares

- *Benzocaína diluyente A*

Se preparó el estándar de benzocaína a una concentración de 0,01 mg/mL, utilizando como medio de disolución Ácido clorhídrico 0,1 N. Se transfirió a un vial filtrado con el filtro jeringa de 0,22 µm.

- *Benzocaína diluyente B*

Se preparó el estándar de benzocaína a una concentración de 0,01mg/mL, utilizando como medio de disolución Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1). Transferimos una alícuota de 0,5 ml en un balón volumétrico de 10 ml y aforar con diluyente B. Transferimos una alícuota de 0,2 ml a un balón

volumétrico de 10 ml y aforar con diluyente B. Transfirió a un vial filtrado con el filtro jeringa de 0,22  $\mu\text{m}$ .

- *Cloruro de cetilpiridinio*

Se pesó 100mg de estándar combinado en 250mL de agua, sonicar por un lapsus de 10 minutos y diluir con agua hasta alcanzar los 500mL en un balón de aforo, a una concentración de 0,2 mg/mL. Se tomó después una alícuota de 50mL que es equivalente a 10 mg del cloruro de cetilpiridinio.

### 3.2.1.2. Preparación de las muestras

- *Placebo*

Se pesó las cantidades necesarias de cada excipiente para 200g de bulk, de acuerdo a las cantidades declaradas en la fórmula maestra de BUCOSEPT tabletas, exceptos los principios activos.

- *Placebo cargado Benzocaína (diluyente A)*

Se preparó el placebo cargado a partir de las soluciones de placebo y soluciones estándar tomando en cuenta las cantidades necesarias de cada principio activo de referencia y el placebo. Se agregó 10mg de estándar benzocaína, 3g de placebo en un balón de aforo de 1000ml con medio de disolución Ácido clorhídrico 0,1N.

Concentración estándar benzocaína en placebo cargado: 0,01 mg/mL

- *Placebo cargado Benzocaína (diluyente B)*

Se preparó el placebo cargado a partir de las soluciones de estándar de referencia y el placebo. Se agregó 100mg de estándar benzocaína, 3g de placebo en un balón de aforo de 100ml con medio de disolución Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1), se transfirió una alícuota de 0,25 mL a un balón volumétrico de 25mL y aforar con Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1).

Concentración estándar benzocaína en placebo cargado: 0,01 mg/mL

- *Placebo cargado (Cloruro de cetilpiridinio)*

Se pesó las cantidades necesarias de cada excipiente para 200g, tomando como referencia las cantidades declaradas en la formula maestra incluyendo cloruro de cetilpiridinio.

- *Placebo cargado (Cloruro de cetilpiridinio + Benzocaína)*

Se pesó las cantidades necesarias de cada excipiente para 200g, tomando como referencia las cantidades declaradas en la formula maestra incluyendo cloruro de cetilpiridinio y la benzocaína.

- *Agua purificada (Grado HPLC)*

Obtener este tipo de agua conforme el instructivo analítico (I-NCC-032) Filtrar por membrana 0,22 µm.

- *Fase móvil HPLC*

**Fase móvil:**

H<sub>2</sub>O: Acetonitrilo: Buffer (70:25:5)

**Buffer:**

Se agregó agua 13,60g de Fosfato Monobásico de Potasio en 100mL de agua HPLC, agitar constante por 10 minutos con agitador electromagnético, medir y ajustar el pH a 3.

**Fase móvil:**

Se realizó una mezcla de agua (70%), Acetonitrilo (25%) y Buffer (5%). Agitar con agitador electromagnético por 10 minutos, hasta completa homogenización y se filtró por membrana 0,22 µm.

**Diluyente A:** *Ácido Clorhídrico 0,1N*

**Diluyente B:** *Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1)*

### **3.2.2. Parámetros de desempeño a evaluar**

#### **3.2.2.1. Categoría I**

- Selectividad
- Linealidad y Rango (Intervalo)

- Exactitud
- Precisión: repetibilidad, precisión intermedia
- Robustez
- Estabilidad: estabilidad de la muestra en condiciones (ambiente, refrigeración), degradación forzada (hidrolisis, oxidación, térmica, fotolítica)
- Idoneidad del sistema
- Incertidumbre de la medición

3.2.2.2. *Selectividad*

**Tabla 3-4:** Concentración de Benzocaína diluyente A y B para parámetro de selectividad

<b>Benzocaína</b>								
<b>Ensayo</b>	<b>Pesos</b>	<b>Diluciones</b>					<b>C (mg/ml)</b>	<b>N° de inyecciones</b>
		<b>Medio de dilución (Diluyente A y B)</b>						
		<b>Aforo</b>	<b>Alícuota</b>	<b>Aforo</b>	<b>Alícuota</b>	<b>Alícuota</b>		
<b>Estándar preparar por duplicado</b>	10mg Benzocaína + 10mg Cloruro de cetilpiridinio	1000 Diluyente A	.....	.....		.....	0,01 (100%)	Inyectar por triplicado
	100mg Benzocaína + 100mg Cloruro de cetilpiridinio	10mL Diluyente B	0,5mL	10mL Diluyente B	0,2mL	10mL Diluyente B	0,01 (100%)	
	100mg Cloruro cetilpiridinio con diluyente A y B	.....	.....	.....	.....	....	.....	
<b>Placebo cargado</b>	10mg Benzocaína + 10mg Cloruro cetilpiridinio +3g placebo						0,01 (100%)	Inyectar por triplicado
	100mg Benzocaína + 100mg Cloruro	100mL	0,25mL	25mL			0,01	

	cetilpiridinio + 3g placebo				....	.....	(100%)	
<b>Placebo</b> Bulk “Excipientes”	3 g placebo	1000ml	.....					Inyectar por triplicado
	3 g placebo	100mL	0,25mL	25mL	.....	.....	.....	

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-5:** Diluciones de Cloruro cetilpiridinio para parámetro de selectividad

<b>Cloruro de cetilpiridinio</b>								
<b>Ensayo</b>	<b>Pesos</b>	<b>Dilución</b>					<b>Titulante</b>	<b>N° Titulaciones</b>
		Aforo (mL)	Alicuota (mL)	Ácido sulfúrico 2N(mL)	Cloroformo (mL)	Indicador naranja de metilo		
<b>Estándar Cloruro de Cetilpiridinio</b> Concentración: 0,2 mg/mL	100mg	500mLH <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20 mL	1mL	Lauril sulfato de Sodio 0,004M Hasta que la capa cloroformica adquiera un color rosa anaranjado permanente	Titular por triplicado
<b>Estándar combinado Benzocaína y Cloruro de Cetilpiridinio</b>	100mg + 100mg	500mLH <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20 mL	1mL		
<b>Placebo cargado</b>	12g placebo + 100mg + 100mg	500mLH <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20 mL	1mL		
<b>Placebo con Cloruro de cetilpiridinio</b>	12g + 100mg	500ml H <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20mL	1mL		

<b>Estándar Benzocaína</b>	100mg	500ml H <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20mL	1mL		
<b>Placebo</b>	12g	500ml H <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20mL	1mL		
<b>Placebo con Benzocaína</b>	12g + 100mg	500ml H <sub>2</sub> O	50mL	5mL	20mL	1mL		

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

### 3.2.2.3. *Linealidad y Rango*

- *Benzocaína*

Se debe preparar las soluciones para obtener una curva de calibración a 5 niveles con las respuestas de los picos de los cromatogramas (áreas) de Benzocaína, usando las soluciones estándares para calcular la linealidad del sistema y las muestras del placebo cargado para la linealidad del método. Intervalo con respecto a la especificación: 70- 130%

- *Linealidad del sistema*

**Estándar combinado (Benzocaína+ Cloruro de cetilpiridinio) en diluyente A:** Se preparó una solución madre de estándar combinado (Benzocaína+ Cloruro de Cetilpiridinio) con medio disolución Ácido clorhídrico 0, 1N a una concentración de 0,1mg/mL. De dicha solución se tomaron alícuotas a 5 niveles (70%, 85%, 100%, 115%, 130%) y aforar con diluyente A, como se encuentra en la Tabla 3-6.

**Estándar combinado (Benzocaína+ Cloruro de cetilpiridinio) en diluyente B:** Se preparó una solución madre de estándar combinado (Benzocaína+ Cloruro de Cetilpiridinio) con medio disolución Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1) a una concentración de 0,5mg/mL. De dicha solución se tomaron alícuotas a 5 niveles (70%, 85%, 100%, 115%, 130%) y aforar con diluyente B, como se encuentra en la Tabla 3-7.

- *Linealidad del método*

**Placebo cargado en Diluyente A:** Se preparó la solución tomando como referencia: Preparación de la muestra y estándares a las concentraciones correspondiente. De dicha solución se tomaron alícuotas a 5 niveles (70%, 85%, 100%,115%, 130%) y aforar con Ácido clorhídrico 0,1N, como se establece en la Tabla 3-6.

**Placebo cargado en Diluyente B:** Se preparó la solución tomando como referencia: Preparación de la muestra y estándares a las concentraciones correspondiente. De la solución se tomaron alícuotas a 5 niveles (70%, 85%, 100%,115%, 130%) y aforar con Acetonitrilo: H<sub>2</sub>O (1:1), como se establece en la Tabla 3-7

**Tabla 3-6:** Pesos y diluciones para linealidad del sistema y método para Benzocaína diluyente A

<b>Benzocaína diluyente A</b>					
<b>Estándar</b>	<b>Diluciones</b>		<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>N° Inyecciones</b>
	<b>Medio de dilución Diluyente A</b>				
	<b>Alícuota (mL)</b>	<b>Aforo (mL)</b>			
<b>Estándar combinado</b>	0,700	10	0,0070	70	<b>Inyectar por triplicado</b>
	0,850	10	0,0085	85	
	1,00	10	0,0100	100	
	1,150	10	0,0115	115	
	1,300	10	0,0130	130	
<b>Placebo cargado</b>	0,700	10	0,0070	70	<b>Inyectar por triplicado</b>
	0,850	10	0,0085	85	
	1,00	10	0,0100	100	
	1,150	10	0,0115	115	
	1,300	10	0,0130	130	

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-7:** Pesos y diluciones para linealidad del sistema y método para Benzocaína diluyente B

<b>Benzocaína diluyente B</b>					
<b>Estándar</b>	<b>Diluciones</b>		<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>N° Inyecciones</b>
	<b>Medio de dilución Diluyente B</b>				
	<b>Alícuota (mL)</b>	<b>Aforo (mL)</b>			
<b>Estándar combinado</b>	0,14	10	0,0070	70	<b>Inyectar por triplicado</b>
	0,17	10	0,0085	85	
	0,20	10	0,0100	100	
	0,23	10	0,0115	115	
	0,26	10	0,0130	130	
<b>Placebo cargado</b>	0,14	10	0,0070	70	<b>Inyectar por triplicado</b>
	0,17	10	0,0085	85	

	0,20	10	0,0100	100	
	0,23	10	0,0115	115	
	0,26	10	0,0130	130	

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

- *Cloruro de cetilpiridinio*

Se debe preparar las soluciones para obtener una curva de calibración a 9 niveles con las respuestas de los volúmenes de titulante para Cloruro de cetilpiridinio, usando los estándares para calcular la Linealidad del Sistema y las muestras para la Linealidad del Método. Intervalo con respecto a la especificación: 12,5% -150%.

- *Linealidad del Sistema*

**Estándar combinado (Cloruro de cetilpiridinio+ Benzocaína):** Se preparó una solución madre del estándar combinado (Cloruro de cetilpiridinio + Benzocaína) 100mg en 250 mL de agua, sonicar por 10 minutos y diluir con agua hasta 500mL. Se tomó una alícuota de 50 mL equivalente a 10mg de Cloruro de cetilpiridinio siendo la concentración al 100%. De la solución madre se tomaron alícuotas a 9 niveles (12,5%, 25%, 50%, 70%, 85%, 100%, 115%, 130%, 150%), como se establece en la Tabla 3-8.

- *Linealidad del método*

**Placebo cargado:** Se preparó una solución madre del placebo cargado, se pesó 12g de placebo (excipientes) equivalente a 100mg de Cloruro de cetilpiridinio y los principios activos 100mg de Cloruro de cetilpiridinio y 100mg de benzocaína en 250mL de agua, sonicar por 10 minutos y diluir con agua hasta 500mL. Se tomó una alícuota de 50mL equivalente a 10mg de Cloruro de cetilpiridinio siendo la concentración al 100%. De esta solución se tomaron alícuotas a 9 niveles (12,5%, 25%, 50%, 70%, 85%, 100%, 115%, 130% y 150%), como se establece en la Tabla 3-8.

**Tabla 3-8:** Pesos y diluciones para linealidad del sistema y método para cloruro de cetilpiridinio

Cloruro de cetilpiridinio								
Estándar	Aforo (mL)	Alícuota (mL)	Pesos API (g)	Ácido Sulfúrico 2N (mL)	Cloroformo (mL)	Naranja de Metilo (mL)	Titulante	Titulación
<b>Estándar combinado</b>	500 H <sub>2</sub> O	6,25	6,20	5mL	20mL	1mL	Con Lauril Sulfato de Sodio 0,004 M	Por Triplicado
		12,50	12,40					
		25	24,80					
		35	34,72					
		42,5	42,16					
		50	49,60					
		57,5	57,04					
		65	64,47					
<b>Placebo cargado</b>	500 H <sub>2</sub> O	6,25	6,24	5mL	20mL	1mL	Con Lauril Sulfato de Sodio 0,004 M	Por Triplicado
		12,50	12,48					
		25	24,95					
		35	34,93					
		42,5	42,42					
		50	49,90					
		57,5	57,39					

		65	64,8 7					
		75	74,8 5					

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

#### 3.2.2.4. Exactitud

- *Benzocaína diluyente A y B*

Se debe preparar soluciones a 5 concentraciones diferentes e inyectar por triplicado. Luego usando las respuestas de los picos de Benzocaína (áreas), calcular el porcentaje de recuperación de cada análisis. Intervalo con respecto a la especificación 70% - 130%

Concentraciones: 70%, 85%, 100%, 115%, 130%, según lo expuesto en las Tablas 3-6 y 3-7 y calcular el porcentaje de recuperación conforme la siguiente formula:

$$\text{Resultado} = (ru/rs) \times (Cs/Cu) \times 100$$

ru= respuesta del pico de la solución muestra A y B

rs= respuesta del pico de la solución estándar A y B

Cs= concentración de principios activos en la solución estándar A y B (mg/mL)

Cu= concentración nominal de principios activos en la solución muestra A y B (mg/mL)

- *Cloruro de cetilpiridinio*

Se debe preparar soluciones a 9 concentraciones diferentes y titular por triplicado. Luego usando las respuestas de los volúmenes de titulante y el estándar del principio activo para calcular el porcentaje de recuperación de cada análisis. Intervalo con respecto a la especificación 12,5% - 150%

Concentraciones: 12,5%, 25%, 50%, 70%, 85%, 100%, 115%, 130%, 150%, según lo expuesto en la Tabla 3-8 y calcular el porcentaje de recuperación conforme la siguiente formula:

$$\text{Resultado} = (ru/rs) \times (Cs/Cu) \times 100$$

ru= respuesta del volumen de la solución muestra

rs= respuesta del volumen de la solución estándar

Cs= concentración de principios activos en la solución estándar (mg/mL)

Cu= concentración nominal de principios activos en la solución muestra (mg/mL)

#### 3.2.2.5. *Precisión*

- *Benzocaína Diluyente A y B*

Repetibilidad del sistema o Instrumental: Preparar e inyectar soluciones estándar de Benzocaína al 100% por sextuplicado.

Repetibilidad del método: Preparar e inyectar soluciones placebo cargado al 100% por sextuplicado.

Pesos y diluciones: Conforme se indica en las Tablas 3-6 y 3-7.

- *Cloruro de cetilpiridinio*

Repetibilidad del sistema o Instrumental: Leer el volumen del titulante necesario para el punto del viraje del estándar preparado al 100% por 6 determinaciones.

Repetibilidad del método: Leer el volumen del titulante necesario para el punto de viraje del placebo cargado preparado al 100% por 6 determinaciones. Pesos y diluciones: Conforme se indica en la Tabla 3-8.

#### 3.2.2.6. *Precisión intermedia*

- *Benzocaína Diluyente A y B*

Para este ensayo se tomará en cuenta la precisión intermedia de sistema y del método se determinará analizando la variabilidad de la respuesta AUC por triplicado de los estándares y placebo cargado al 100% conforme a las Tabla 3-6 y 3-7. Pesos y diluciones, en el mismo laboratorio con el mismo equipo o instrumento con dos analistas en dos días diferentes, según la siguiente Tabla 9-3.

- *Cloruro de cetilpiridinio*

La precisión intermedia del sistema y del método se determinará analizando la variabilidad de la respuesta volumen (mL) titulaciones por triplicado de los estándares y placebo cargado al 100% conforme a la Tabla 3-8, dentro del mismo laboratorio con el mismo equipo o instrumento con dos analistas en dos días diferentes, Tabla 3-9.

**Tabla 3-9:** Diseño experimental para la realización del parámetro de precisión intermedia.

Instrumento	Analista	Día	
1	A	1	2
1	B	1	2

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

### 3.2.2.7. Robustez

Para el test de Robustez, se aplicó un diseño experimental factorial de superficie respuesta, los datos fueron generados por el software estadístico STAT GRAPHICS; todo esto con el fin de analizar el efecto de las especificaciones operacionales sobre el estudio de resultados obtenidos de los estándares. Se debe establecer los siguientes factores y niveles de influencia definidos en el método analítico, Tabla 3-10.

**Tabla 3-10:** Pesos y diluciones para el parámetro Robustez, Benzocaína diluyente A y B

Ensayo: Valoración	Pesos	Aforo	Alícuota	Aforo	Alícuota	Aforo	Concentración (mg/mL)	Nº inyecciones
Estándar combinado	10mg	1000ml +Diluyente A	-	-	-	-	0,01 mg/mL	Inyectar una sola vez
	100mg	10mL + diluyente B	0,5mL	10mL Diluyente b	0,2 mL	10mL diluyente b		

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

Por demás, se debe establecer los factores y niveles que influyen en el desarrollo del método analítico, Tabla 3-11.

**Tabla 3-11:** Factores y niveles propuesto para Robustez- Benzocaína con diluyente A y B

N°	FACTOR	VALOR DE CONDICIÓN ESTABLECIDO EN EL MÉTODO	NIVEL		RESPUESTAS EVALUADAS
			BAJO	ALTO	
1	Temperatura Columna	25°C	25°C	30°C	-AUC -Tiempo de retención -Factor de asimetría -N° platos teóricos
2	Flujo	1,5 mL/min	1,3 mL/min	1,7 mL/min	
3	pH de la fase móvil	3,00	2,5	3,5	
4	Composición orgánica de la fase móvil	H <sub>2</sub> O: ACN:Buffer(70:25:5)	20,0 Acetonitrilo (%)	30,0 Acetonitrilo (%)	

Fuente: Departamento de I+D+i &amp; Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

*3.2.2.5.1. Diseño experimental***Tabla 3-12:** Factores experimentales para la ejecución del diseño superficie de respuesta

FACTORES	BAJO	ALTO	UNIDADES	CONTINUO
Temperatura	25,0	30,0	°C	Sí
Flujo	1,3	1,7	mL/min	Sí
pH	2,5	3,5		Sí
Composición orgánica	20,0	30,0	%	Sí

Fuente: Departamento de I+D+i &amp; Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-13:** Variables respuestas establecidas para el diseño experimental

Respuestas	Unidades
AUC	-
Número de platos teóricos	-
Tiempo de retención	Min
Factor de asimetría	-

Fuente: Departamento de I+D+i &amp; Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023

Además, una vez creado el diseño experimental en el software STATGRAPHICS, se adquiere el número de corridas necesarias para el caso, siendo un total de 18 métodos entre los factores seleccionados primero. El orden de los experimentos ha sido completamente aleatorizado.

**Tabla 3-14:** Combinaciones de factores y niveles para diseño superficie de respuesta

<b>N° DE MÉTODO</b>	<b>LONGITUD DE ONDA (Nm)</b>	<b>TEMPERATURA DE COLUMNA (°C)</b>	<b>FLUJO (mL/min)</b>	<b>pH</b>	<b>COMPOSICIÓN DE ORGÁNICO (%) Buffer: ACN</b>
1	280	27,5	1,78284	3,00	75:25
2	280	27,5	1,5	3,00	68:32,07
3	280	23,9645	1,5	3,00	75:25
4	280	27,5	1,5	3,00	75:25
5	280	27,5	1,5	3,00	75:25
6	280	25,00	1,3	3,5	80:20
7	280	30,00	1,3	3,5	70:30
8	280	27,5	1,5	3,7071	75:25
9	280	25,00	1,3	2,5	80:20
10	280	30,00	1,7	3,5	80:20
11	280	30,00	1,7	2,5	80:20
12	280	25,00	1,7	2,5	70:30
13	280	31,0355	1,5	3,00	75:25
14	280	25,00	1,7	3,5	70:30
15	280	27,5	1,5	3,00	82,1:17,92
16	280	27,5	1,21716	3,00	75:25
17	280	30,00	1,3	2,5	70:30
18	280	27,5	1,5	2,2928	75:25

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

**Realizado por:** Arias G., 2023

**Tabla 3-15:** Pesos y diluciones para parámetro Robustez para Cloruro de cetilpiridinio

Ensayo: Valoración	Pesos	Alicuota	Ácido Sulfúrico 2N	Cloroformo	Indicador Anaranjado de metilo	Titulante	°N Titulaciones
Estándar combinado	100mg Cloruro de cetilpiridinio 100mg Benzocaína	50mL	5mL	20mL	1mL	Lauril Sulfato de Sodio 0,004M	Titular una sola vez

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

Por otra parte, se debe definir los factores y niveles que influyen en el desarrollo del método analítico, Tabla 3-16.

**Tabla 3-16:** Factores y niveles propuesto para parámetro de Robustez- cloruro de cetilpiridinio

Nº	FACTOR	VALOR DE CONDICIÓN ESTABLECIDA EN EL MÉTODO	NIVEL			RESPUESTA EVALUADAS
			ALTO	MEDIO	BAJO	
1	Cloroformo	20mL	25mL	20mL	15mL	Volumen del Titulante (% P.A)
2	Ácido sulfúrico 2N	5mL	7mL	5mL	3mL	
3	Indicador	1mL	3mL	2mL	1ml	

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-17:** Factores experimentales para la ejecución del diseño de Cribado.

Factores	Bajo	Alto	Unidades	Continuo
CLOROFORMO	15	25	mL	Sí
ÁCIDO SULFURICO	3	7	mL	Sí
INDICADOR	1	3	mL	Sí

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Tabla 3-18:** Variables respuestas establecidas para el diseño experimental.

Respuestas	Unidades
PRINCIPIO ACTIVO	%

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

### 3.2.2.8. Estabilidad

- *Estabilidad de la solución: Método de Análisis de BUCOSEP TABLETAS*

Se preparó una solución de estándar combinado de los principios activos y se determinó la estabilidad de la misma, en un intervalo de tiempo como se indica a continuación en la Tabla 3-19.

**Tabla 3-19:** Condiciones de ensayo para análisis estabilidad de Benzocaína con diluyente A y B.

ENSAYO: VALORACIÓN	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	MUESTREAR Y ANALIZAR		
		0horas	12horas	24horas
Estándar combinado	Ambiente (25°C)	0horas	12horas	24horas
	Refrigeración (4°C)	0horas	12horas	24horas

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-20:** Pesos y diluciones para parámetro de Estabilidad

Ensayo : Valoración	Pesos	Aforo	Alicuota	Aforo	Alicuota	Aforo	Concentración (mg/ml)	Nº inyecciones
Estándar combinado	10mg	1000ml +Diluyente A	-	-	-	-	0,01 mg/mL	Inyectar Por triplicado o para cada ensayo
	100 mg	10ml + diluyente B	0,5ml	10ml Diluyente b	0,2 ml	10mL diluyente b		

**Tabla 3-21:** Intervalo de tiempo análisis de estabilidad de solución de Cloruro de cetilpiridinio

ENSAYO: VALORACIÓN	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	MUESTREAR Y ANALIZAR			
		0horas	12horas	24horas	48horas
Estándar combinado	Ambiente (25°C)				
	Refrigeración (4°C)				

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-22:** Pesos y diluciones para parámetro de Estabilidad – Cloruro de Cetilpiridinio

Ensayo: Valoración	Pesos	Alícuo ta	Ácido Sulfúri co 2N	Clorofor mo	Indicador Anaranja do de metilo	Titulan te	°N Titulacio nes
Estándar combina do	100mg Cloruro de cetilpiridi nio 100mg Benzocaín a	50mL	5mL	20mL	1mL	Lauril Sulfato de Sodio 0,004M	Titular por triplicado

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Degradación forzada:** Para este ensayo de degradación forzada se preparó las soluciones conforme se indica a continuación:

**Tabla 3-23:** Degradación forzada para solución estándar Benzocaína y Cloruro de Cetilpiridinio

TIPO DE DEGRADACIÓN	CONDICIONES EXPERIMENTALES	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN Y MUESTREO
	Sln. Estándar aforo con HCL 0,1N	25°C (ambiente)	

<b>Hidrólisis</b>	Sln. Estándar aforo con NaOH 0,1N	25°C (ambiente)	24 horas
	Sln. Estándar aforo con Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,1N	25°C (ambiente)	
<b>Oxidación</b>	Sln. Estándar aforo con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	25°C (ambiente)	
<b>Fotolítica</b>	Sln. Estándar exposición: Luz Solar Directa	25°C (ambiente)	
	Sln. Estándar exposición: Luz Uv corta	25°C (ambiente)	
<b>Térmica</b>	Sln. Estándar exposición: Baño María 60°C por 1h	25°C (ambiente)	

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-24:** Pesos y diluciones para parámetro degradación forzada Benzocaína Diluyente B

Ensayo: Valoración	Pesos	Aforo	Alícuota	Aforo	Alícuota	Aforo	Concentración	Nº inyecciones
Estándar Combinado	100 mg	10ml Diluyente B	0,5mL	10mL HCl 0,1N	0,2mL	10ml Diluyente B	0,01 mg/mL	Inyectar una sola vez
				10mL NaOH 0,1N				
				10mL Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,1N				
				10mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%				

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-25:** Pesos y diluciones para parámetro degradación forzada- Cloruro de cetilpiridinio.

ENSAYO: VALORACIÓN	PESOS	Alícuota	Ácido Sulfúrico 2N	Cloroforomo	Indicador Anaranjado de metilo	Titulante	°N Titulaciones	Evaluación
Estándar combinado	100mg Cloruro de cetilpiridinio 100mg Benzocaína	50mL	5mL	20mL	1mL	Lauril Sulfato de Sodio 0,004 M	Titular una sola vez	CUANTITATIVA/VISUAL

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

### 3.2.2.9. Idoneidad del sistema

- Benzocaína con diluyente A y B

Para evaluar el ensayo System Suitability Test (SST) se generará de forma automática en el equipo HPLC mediante el Software Clarity, donde se evalúan los siguientes parámetros: Área, altura, cantidad, factor de asimetría, eficiencia de platos teóricos y resolución.

Método: 6 inyecciones al 100% del estándar combinado

### 3.2.2.10. Incertidumbre de la medición

Se define como el mensurando y al porcentaje del principio activo determinado. Se identifican las magnitudes de entrada  $X_i$  y se establece el modelo matemático que determinará la incertidumbre de medición del mensurando  $Y$ .

$$y = f(x)$$

Se identifican las fuentes de incertidumbre.

Se cuantifican la variabilidad de cada fuente y se le asocia a una distribución (Normal, Rectangular, Triangular, etc.)

Se obtiene la incertidumbre estándar  $u(x_i)$

Se estiman las correcciones (por medio de la ley de propagación) de la incertidumbre) y se determina la incertidumbre estándar combinada  $u_c$ .

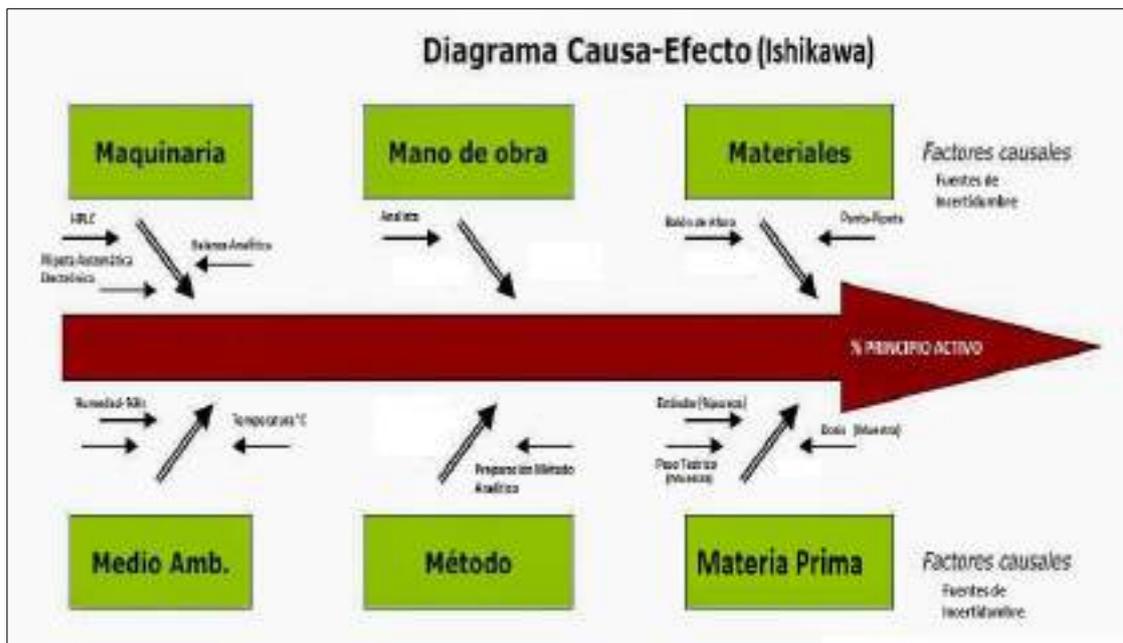
$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 [u(x_i)]^2}$$

Se determina el nivel de confianza deseado.

Se calculan los grados de libertad efectivos y se determina el factor de cobertura  $k$ .

Con el factor de cobertura se determina la incertidumbre expandida  $U$ .

$$U = u_c \times k$$



**Ilustración 3-1:** Diagrama de Ishikawa para la determinación de las fuentes de incertidumbre.

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

### 3.2.3. Registro y revisión de datos

**Tabla 3-26:** Criterios de aceptación en base a normativa para Benzocaína en diluyente A y B

<b>BENZOCAÍNA</b>			
<b>PARÁMETRO</b>		<b>CRITERIO DE ACEPTACIÓN</b>	<b>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</b>
<b>SELECTIVIDAD</b>	INTERFERENCIA CON EL PLACEBO	El/ los principio/s activo/s no deben presentar interferencia de otras sustancias o impurezas presentes en la formulación de producto. Los excipientes no deben retenerse en el mismo tiempo que los activos.	CUALITATIVO
	IDENTIFICACION DE EXCIPIENTES E IMPUREZAS	Nombrar los cromatogramas identificando cada excipiente e impureza.	CUALITATIVO
	PORCENTAJE DE DISCREPANCIA	Máximo 5%	<b>%Discrepancia</b> =Respuesta media placebo cargado – Respuesta media estándar) x 100 / Respuestas media estándar o activo solo.

	COMPARACIÓN PLACEBO CARGADO Y ESTÁNDAR	No debe existir diferencia estadística significativa entre el valor medio del placebo cargado y el estándar p (valor): $\geq$ 0.05	TEST DE STUDENT
<b>LINEALIDAD Y RANGO</b>	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	$r \geq 0,999$	ANÁLISIS DE REGRESIÓN-DE MÍNIMOS CUADRADOS
	COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN	$r^2 \geq 0,999$	ANÁLISIS DE REGRESIÓN-DE MÍNIMOS CUADRADOS
	COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LOS FACTORES RESPUESTA	El coeficiente de variación de los factores respuesta debe ser $\leq 5\%$ para indicar linealidad	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$  $\bar{x}$ = valor medio de los resultados. S= desviación estándar
	PENDIENTE	Correlación lineal significativa <b>b <math>\neq</math> 0</b>	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST DE STUDENT
	INTERCEPTO Y TEST DE PROPORCIONALIDA D	El valor del intercepto corresponde como máximo	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST DE STUDENT

		<p>al 1% de la respuesta nominal del analito.</p> <p>Comprobación de la intercepción de la recta con el eje de las ordenadas (se debe interpolar el resultado del análisis entre al menos dos estándares, uno superior y uno inferior) AEFI, 2001.</p>	
	REGRESIÓN LINEAL	<p>ANOVA para la regresión:  <math>F1_{exp} &gt; F1_{tablas}</math>. La regresión es estadísticamente representativa, la pendiente es distinta de 0.</p> <p>ANOVA para la linealidad:  <math>F2_{exp} &lt; F2_{tablas}</math>.</p> <p>Demuestra la linealidad entre los resultados obtenidos.</p>	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST ANOVA

	HOMOGENIDAD DE VARIANZAS	p (valor): $\geq 0,05$	TEST LEVENS'S
	HOMOCEASTICIDAD	Variabilidad de residuos, no se forman tendencias.	GRÁFICA DE RESIDUOS
	EL FACTOR CONCENTRACIÓN NO INFLUYE EN LA VARIABILIDAD DE LOS RESULTADOS	p (valor): $\geq 0,05$	TEST LEVENS'S
<b>EXACTITUD</b>	RECOBRO O PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN	97% - 103% de la cantidad de principio activo adicionado en el placebo.	Resultado= (ru/rs) x (Cs/Cu) x 100
<b>PRECISIÓN:</b> -Repetibilidad -Precisión intermedia	REPETIBILIDAD DEL SISTEMA O INSTRUMENTAL	Coefficiente de variación menor o igual a 2,0%	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$ $\bar{x} = \text{valor medio de los resultados.}$ $S = \text{desviación estándar.}$
	REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	Coefficiente de variación menor o igual a 2,0%	
	PRECISIÓN INTERMEDIA	Coefficiente de variación o igual a 4,0%	
	LOS ANALISIS EN LABORATORIO POR DIFERENTES		

	ANALISTAS NO DEBEN TENER EFECTO ESTADÍSTICO SIGNIFICATIVO.	p (valor): $\geq 0,05$	ANOVA
<b>ROBUSTEZ</b>	ORTOGONALIDAD	Informativo	GRÁFICO DE PARETO
	EVALUACIÓN DE LOS GRÁFICOS SUPERFICIE – RESPUESTA PARA CONDICIONES ÓPTIMAS.	Zona caliente Zona Fría Cimas Valles	DISEÑO SUPERFICIE DE RESPUESTA
<b>ESTABILIDAD DE LA SOLUCIÓN</b>	ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	La diferencia absoluta de cada condición con respecto a la normal no debe exceder el $RSD \leq 20\%$ de la precisión del sistema.	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$ $\bar{x}$ = valor medio de los resultados. S= desviación estándar.
	DEGRADACIÓN FORZADA	Identificación de Degradantes y sus tiempos de retención.	CUALITATIVO
<b>IDONEIDAD DEL SISTEMA – (SYSTEM</b>	PRECISIÓN DEL SST	$RSD \leq 2\%$	SST SOFTWARE CLARITY SSITEMA CROMATOGRAFICO HPLC
	FACTOR CAPACIDAD	$RSD \leq 2\%$	
	NÚMEROS DE PLATOS TEÓRICOS	$N > 2000$	

<b>SUITABILITY TEST)</b>	<b>FACTOR ASIMETRÍA</b>	Asimetría < 1,5	
<b>INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN</b>	<b>CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE</b>	Determinación de Incertidumbre <b>(Informativo)</b>	Fórmula Incertidumbre combinada $\mu_c$ (y)
			Fórmula Incertidumbre Expandida $U = k_u$ (y)

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 3-27:** Criterios de aceptación en base a normativa para Cloruro de cetilpiridinio

<b>COLORURO DE CETILPIRIDINIO</b>			
<b>PARÁMETRO</b>		<b>CRITERIO DE ACEPTACIÓN</b>	<b>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</b>
<b>SELECTIVIDAD</b>	INTERFERENCIA CON EL PLACEBO	El/ los principio/s activo/s no deben presentar interferencia de otras sustancias o impurezas presentes en la formulación de producto. Los excipientes no deben retenerse en el mismo tiempo que los activos.	CUALITATIVO
	PORCENTAJE DE DISCREPANCIA	Máximo 5%	<b>%Discrepancia=</b> Respuesta media placebo cargado – Respuesta media estándar) x 100 / Respuestas media estándar o activo solo.
	COMPARACIÓN PLACEBO CARGADO Y ESTÁNDAR	No debe existir diferencia estadística significativa entre el valor medio del placebo cargado y el estándar p (valor): $\geq 0.05$	TEST DE STUDENT

<b>LINEALIDAD Y RANGO</b>	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	$r \geq 0,999$	ANÁLISIS DE REGRESIÓN-DE MÍNIMOS CUADRADOS
	COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN	$r^2 \geq 0,999$	ANÁLISIS DE REGRESIÓN-DE MÍNIMOS CUADRADOS
	COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LOS FACTORES RESPUESTA	El coeficiente de variación de los factores respuesta debe ser $\leq 5\%$ para indicar linealidad	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$  $\bar{x}$ = valor medio de los resultados. S= desviación estándar
	PENDIENTE	Correlación lineal significativa <b>b <math>\neq</math> 0</b>	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST DE STUDENT
	INTERCEPTO Y TEST DE PROPORCIONALIDAD	El valor del intercepto corresponde como máximo al 1% de la respuesta nominal del analito. Comprobación de la intercepción de la recta con el eje de las ordenadas (se debe interpolar el resultado del análisis entre al menos dos estándares, uno superior y uno inferior) AEFI, 2001.	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST DE STUDENT
	REGRESIÓN LINEAL	ANOVA para la regresión:  $F1_{exp} > F1_{tablas}$ . La regresión es estadísticamente representativa, la pendiente es distinta de 0.	ECUACIÓN DE LA RECTA TEST ANOVA

		ANOVA para la linealidad: F2 exp < F2 tablas. Demuestra la linealidad entre los resultados obtenidos.	
	HOMOGENIDAD DE VARIANZAS	p (valor): $\geq 0,05$	TEST LEVENS'S
	HOMOCEDASTICIDAD	Variabilidad de residuos, no se forman tendencias.	GRÁFICA DE RESIDUOS
	EL FACTOR DE CONCENTRACIÓN NO INFLUYE EN LA VARIABILIDAD DE LOS RESULTADOS	p (valor): $\geq 0,05$	TEST LEVENS'S
<b>EXACTITUD</b>	RECOBRO O PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN	97% - 103% de la cantidad de principio activo adicionado en el placebo.	Resultado= (ru/rs) x (Cs/Cu) x 100
<b>PRECISIÓN:</b> -Repetibilidad -Precisión intermedia	REPETIBILIDAD DEL SISTEMA O INSTRUMENTAL	Coefficiente de variación menor o igual a 2,0%	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$ $\bar{x} = \text{valor medio de los resultados.}$ $S = \text{desviación estándar.}$
	REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	Coefficiente de variación menor o igual a 2,0%	
	PRECISIÓN INTERMEDIA	Coefficiente de variación o igual a 4,0%	
	LOS ANALISIS EN LABORATORIO		

	POR DIFERENTES ANALISTAS NO DEBEN TENER EFECTO ESTADÍSTICO SIGNIFICATIVO.	p (valor): $\geq 0,05$	ANOVA
<b>ROBUSTEZ</b>	ORTOGONALIDAD	Informativo	GRÁFICO DE PARETO
	EVALUACIÓN DE LOS GRÁFICOS SUPERFICIE – RESPUESTA PARA CONDICIONES ÓPTIMAS.	Zona caliente Zona Fría Cimas Valles	DISEÑO DE CRIBADO FACTOR 2 <sup>3</sup>
<b>ESTABILIDAD DE LA SOLUCIÓN</b>	ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	La diferencia absoluta de cada condición con respecto a la normal no debe exceder el $RSD \leq 20\%$ de la precisión del sistema.	$CV(\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100$ $\bar{x}$ = valor medio de los resultados. S= desviación estándar.
	DEGRADACIÓN FORZADA	Identificación de Degradantes Visuales.	CUALITATIVO
<b>INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN</b>	CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE	Determinación de Incertidumbre <b>(Informativo)</b>	Fórmula Incertidumbre combinada $\mu_c$ (y)
			Fórmula Incertidumbre Expandida $U = k_u$ (y)

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

## CAPÍTULO IV

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

En el presente capítulo da a conocer el resultado estadístico de cada parámetro realizado frente a criterios de aceptación establecidos. Todo esto con el propósito de comprobar que el método analítico es válido para su fin dentro del LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR NEÓFARMACO CIA. LTDA.

#### 4.1. Validación del método analítico

##### 4.1.1. Selectividad

**Tabla 4-1:** Resultados del parámetro de Selectividad del principio activo Benzocaína

CRITERIO DE ACEPTACION	PRINCIPIO ACTIVO	PARÁMETRO (PORCENTAJE DE DISCREPANCIA)		DECISIÓN
		Área	Tiempo	
Máximo 5%	Benzocaína diluyente A	1,080%	0,139%	<b>Cumple</b>
	Benzocaína diluyente B	1,175%	0,175%	
El/los principios activos no deben presentar interferencia de otras sustancias presentes en la formulación.	PRINCIPIO ACTIVO	PARÁMETRO INTERFERENCIA CON EL PLACEBO		DECISIÓN
	Benzocaína diluyente A	No se presenta interferencias de los excipientes frente a los principios activos (ANEXO A Y B)		<b>Cumple</b>
	Benzocaína diluyente B			

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

En la Tabla 4-1 se muestra los resultados del parámetro Selectividad, del principio activo Benzocaína en diluyente A y B el primer criterio a evaluar porcentaje de discrepancia, de áreas y tiempos de retención, el objetivo del parámetro es poder determinar si el método dispone la capacidad de medir y valorar al mismo tiempo o a distinto tiempo los analitos (AEFI, 2001, p.46), basado en la respuesta se obtiene para Benzocaína en diluyente A 1,080% y 0,139%, Benzocaína en diluyente B 1,175% y 0,175% siendo mucho menor al máximo del criterio establecido que es del 5% lo que indica que no existe diferencia significativa entre el tiempo de retención del estándar benzocaína versus placebo cargado permitiendo su fácil identificación. En el segundo criterio a evaluar, la interferencia con el placebo el resultado obtenido tras el análisis de la muestra (placebo cargado) se demostró que el estándar benzocaína no se vio afectado durante la corrida por la presencia del placebo así mismo no presento ningún pico proveniente del estándar de Cloruro de Cetilpiridinio u otras sustancias de degradación, en su mismo tiempo de retención, cumpliendo con el criterio de aceptación establecido, además se demuestra que el método es capaz de discriminar sin interferencias entre el analito, sustancias de composición similar y otros productos que puedan estar presentes en la muestra(AEFI, 2001, p.47).

**Tabla 4-2:** Resultados del parámetro de Selectividad para Cloruro de cetilpiridinio

CRITERIO DE ACEPTACION	PRINCIPIO ACTIVO	PARÁMETRO (PORCENTAJE DE DISCREPANCIA)	DECISIÓN
		Volumen(ml)	
Máximo 5%	Cloruro cetilpiridinio vs Placebo con cetilpiridinio	1,939%	<b>Cumple</b>
	Estándar combinado (Cloruro de cetilpiridinio + Benzocaína) vs Placebo Cargado	1,968%	<b>Cumple</b>
El/los principio/s activo/s no deben	Cloruro de cetilpiridinio	<b>INTERFERENCIA CON EL PLACEBO</b>	

presentar interferencia de otras sustancias o impurezas presentes en la formulación del producto. Los excipientes no deben retenerse en el mismo tiempo que los activos.		No existe interferencia de otras sustancias presentes en la formulación del producto.	<b>Cumple</b>
--	--	---	---------------

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-2. Indica el porcentaje de discrepancia de la muestra Estándar de Cloruro de cetilpiridinio y Estándar combinado, el objetivo del ensayo es demostrar si el método es capaz de discriminar sin interferencias entre el analito, sustancias de composición y otros productos que puedan estar presentes en la muestra (AEFI, 2001, p. 46).

Se obtuvieron los siguientes volumen consumidos 6,9 mL, 6,8mL y 6,9mL respectivamente, logrando un porcentaje de discrepancia del 1, 939 % un valor menor al máximo del criterio establecido que es el 5%, es decir señala que no existe diferencia significativa entre el volumen consumido versus la muestra del placebo con Cloruro de cetilpiridinio obteniendo el mismo volumen consumido de la muestra estándar. De la misma forma, tras determinaciones realizadas con la muestra del estándar combinado (Cloruro de cetilpiridinio + Benzocaína) vs placebo cargado se obtuvieron los siguientes mL consumidos 6,7 mL, 6,9 mL y 6,8 mL, determinando un porcentaje de discrepancia del 1, 968 % siendo mucho menor al máximo del criterio.

En el segundo criterio a evaluar, la Interferencia con el placebo donde tras análisis de la muestra los ml consumidos por el (placebo cargado), (STD Benzocaína), (placebo vs STD Benzocaína), no se vieron afectados durante la titulación, todo esto con el objetivo de evaluar si el método posee la capacidad de medir y valorar al mismo tiempo los analitos. Estos resultados indican que no existe una mayor interferencia entre los elementos del placebo y los principios activos lo cual se encuentran dentro del criterio -de aceptación establecido.

#### 4.1.2. Linealidad y rango

**Tabla 4-3:** Resultados del análisis de linealidad del sistema y método para Benzocaína.

Ensayo	Concentración (%)	Respuesta linealidad del sistema	Respuesta Linealidad del método	Respuesta Linealidad del Sistema	Respuesta Linealidad del método
--------	-------------------	----------------------------------	---------------------------------	----------------------------------	---------------------------------

		<b>Benzocaína diluyente A</b>	<b>Benzocaína diluyente A</b>	<b>Benzocaína diluyente B</b>	<b>Benzocaína diluyente B</b>
1	70	244,6798	240,4043	248,8228	246,7879
	70	244,0903	241,0559	248,8211	252,8304
	70	245,3663	241,3953	245,6989	250,5105
2	85	297,8406	293,1061	297,4683	296,3898
	85	298,5150	292,3509	297,5840	290,7923
	85	298,5150	290,8038	297,5289	300,0036
3	100	355,1381	342,3119	351,2797	355,0978
	100	354,0548	344,9889	347,7517	359,3723
	100	355,1381	344,9121	346,1063	354,5963
4	115	404,0690	397,5437	397,2303	403,0991
	115	401,6631	398,8725	396,7059	404,5877
	115	402,0833	396,2812	394,4302	402,9847
5	130	455,5918	448,8897	459,1027	454,1741
	130	453,1646	446,6330	459,1093	459,3064
	130	454,4070	448,7357	459,3638	453,9239

Realizado por: Arias G., 2023

Los test estadísticos realizados a los datos obtenidos del ensayo de linealidad de estándares combinados y placebo cargado son:

- Determinación de la ecuación de la recta de regresión y de los resultados experimentales.
- Coeficiente de correlación ( $r$ ) y de determinación ( $r^2$ ).
- Características de la varianza residual.
- Análisis de varianza, después de la comprobación de los supuestos homogeneidad de varianzas y normalidad de residual.
- Test de proporcionalidad.
- Comparación de las medias entre placebo cargado y estándar combinado

**Tabla 4-4:** Resultados del análisis de linealidad y rango para Benzocaína

<b>Criterio de aceptación</b>		<b>Resultados</b>		<b>Decisión</b>
		<b>Diluyente A</b>	<b>Diluyente B</b>	
<b>Coeficiente de correlación</b>	$r \geq 0,999$	<b>Estándar:</b> 0,999601 <b>Placebo cargado:</b> 0,999877	<b>Estándar:</b> 0,998615 <b>Placebo cargado:</b> 0,99865	<b>Cumple</b>

<b>Coefficiente de determinación</b>	$r^2 \geq 0,999$	<b>Estándar:</b> 0,999202 <b>Placebo cargado:</b> 0,999753	<b>Estándar:</b> 0,997233 <b>Placebo cargado:</b> 0,997302	<b>Cumple</b>
<b>Coefficiente de variación de los factores de respuesta</b>	El coeficiente de variación de los factores respuesta ser $\leq 5\%$ para indicar linealidad.	<b>Estándar:</b> 0,2308% <b>Placebo cargado:</b> 0,3322 %	<b>Estándar:</b> 0,3828% <b>Placebo cargado:</b> 0,8826%	<b>Cumple</b>
<b>Pendiente</b>	Corrección lineal significativa $b \neq 0$	<b>Estándar</b> $y = bx + a$ $y =$ 3,49111x+1,84361 $b = 3,49111$ p (valor)= 0,0000 <b>Placebo cargado</b> $y = 3,46498x -$ 1,94598 $b = 3,46498$ p (valor)= 0,000	<b>Estándar</b> $y = bx + a$ $y =$ 3,47611x+2,18893 $b = 3,47611$ p (valor)= 0,0000 <b>Placebo cargado</b> $y = 3,46231x + 6,0664$ $b = 3,46231$ p (valor)= 0,0000	<b>Cumple</b>
<b>Intercepto y test de proporcionalidad</b>	El valor del intercepto corresponde como máximo al 1% de la respuesta nominal del analito Comprobación de la intercepción de la recta con el eje de las ordenadas (se debe interpolar el resultado del análisis entre al menos dos	<b>Estándar</b> $y = bx + a$ $y =$ 3,49111x+1,84361 $a = 1,84361$ p(valor) = 0,5213 <b>Placebo cargado</b> $y = bx + a$ $y = 3,46498x -$ 1,94598 $a = -1,94598$ p(valor)= 0,2293	<b>Estándar</b> $y = bx + a$ $y =$ 3,47611x+2,18893 $a = 2,18893$ p(valor) = 0,6802 <b>Placebo cargado</b> $y = bx + a$ $y = 3,46223,0x +$ 6,0664 $a = 6,06678$ p(valor)= 0,2560	<b>Cumple</b>

	estándares, uno superior y uno inferior) AEFI, 2001.			
<b>Regresión lineal</b>	ANOVA para la regresión: $F_1 \text{ exp} > F_1 \text{ tablas}$ . La regresión es estadísticamente representativa, la pendiente es distinta de 0. ANOVA para la linealidad: $F_2 \text{ exp} < F_2 \text{ tablas}$ . Demuestra la linealidad entre los resultados obtenidos.	<b>Estándar:</b> $y = 3,49111x + 1,84361$ <b>Placebo cargado:</b> $y = 3,46498x - 1,94598$ P value: 0.000 Existe variación entre respuestas (AUC) a medida que la concentración cambia. El modelo lineal describe los datos.	<b>Estándar:</b> $y = 3,47611x + 2,18893$ <b>Placebo cargado:</b> $y = 3,46223,0x + 6,0664$ P value: 0.000 Existe variación entre respuestas (AUC) a medida que la concentración cambia. El modelo lineal describe los datos.	<b>Cumple</b>
<b>Homogeneidad de varianzas</b>	$p(\text{valor}) \geq 0,05$ test de Levens	<b>Estándar:</b> $p(\text{valor}) 0,75684$ <b>Placebo cargado:</b> $p(\text{valor}) 0,954062$	<b>Estándar:</b> $p(\text{valor}) 0,466916$ <b>Placebo cargado:</b> $p(\text{valor}) 0,753707$	<b>Cumple</b>
<b>Homocedasticidad Revisión de residuos</b>	Variabilidad de residuos, no se forman tendencias	En las gráficas de residuos se muestra una distribución aleatoria de los puntos, no se forman tendencias.		<b>Cumple</b>
<b>El factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados</b>	$p(\text{valor}) \geq 0,05$ Test de Levens	<b>Estándar:</b> $p(\text{valor}) 0,75684$ <b>Placebo cargado:</b> $p(\text{valor}) 0,954062$	<b>Estándar:</b> $p(\text{valor}) 0,466916$ <b>Placebo cargado:</b> $p(\text{valor}) 0,753707$	<b>Cumple</b>

<b>Comparación placebo cargado vs estándar</b>	Significativa entre el valor medio del placebo cargado y el estándar $p$ (valor) $\geq 0,05$	(Test de Student) p(valor): 0,820136	(Test de Student) p(valor): 0,929211	<b>Cumple</b>
--	--	---	---	---------------

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-4., se detallan los resultados respectivos al parámetro de Linealidad y Rango, del sistema y método para el principio activo Benzocaína, el primer criterio a evaluar coeficiente de correlación, dando valores de  $r = 0,999601$  para el Estándar combinado (Benzocaína + Cloruro de cetilpiridinio) en diluyente A y  $r = 0,999877$  placebo cargado, Estándar combinado con diluyente B un  $r = 0,998615$  y de  $r = 0,99865$  del placebo cargado, lo que muestra que el método es lineal ya que cumple con lo establecido en los criterios de aceptación, demostrando que existe correlación entre la concentración de benzocaína y el área del pico (respuesta).

En el coeficiente de determinación, un criterio complementario al anterior para establecer la linealidad del método, indica la proporción de la variación total de la variable respuesta entre las muestras analizadas con valores de  $r^2 = 0,999202$  para el Estándar combinado diluyente A y  $r^2 = 0,999753$  para el placebo cargado, mientras un  $r^2 = 0,997233$  de Estándar combinado diluyente B y un  $r^2 = 0,997302$  placebo cargado, aportando una mayor significación estadísticas entre la variación total de la respuesta y a concentraciones determinadas, las cuales cumplen con el criterio de aceptación de  $r^2 \geq 0,999$  tanto para linealidad del sistema y del método.

En el ensayo coeficiente de variación del factor respuesta evaluado mismo que debe ser menor o igual al 5%, para indicar linealidad, considerándose que se puede ocasionar una falta de linealidad de las respuestas aquellos que excedan este rango; todas las respuestas obtenidas se encuentran dentro del rango menor al valor de aceptación, observándose que los valores más elevados son los del placebo cargado, los resultados obtenidos para el Estándar combinado Benzocaína diluyente A  $Cv = 0,2308\%$  y  $Cv = 0,3322\%$  para placebo cargado, así mismo un valor de  $Cv = 0,3828\%$  para Estándar combinado diluyente B y un  $Cv = 0,8826\%$  placebo cargado; todas respuestas obtenidas se encuentran dentro del rango menor igual al 5%.

En los siguientes criterios evaluados es la Pendiente (b) e intercepto(a) los estimadores de la ordenada del origen debe ser significativamente diferente de cero, dando como resultados para

Estándar combinado diluyente A y B y placebo cargado dan un resultados de p (valor): 0,0000 demuestra que el resultado es estadísticamente diferente a cero, en la cual la pendiente se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad (Respuesta del método frente a los cambios de la concentración del analito ); este valor se origina de la regresión lineal y debe ser y debe ser significativamente de 0.

Para la homogeneidad de varianzas, se aplicó el test de Levenes que en su estadístico se muestra en las Tablas 4-5 y 4-6., que evalúa si el factor concentración tiene alguna influencia en la variabilidad de los resultados tanto en el estándar combinado como a placebo cargado y se considera aceptado cuando el  $p(\text{valor}) \geq 0,05$ , se indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla 4-5:** Verificación de varianza de la linealidad del Estándar combinado diluyente A y B

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,470178	0,75684
Levene's	0,966819	0,466916

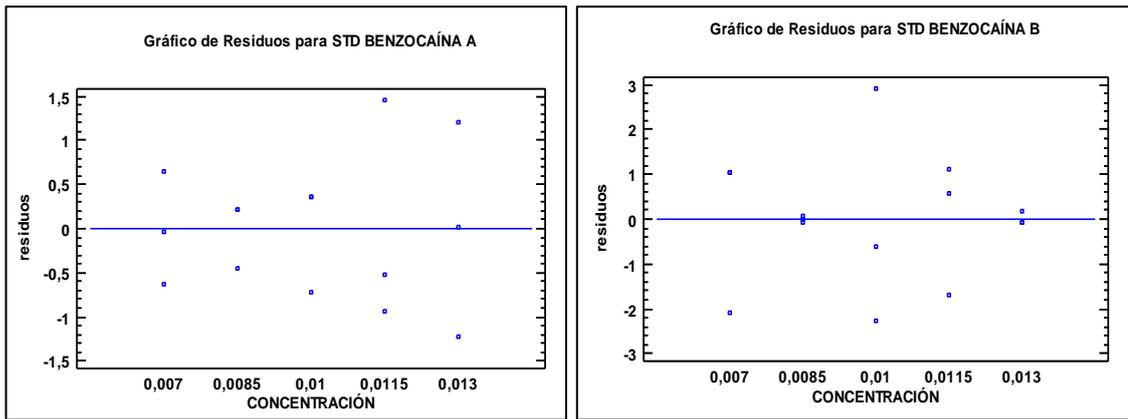
Realizado por: Arias G., 2023

**Tabla 4-6:** Verificación de varianza de la linealidad del placebo cargado diluyente A y B

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,159601	0,954062
Levene's	0,474819	0,753707

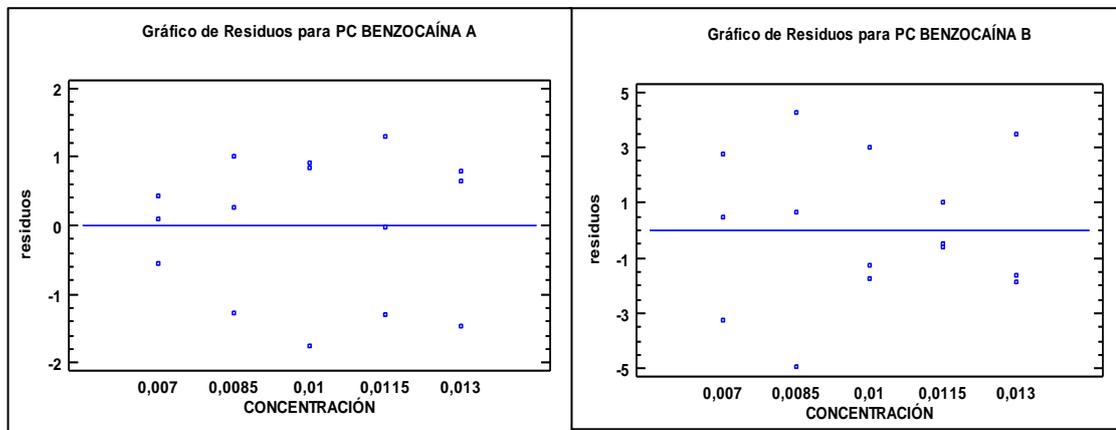
Realizado por: Arias G., 2023

En el caso de la Homocedasticidad, aporta información sobre la validez del modelo y analiza la variación de los residuos obtenidos para los Estándar combinado con diluyente A y B y del placebo cargado respectivamente en este parámetro se evaluó la distribución de los puntos representados en el gráfico de residuos, los cuales no se forman ninguna tendencia. En las Gráficas 4-1 y 4-2 se presenta cada variabilidad de residuos de los Estándar combinado y placebo cargado de la Benzocaína con diluyente A y B.



**Ilustración 4-1:** Graficas de residuos- Linealidad de Estándar Benzocaína A y B

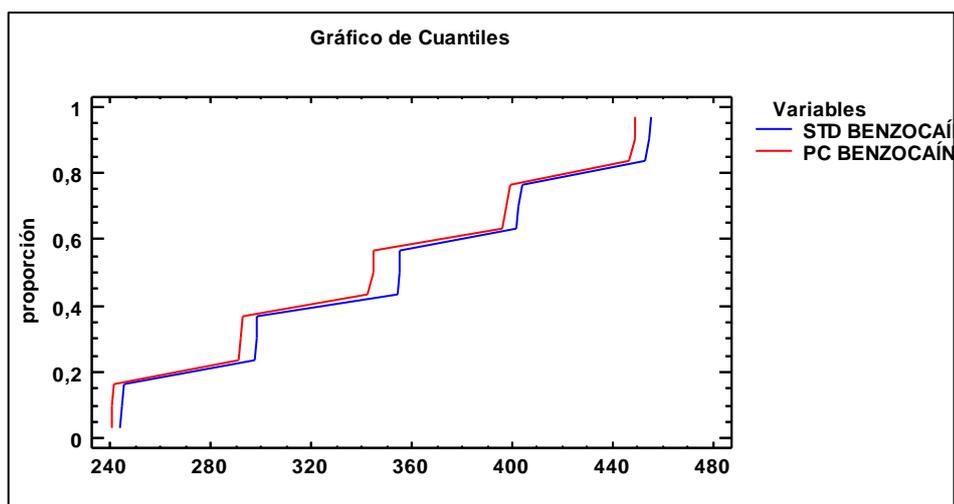
Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-2:** Graficas de residuos- Linealidad del Método Benzocaína A y B

Realizado por: Arias G., 2023

Por último, se comparó las medias entre el Placebo cargado diluyente A y B y el estándar combinado Benzocaína con diluyente A y B mediante el tratamiento estadístico T-student para definir si existe diferencia significativa entre el valor medio del placebo cargado y el estándar; se considera aprobado cuando el p (valor) es mayor ó igual 0,05, donde tras su análisis estadístico se obtuvieron los siguientes resultados, P(valor): 0,820136 comparación entre para Placebo cargado y Estándar Benzocaína con diluyente A y P(valor): 0,929211 para Placebo cargado y Estándar Benzocaína con diluyente B, se obtiene un valor-P mayor que 0,05 en la prueba estadística indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el Estándar y Placebo cargado con un nivel de confianza del 95,0%. Además, en el **Gráfico 4-3.**, se presenta la gráfica de cuantiles, que permite observar la cercanía de la distribución de los datos del placebo cargado a la del estándar que es lo ideal.



**Ilustración 4-3:** Esquema de Cuantiles Estándar vs Placebo cargado

Realizado por: Arias G., 2023

4.1.2.1. *Cloruro de cetilpiridinio*

**Tabla 4-7:** Análisis de linealidad del Sistema y Método para Cloruro de cetilpiridinio

Ensayo	Concentración (%)	Estándar Cloruro de cetilpiridinio	Placebo cargado
		Volumen del titulante (mL)	Volumen del titulante (mL)
1	12,5	0,80	0,80
	12,5	0,80	0,80
	12,5	0,80	0,80
2	25	1,70	1,70
	25	1,70	1,70
	25	1,70	1,70
3	50	3,40	3,50
	50	3,50	3,40
	50	3,40	3,40
4	70	4,70	4,80
	70	4,70	4,80
	70	4,80	4,80
5	85	5,80	5,80
	85	5,80	5,80
	85	5,70	5,80

6	100	6,90	6,90
	100	6,90	6,90
	100	6,90	6,90
7	115	7,90	7,80
	115	7,90	7,90
	115	7,90	7,90
8	130	8,90	8,80
	130	8,90	8,90
	130	8,90	8,90
9	150	10,40	10,30
	150	10,40	10,30
	150	10,50	10,30

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023.

**Tabla 4-8:** Análisis de linealidad del Sistema y Método para Cloruro de cetilpiridinio

CRITERIO DE ACEPTACIÓN		RESULTADO		DECISIÓN
		Estándar Cloruro de cetilpiridinio	Placebo cargado	
<b>Coefficiente de correlación</b>	$r \geq 0,999$	0,999821	0,999917	<b>Cumple</b>
<b>Coefficiente de determinación</b>	$r^2 \geq 0,99$	0,99964	0,99983	<b>Cumple</b>
<b>Coefficiente de variación de los factores de respuesta</b>	El coeficiente de variación de los factores respuesta debe ser $\leq 5\%$ para indicar linealidad.	0,6909 %	0,2770%	<b>Cumple</b>
<b>Pendiente</b>	Corrección lineal significativa $b \neq 0$	$y=bx+a$ $y=$ 0,0694717x – 0,0743028 $b= 0,0694717$	$y=bx+a$ $y= 0,068763x -$ 0,0273349 $b= 0,068763$ $p(\text{valor})=$ 0,0000	<b>Cumple</b>

		p(valor)= 0,0000		
<b>Intercepto y test de proporcionalidad</b>	El valor del intercepto corresponde como máximo al 1% de la respuesta nominal del analito.  Comprobación de la intercepción de la recta con el eje de las ordenadas (se debe interpolar el resultado del análisis entre al menos dos estándares, uno superior y uno inferior) AEFI, 2001.	$y = bx + a$ $y = 0,0694717x - 0,0743028$ $a = -0,0743028$ p(valor)= 0,0056	$y = bx + a$ $y = 0,068763x - 0,0273349$ $a = -0,0273349$ p(valor)= 0,1097	<b>Cumple</b>
<b>Regresión lineal</b>	ANOVA para la regresión: $F1_{exp} > F1_{tablas}$ . La regresión es estadísticamente representativa, la pendiente es distinta de 0.  ANOVA para la linealidad: $F2$	$y = 0,0694717x - 0,0743028$ P value: 0,0000 Existe variación entre respuestas (volumen) a medida que la	$y = 0,068763x - 0,0273349$ P value: 0.0000 Existe variación entre respuestas (volumen) a medida que la concentración cambia.	<b>Cumple</b>

	exp < F2 tablas. Demuestra la linealidad entre los resultados obtenidos.	concentración cambia. El modelo lineal describe los datos.	El modelo lineal describe los datos.	
<b>Homogeneidad de varianzas</b>	p(valor) ≥ 0,05 test de Levenes	p(valor): 0,746492	p(valor): 0,648779	<b>Cumple</b>
<b>Homocedasticidad Revisión de residuos</b>	Variabilidad de residuos, no se forman tendencias.	En la Gráfica de Residuos muestra distribución aleatoria de los puntos, no hay tendencias. <b>(GRÁFICA 4-4)</b>		<b>Cumple</b>
<b>El factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados</b>	p (valor) ≥ 0,05 test de Levenes	p(valor): 0,746492	p(valor): 0,648779	<b>Cumple</b>
<b>Comparación placebo cargado vs Estándar</b>	Significativa entre el valor medio del placebo cargado y el estándar p (valor) ≥ 0,05	(Test de Student) P valor: 0,989593 (Test de F) P valor: 0,958311 (Test de Whitney Wilcoxon) P valor: 0,96537		<b>Cumple</b>

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

La Tabla 4-8 detalla los resultados correspondientes al parámetro Linealidad y Rango, siendo el primer criterio coeficiente de correlación, entre las muestras analizadas, que con un valor de  $r=0,999821$  para Estándar de Cloruro de cetilpiridinio (Linealidad del sistema) y  $r=0,999917$  para placebo cargado (Linealidad del método), indicando que existe una relación lineal con una elevada probabilidad entre la variable concentración y la variable respuesta. El ensayo de coeficiente de determinación, que con valores de  $r^2 = 0,99964$  para estándar de Cloruro de cetilpiridinio (Linealidad del sistema) y  $r^2 = 0,99983$  para el placebo (Linealidad del método), las cuales cumplen con el criterio de  $r^2 \geq 0,990$ , lo cual indica la proporción de la variación total de la variable respuesta tanto para el estándar Cloruro de cetilpiridinio y placebo cargado.

El coeficiente de variación del factor respuesta se halla mediante un rango de aceptación menor o igual al 5%, observándose que el valor más elevado es del estándar  $CV= 0,6909\%$  para cloruro de cetilpiridinio y de un  $CV= 0,2770\%$  para el placebo cargado, valores que son aceptables y se encuentran dentro del rango especificado anteriormente de 5% (AEFI, 200, p.62).

A continuación, el criterio evaluado es la Pendiente (b) e intercepto los estimadores de la ordenada del origen, en la cual la pendiente se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad ( Respuesta del método frente a los cambios de la concentración del analito); este valor proviene de la regresión lineal y debe ser significativamente diferente de cero (AEFI, 200, p. 61). Los resultados obtenidos con el análisis de linealidad para Cloruro de cetilpiridinio analizadas tanto para el estándar combinado y placebo cargado dan valores de p (valor): 0,0000 dando a entender que el resultado es estadísticamente diferente a cero.

Para determinar la Homogeneidad de varianzas se aplicó Test de Levene's, que en su estadístico Tabla 4-9 evalúa la hipótesis de que la desviación estándar tanto en el caso de la Linealidad del Estándar de Cloruro de cetilpiridinio como en la Linealidad de Placebo cargado dentro de cada uno de los 9 niveles de % es la misma.

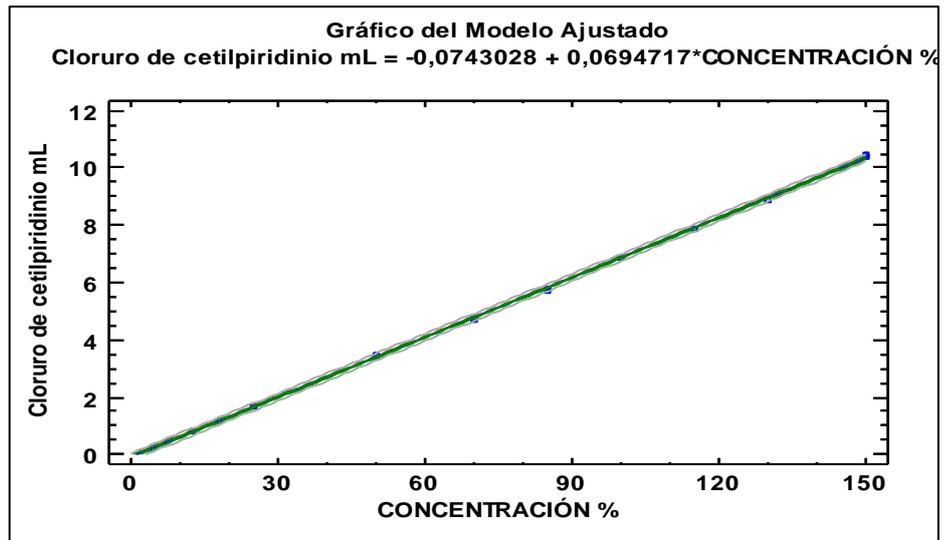
Siendo de particular interés es el valor-P, que para ambos casos da como resultado un valor-P mayor que 0,05, se establece que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-9:** Varianza de la linealidad del estándar de Cloruro de cetilpiridinio y placebo cargado

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,75	0,648779
Levene's	0,625	0,746492

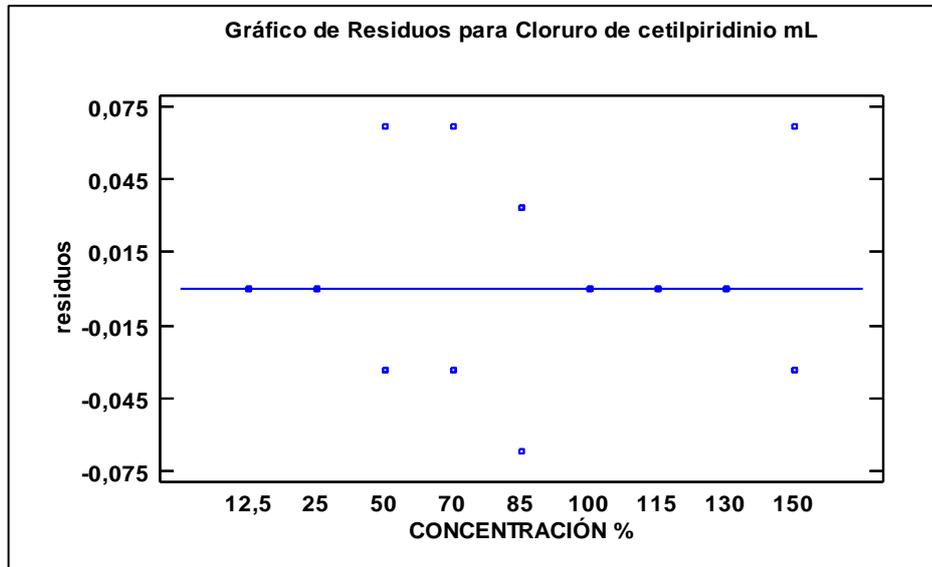
Realizado por: Arias G., 2023

El siguiente criterio dentro del análisis de variancia residual (homocedasticidad), aporta información sobre la validez del modelo, que analiza la variación de los residuos obtenidos, por medio del Gráfico 4-4 y 4-5 del estándar de Cloruro de cetilpiridinio y placebo cargado respectivamente, se aprecia una distribución aleatoria de los datos sin formación de tendencias, demostrando la que existe una distribución de amplitud de probabilidad idéntica para ambos sistemas.



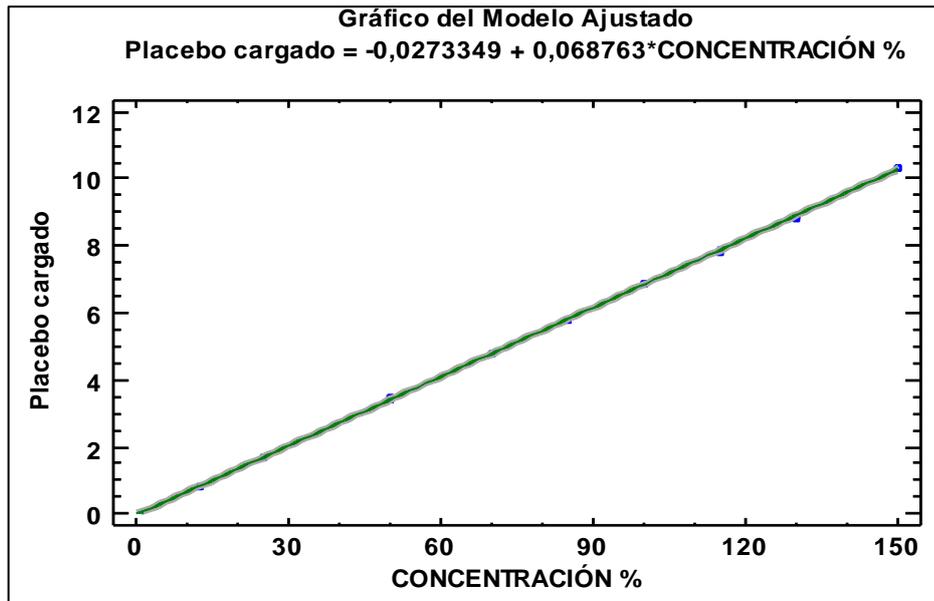
**Ilustración 4-4:** Linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023



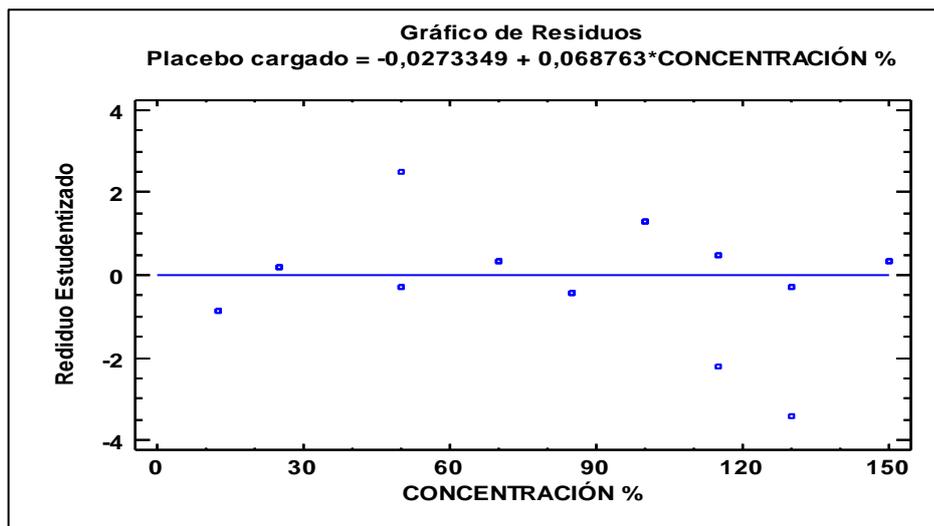
**Ilustración 4-5:** Residuos- Linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-6:** Linealidad placebo cargado

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-7:** Gráfica de residuos- Linealidad Placebo cargado

Realizado por: Arias, G, 2023.

Finalmente, se comparó las medias entre el estándar combinado y el placebo cargado con una prueba de t- Student, Test de F y Test de Whitney Wilcoxon para determinar si existe diferencia significativa entre ambas muestras, donde tras su análisis estadístico se obtuvieron los siguientes resultados, Tabla 4-10. Se considera aprobado cuando el p (valor) es mayor a 0,05 en todos los casos, por lo que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la linealidad del estándar y el placebo cargado con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla 4-10:** Linealidad estándar cloruro de cetilpiridinio vs linealidad placebo cargado

<b>PRUEBA ESTADISTICA</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>RESULTADOS</b>
Prueba -t (medias)	Hipótesis Nula: media 1 = media 2 Hipótesis Alt.: media 1 < media 2	t= -0,0131063 valor-P= <b>0,989593</b> No se rechaza la hipótesis nula para alfa= 0,05.
Prueba-F (Desviaciones Estándar)	Hipótesis Nula: sigma1=sigma2 Hipótesis Alt: sigma < sigma2	F= 0,979511 valor-P= <b>0,958311</b> No se rechaza la hipótesis nula para alfa= 0,05.
Prueba W de Mann-Whitney (Medianas)	Hipótesis Nula: mediana1=mediana2 Hipótesis Alt: mediana1 < mediana2	W= 367,5 valor-P= <b>0,96537</b> No se rechaza la hipótesis nula para alfa= 0,05.

Realizado por: Arias G., 2023

#### 4.1.3. Exactitud

A continuación, se presentan los resultados del parámetro exactitud:

**Tabla 4-11:** Análisis de Exactitud del sistema para Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio

<b>PARAMÉTR O</b>	<b>CRITERIO DE ACEPTACION</b>	<b>CLORURO DE CETILPIRIDINIO</b>	<b>BENZOCAÍ NA DILUYENTE A</b>	<b>BENZOCAÍ NA DILUYENTE B</b>	<b>DECISION</b>
<b>PORCENTAJE DE RECUPERACION</b>	97% a 103% de la cantidad del principio adicionado en el placebo	99,6315%	98,1459%	100,7492%	Cumple

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

Para el parámetro exactitud se demostró bajo el criterio del porcentaje de recuperación del Placebo cargado + Estándar a distintos niveles (AEFI, 2001, p.84). El cual menciona que para formas farmacéuticas el porcentaje de recuperación es de 97% a 103% en cada uno de los principios activos analizados.

Como se indica en la Tabla 4-11 el porcentaje de recuperación del Cloruro de Cetilpiridinio y Benzocaína con diluyente A y B, se encuentran dentro de la especificación declarada y demostrando la concordancia de los resultados obtenidos.

#### 4.1.4. Precisión

**Tabla 4-12:** Análisis de repetibilidad precisión intermedia cloruro de cetilpiridinio y benzocaína

PARÁMETRO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO			DECISIÓN
		CLORURO DE CETILPIRIDINIO	BENZOCAÍNA Diluyente A	BENZOCAÍNA Diluyente B	
REPETIBILIDAD DEL SISTEMA	Coefficiente de variación menor o igual a 2%	CV=0,0592	CV=0,164	CV=0,566	Cumple
REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	Coefficiente de variación menor o igual a 2%	CV=0,0748	CV=0,0127	CV=0,5665	Cumple
PRECISIÓN INTERMEDIA	Coefficiente de variación menor o igual a 4%	CV=0,012%	CV=1,023	CV=1.284	Cumple
	Los análisis en laboratorio por diferentes analistas no deben tener	STD CLORURO DE CETILPIRIDINIO p(valor)=0,5331	STD BENZOCAÍNA A p(valor)=0,6095	STD BENZOCAÍNA B p(valor)=0,7293	Cumple

	efecto estadístico significativo p (valor): $\geq$ 0,05	<b>PLACEBO CARGADO</b> p(valor)= 0,5884	<b>PLACEBO CARGADO</b> p(valor)= 0,2816	<b>PLACEBO CARGADO</b> p(valor)= 0,4013	
--	--	--	--	--	--

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

En cuanto al parámetro Precisión, se evaluó repetibilidad y precisión intermedia del sistema y del método en etapas distintas, obteniéndose los siguientes resultados en este parámetro se encuentran plasmados en la Tabla 4-12. El coeficiente de variación para Cloruro de cetilpiridinio presente en el sistema CV= 0,0592% y en el método CV=0,0748%, y Benzocaína A presente en el sistema CV=0,1756% y un CV=0,2451%, para Benzocaína B CV=0,5661% del sistemas y método CV=0,74496% respectivamente, cumple con el coeficiente de variación de máximo del 2%.

En el ensayo de precisión intermedia los resultados obtenidos, donde se variaron los factores día y analista, permitiéndose evaluar de manera más profunda el coeficiente de variación total del diseño obteniendo un valor de CV 0,012% para el Cloruro de cetilpiridinio, mientras para Benzocaína A CV=1,023% y CV=1.284% Benzocaína B, cumple con el coeficiente de variación encontrándose dentro del rango establecido al ser menor al 4% demostrando que no existe una diferencia significativa entre los resultados de los distintos analistas empleados con las mismas condiciones y en el mismo periodo de tiempo establecido para uno de los estándares o principios activos. Y en cuanto al análisis de varianza de ambos analistas con el tratamiento estadístico Anova se obtuvieron los siguientes resultados Tabla 4-13, 4-15, 4-15, 4-16, 4-17 y 4-18.

**Tabla 4-13:** Análisis ANOVA para el análisis del estándar de cloruro de cetilpiridinio

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00000666667	1	0,00000666667	0,42	0,5331
Intra grupos	0,00016	10	0,000016		
Total (Corr.)	0,000166667	11			

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-13 se muestra la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-14:** Análisis ANOVA para el análisis del placebo cargado

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00000681818	1	0,00000681818	0,31	0,5884
Intra grupos	0,000218182	10	0,0000218182		
Total (Corr.)	0,000225	11			

Realizado por: Arias G., 2023

La Tabla 4-14. Descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-15:** Análisis ANOVA para el análisis del Estándar Benzocaína A

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20,2041	7	2,8863	0,83	0,6095
Intra grupos	13,8295	4	3,45737		
Total (Corr.)	34,0336	11			

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-15 se muestra la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-16:** Análisis ANOVA para el análisis del Placebo cargado Benzocaína A

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	313,673	7	44,8104	1,89	0,2817
Intra grupos	95,0545	4	23,7636		
Total (Corr.)	408,727	11			

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 16-4 se muestra la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-17:** Análisis ANOVA para el análisis del Estándar Benzocaína B

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	14,6167	6	2,43611	0,59	0,7293
Intra grupos	20,5374	5	4,10749		

<b>Total (Corr.)</b>	35,1541	11			
----------------------	---------	----	--	--	--

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-17 se muestra la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

**Tabla 4-18:** Análisis ANOVA para el análisis del Placebo cargado B

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GI</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>Entre grupos</b>	1005,85	6	125,731	0,28	0,4013
<b>Intra grupos</b>	0,1014	5	0,0338		
<b>Total (Corr.)</b>	1005,95	11			

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-18 se muestra la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

#### 4.1.5. Robustez

**Tabla 4-19:** Resumen de los resultados del parámetro de robustez Benzocaína Diluyente A y B

<b>CRITERIO DE ACEPTACIÓN</b>		<b>RESULTADO BENZOCAÍNA A</b>	<b>RESULTADO BENZOCAÍNA B</b>	<b>DECISIÓN</b>
<b>EVALUACIÓN DE LOS GRAFICOS SUPERFCIE RESPUESTA PARA</b>	Zona caliente Zona fría	Factor de Influencia: fijo • <b>LONGITUD DE ONDA (nm)</b> Variables respuestas evaluadas: • <b>AUC</b> • <b>NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS</b> • <b>TIEMPO DE RETENCIÓN</b>	Factor de Influencia: fijo • <b>LONGITUD DE ONDA (nm)</b> Variables respuestas evaluadas: • <b>AUC</b> • <b>NÚMERO DE PLATOS TÉORICOS</b>	Cumple

<b>CONDICIONES ÓPTIMAS</b>	Cimas Valles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>FACTOR DE ASIMETRÍA</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>FACTOR DE ASIMETRÍA</b></li> <li>• <b>NUMERO DE PLATOS TEORICOS</b></li> </ul>	
		<p><b>CONDICIONES ÓPTIMAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AUC</b> Temperatura columna: 31,03°C Flujo: 1,23 ml/min pH: 3,46 composición orgánica: 17,92%</li> <li>• <b>NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS</b> Temperatura columna: 23,96°C Flujo: 1,21mL/min pH: 2,97 composición orgánica: 32,07%</li> <li>• <b>TIEMPO DE RETENCIÓN</b> Temperatura columna: 23,96°C Flujo: 1,21mL/min pH: 3,24 composición orgánica: 32,07%</li> <li>• <b>FACTOR DE ASIMETRÍA</b> Temperatura columna: 26,58°C</li> </ul>	<p><b>CONDICIONES ÓPTIMAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AUC</b> Temperatura columna: 31,03°C Flujo: 1,2 ml/min pH: 3,04 composición orgánica: 32,07%</li> <li>• <b>NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS</b> Temperatura columna: 23,96°C Flujo: 1,21mL/min pH: 3,46 composición orgánica: 32,06%</li> <li>• <b>TIEMPO DE RETENCIÓN</b> Temperatura columna: 23,96°C Flujo: 1,21mL/min pH: 3,28 composición orgánica: 31,95%</li> <li>• <b>FACTOR DE ASIMETRÍA</b> Temperatura columna: 25,17°C</li> </ul>	

		Flujo: 1,46mL/min pH: 2,29 composición orgánica: 26,67%	Flujo: 1,21mL/min pH: 2,29 composición orgánica: 17,92%	
--	--	--	--	--

Realizado por: Arias G., 2023

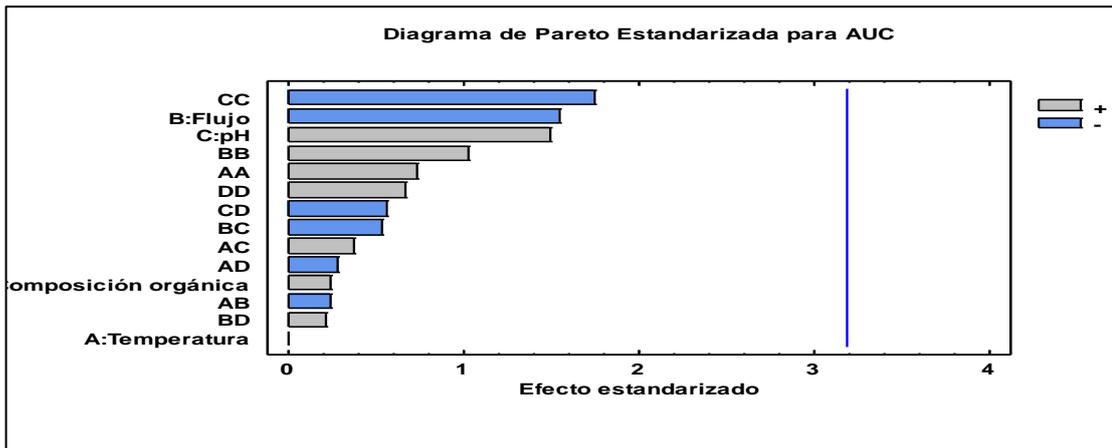
La Robustez de un método de análisis permite, por una parte, conocer la estabilidad del método ante pequeñas modificaciones de las condiciones descritas en la Tabla 4-19., y por tanto su dependencia frente a estas y permite conocer las condiciones óptimas en cada paso procedimiento del análisis (AEFI, 200, p.105).

La longitud de onda (nm), se define como un factor fijo, debido a una variación o cambio en este factor, altera directamente a las variables respuestas estudiadas, como son: AUC, Tiempo de retención (min), Factor de asimetría y Número de platos teóricos para el principio Activo Benzocaína diluyente A y B. Al tomar en cuenta más de una variable respuesta para el análisis de robustez y conociendo que existe más de un analito en las muestras, es importante experimentar la influencia de cada factor sobre los parámetros o variable respuesta (principio de la ortogonalidad).

Por esa razón fue preciso emplear un diseño experimental superficie-respuesta proporcionando un número razonable de experimentos, optimizando el ensayo.

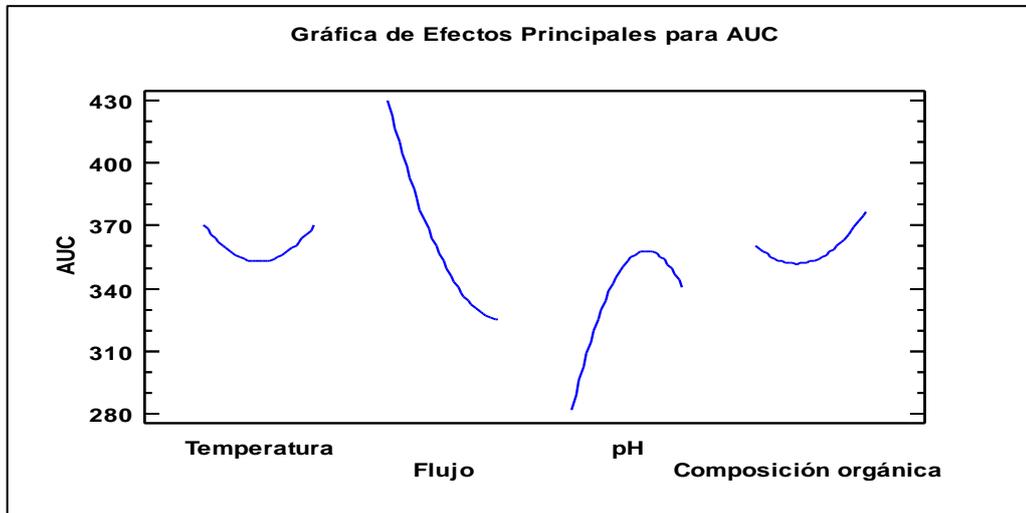
#### 4.1.6. AUC

Se analizaron los factores pH, flujo, Temperatura columna y composición orgánica frente a la Benzocaína con diluyente A y B



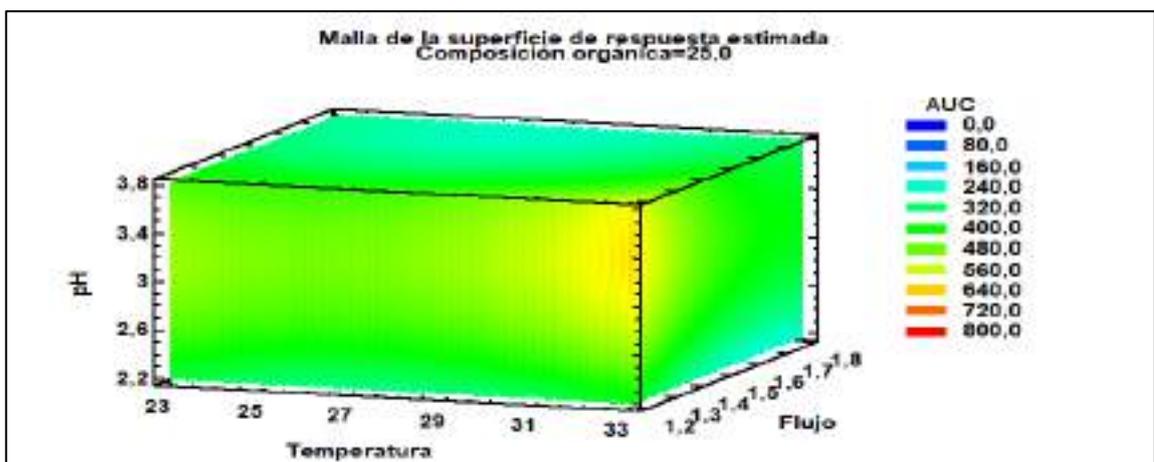
**Ilustración 4-8:** Diagrama de Pareto Estandarizada para AUC de Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-9:** Efectos principales para el AUC de Benzocaína con diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-10:** Malla superficie de respuesta para variable AUC de Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023

Valor optimo= 611,224

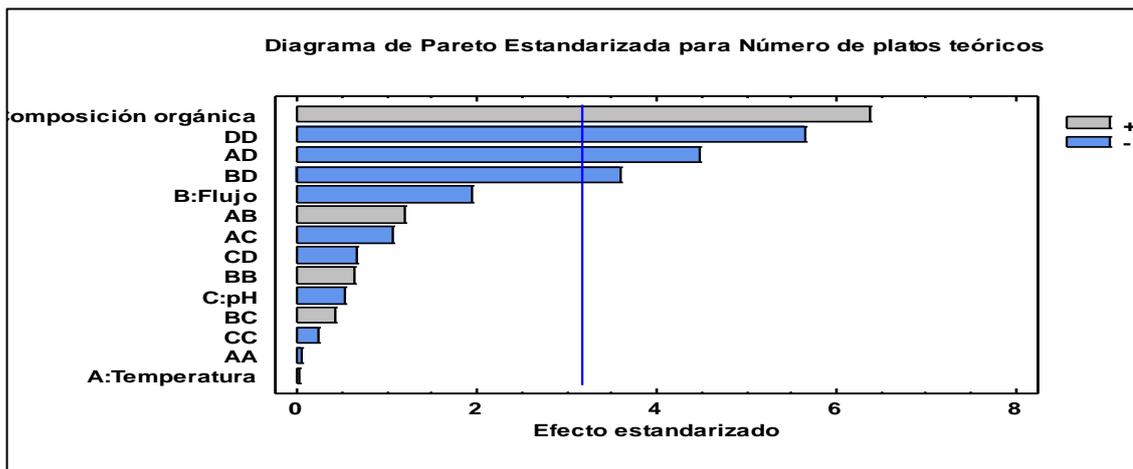
**Tabla 4-20:** Condiciones óptimas de robustez para la variable **ÁREA BAJO LA CURVA**.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	31,0355
Flujo	1,21716	1,78284	1,2376
pH	2,29289	3,70711	3,46271
Composición orgánica	17,9289	32,0711	17,9289

Realizado por: Arias G., 2023

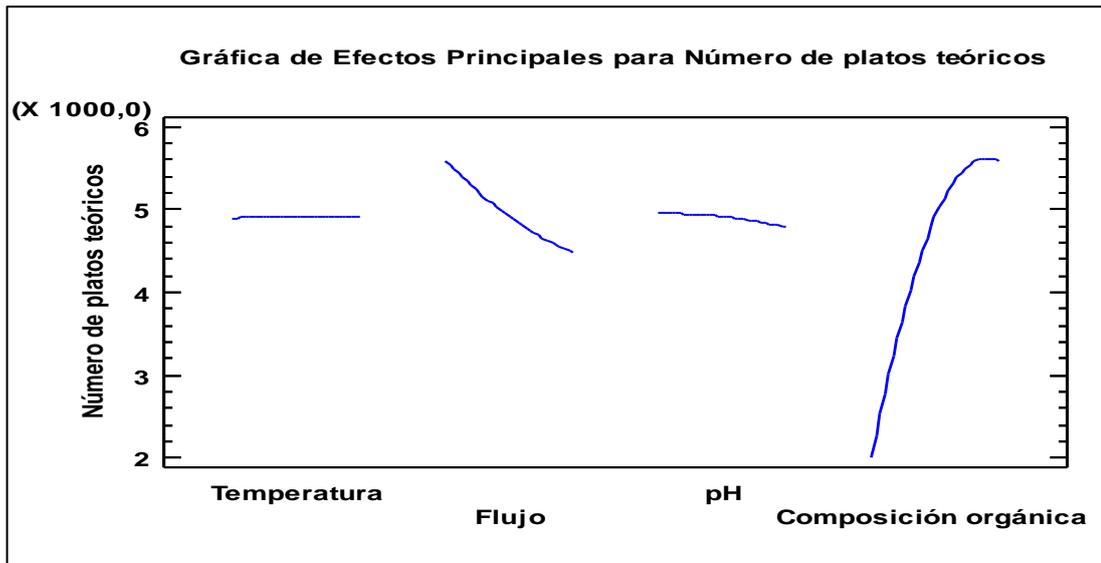
La Tabla 4-20., presenta la combinación de los niveles de los factores a la cual se maximiza el AUC, sobre la región indicada, logrando establecer el valor de uno o más factores con sus adecuados límites alto y bajo en ese valor, las condiciones más apropiadas para obtener un AUC es de un valor óptimo 611,224, se determinaron los valores óptimos de temperatura de columna, flujo, pH y % composición orgánica, se estableció los rangos a continuación citado: Temperatura columna 31,03°C, Flujo de 1,23 mL/min, pH = 3,46 y % composición orgánica de 17,92%. En la gráfica 4-10 de superficie- respuesta se consiguió apreciar los puntos donde se encuentra en la “cima y zonas frías” que formarían las condiciones óptimas de análisis a un valor de 640, que este caso ayuda a obtener el pico del Estándar Benzocaína diluyente A un valor mayor de AUC (área bajo de la curva).

#### 4.1.7. Numero de platos teóricos

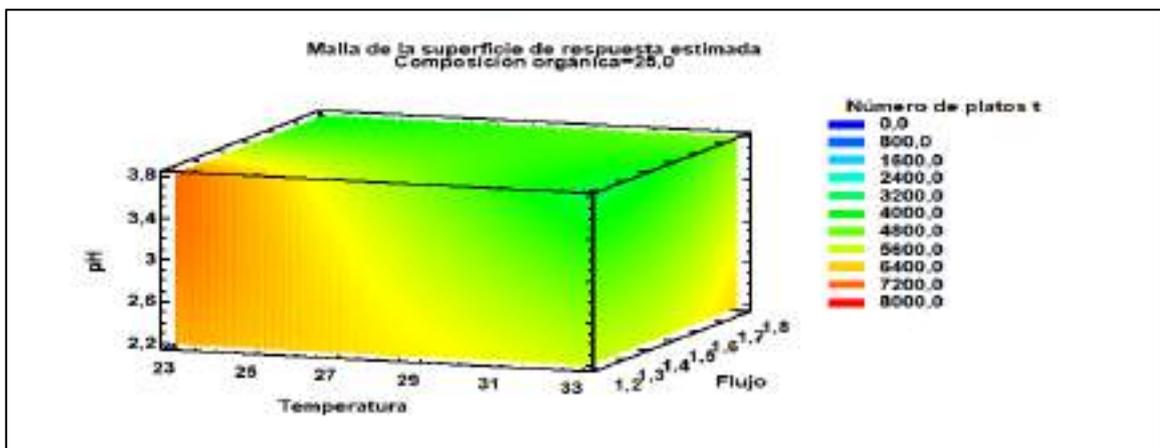


**Ilustración 4-11:** Diagrama de Pareto- Número de platos teóricos de Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-12:** Efectos principales-Número de platos teóricos de Benzocaína diluyente A  
Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-13:** Malla superficie para número de platos teóricos de Benzocaína Diluyente A  
Realizado por: Arias G., 2023

Valor optimo= 12524,0

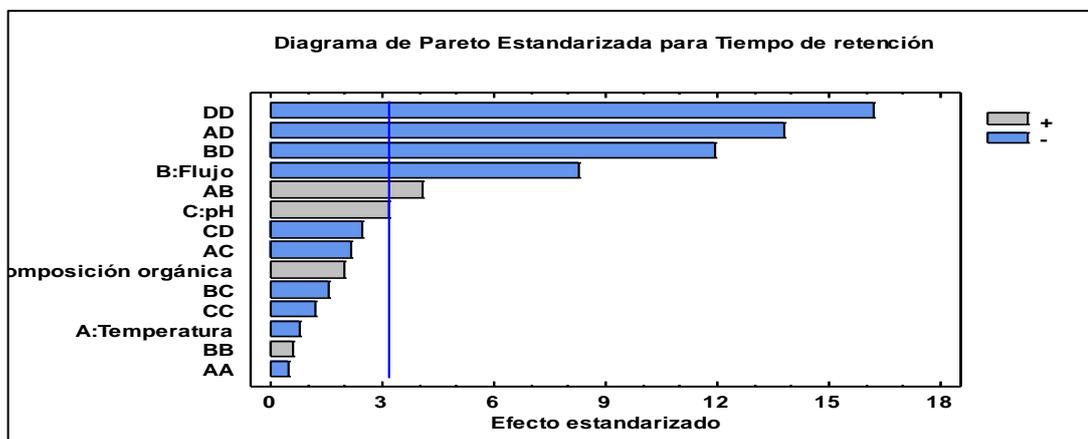
**Tabla 4-21:** Condiciones óptimas de robustez para número de platos teóricos.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	23,9661
Flujo	1,21716	1,78284	1,21716
pH	2,29289	3,70711	2,97801
Composición orgánica	17,9289	32,0711	32,0711

Realizado por: Arias G., 2023

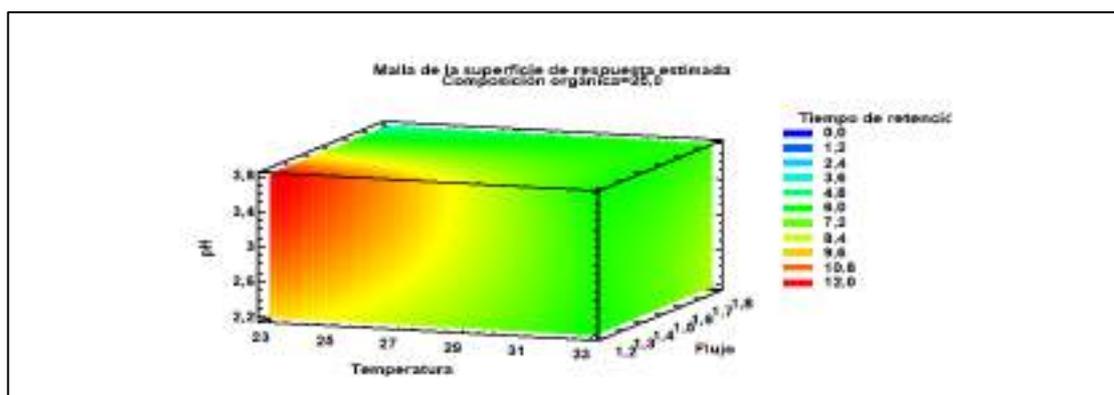
La Tabla 4-21., presenta la combinación de los niveles de los factores a la cual se maximiza el número de platos teóricos, sobre la región indicada. Logrando establecer el valor de uno o más factores con sus adecuados límites alto y bajo en ese valor, las condiciones más apropiadas para obtener Número de platos teóricos es de un valor óptimo 12524,0, se determinaron los valores óptimos de temperatura de columna, flujo, pH y % composición orgánica, se estableció los rangos mencionados a continuación citado: Temperatura columna 23,96°C, Flujo de 1,21 mL/min, pH: 2,97 y % composición orgánica de 32,07%. En la gráfica 4-13 de superficie- respuesta se consiguió apreciar los puntos donde se encuentra en la “cima y zonas frías” que formarían las condiciones óptimas de análisis a un valor de 7200, que este caso ayuda a obtener el pico del Estándar Benzocaína diluyente A con mayor eficiencia es decir mayor número de platos teóricos.

#### 4.1.8. Tiempo de retención



**Ilustración 4-14:** Diagrama de Pareto-tiempo de retención de Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-15:** Malla superficie respuesta-tiempo de retención para Benzocaína diluyente A.

Realizado por: Arias G., 2023

Valor óptimo= 17,1993 min

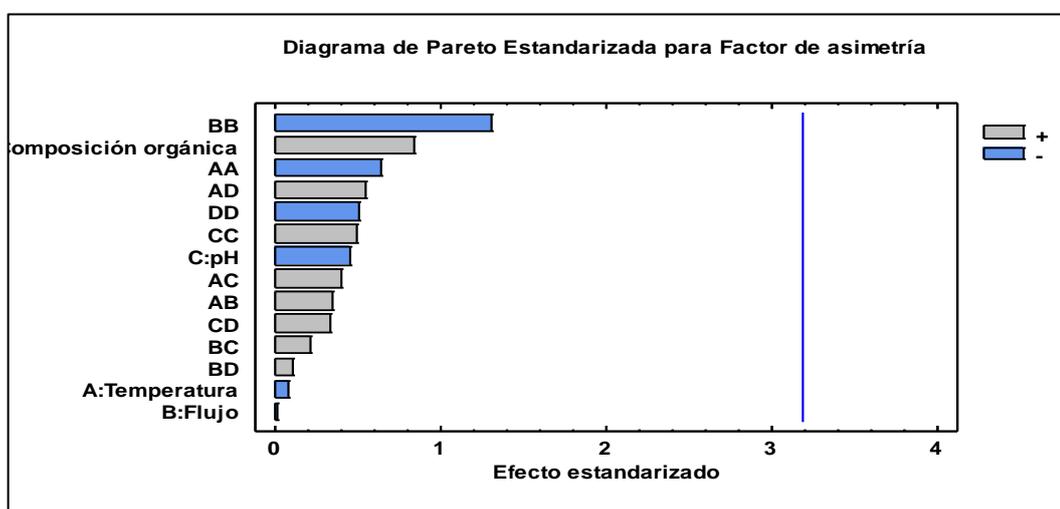
**Tabla 4-22:** Condiciones óptimas de robustez para la variable TIEMPO DE RETENCIÓN.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	23,9645
Flujo	1,21716	1,78284	1,21716
pH	2,29289	3,70711	3,24516
Composición orgánica	17,9289	32,0711	32,071

Realizado por: Arias G., 2023

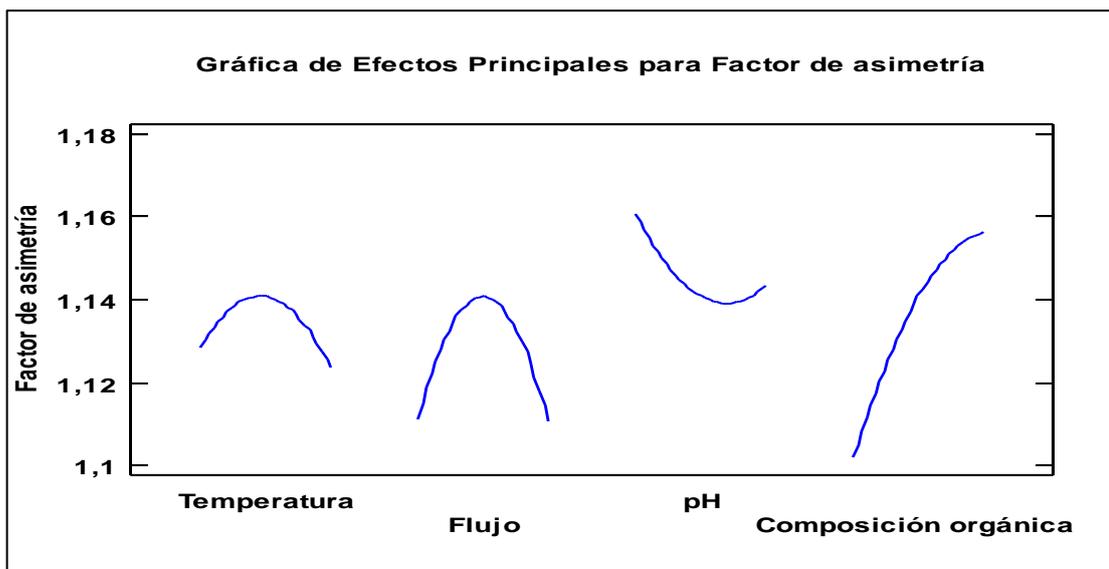
Esta Tabla 4-22, muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza el Tiempo de retención sobre la región indicada. Puede establecer el valor de uno o más factores a una constante, estableciendo los límites alto y bajo de Temperatura columna: 23,96°C, Flujo: 1,21mL / min, pH: 3,24 y Composición orgánica: 32,07%. El valor óptimo para el tiempo de retención es de 17,1993 min. En la gráfica 4-15 superficie- respuesta se compara los cuatros factores evaluados en el diseño experimental para interferir las condiciones óptimas maximiza el tiempo de retención del estándar Benzocaína diluyente A; de color rojo se observa las zonas calientes con condiciones óptimas.

#### 4.1.9. Factor de asimetría



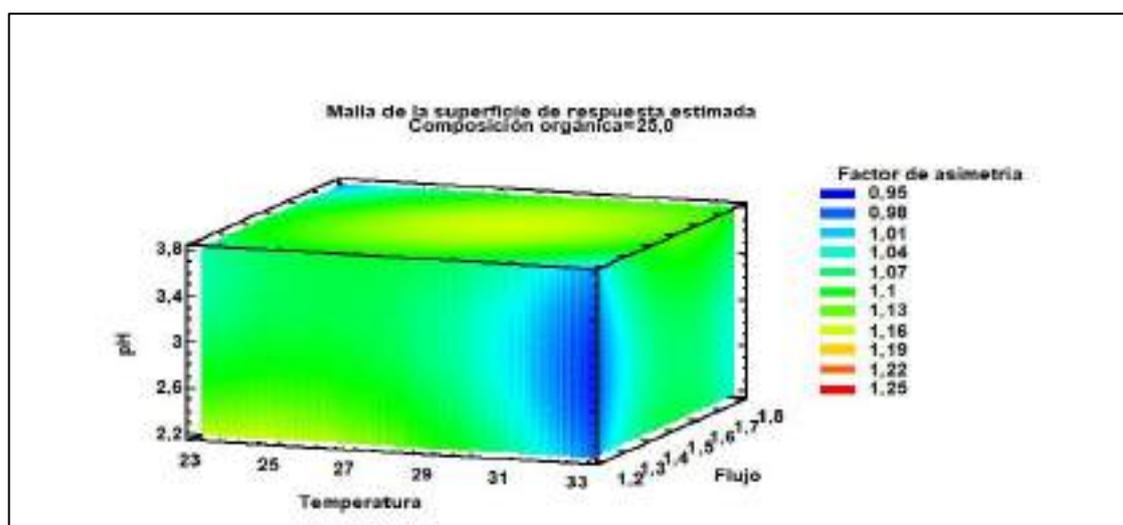
**Ilustración 4-16:** Diagrama de Pareto -Factor de Asimetría de Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias, G, 2023.



**Ilustración 4-17:** Efectos principales para el Factor de Asimetría de Benzocaína diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-18:** Malla superficie respuesta-Factor de Asimetría para Benzocaína Diluyente A

Realizado por: Arias G., 2023

Valor óptimo = 1,18164

**Tabla 4-23:** Condiciones óptimas de robustez para la variable FACTOR DE ASIMETRÍA.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	26,5882
Flujo	1,21716	1,78284	1,46333
pH	2,29289	3,70711	2,29289
Composición orgánica	17,9289	32,0711	26,6703

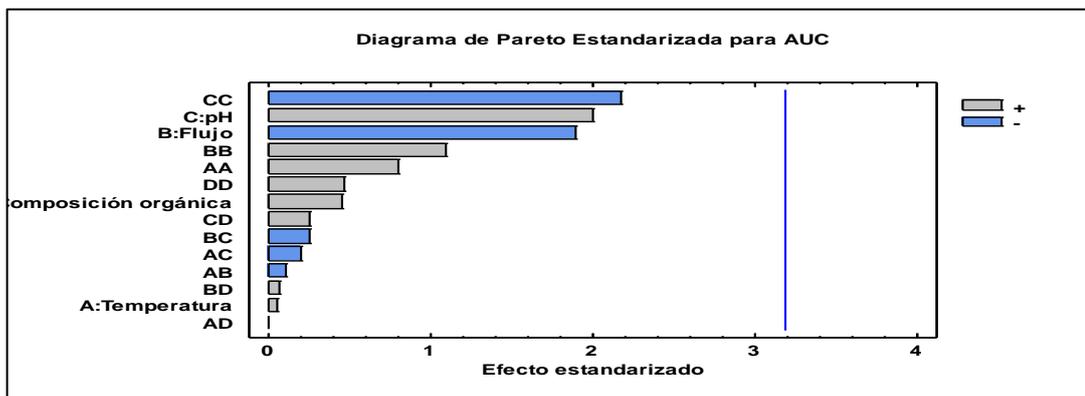
Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 4-23, se indica la combinación de los niveles de los factores, es decir se mantiene el factor de asimetría en 1,0 sobre la región indicada. Alcanzando establecer el valor de uno o más factores a una constante, con sus respectivos límites como es temperatura columna: 26,58°C, Flujo: 1,46 mL/ min, pH: 2,29 y % de composición orgánico: 26,67%. El valor óptimo para el Factor de Asimetría es de 1,18.

Asimismo, en la gráfica 4-18., se logra apreciar los puntos donde el método se encuentra en la cima y zonas frías que formarían las condiciones óptimas del análisis, que esta ocasión ayuda a obtener el pico de estándar Benzocaína Diluyente A con un menor factor de coleo posible.

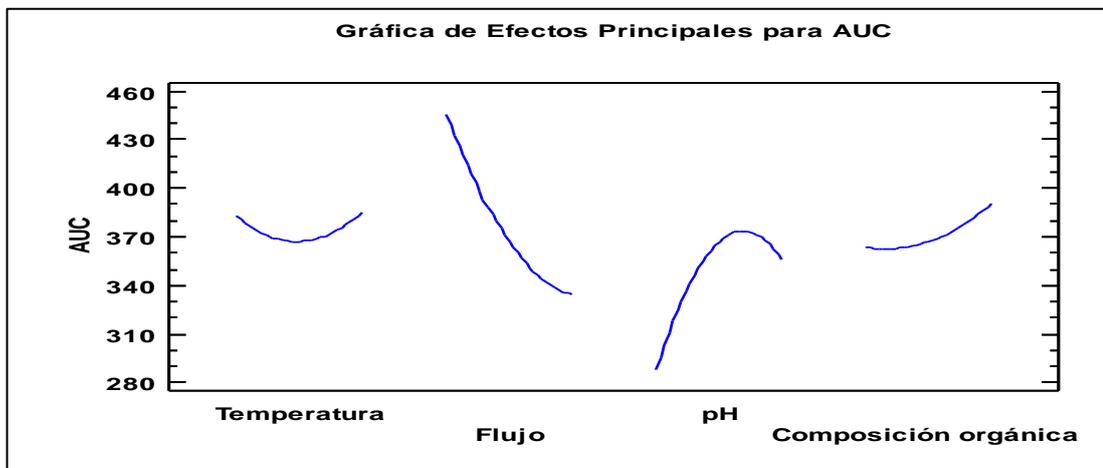
#### 4.1.10. Benzocaína diluyente B

##### 4.1.10.1. AUC



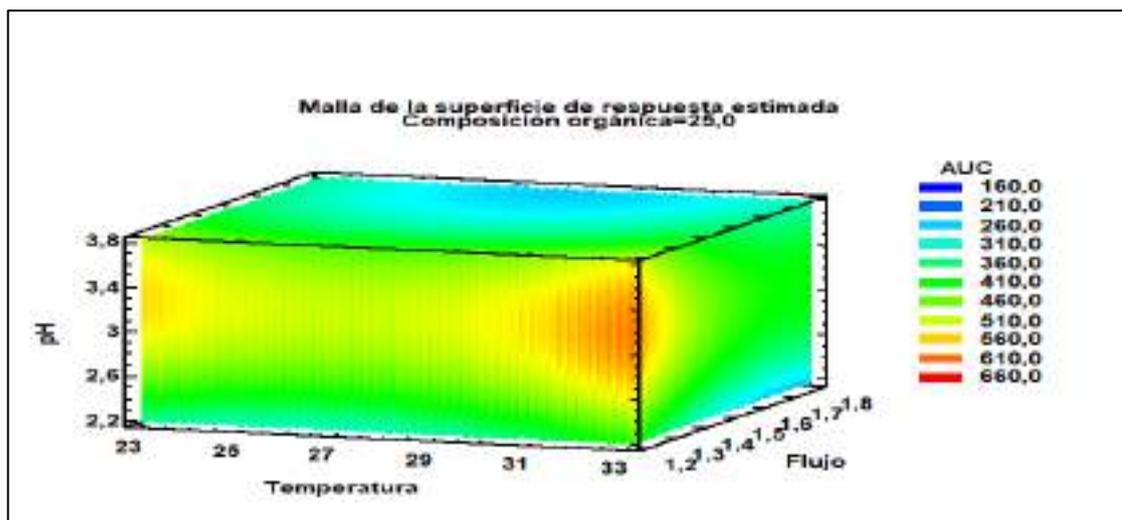
**Ilustración 4-19:** Diagrama de Pareto estandarizado- AUC de Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-20:** Efectos principales para el AUC de Benzocaína diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-21:** Malla superficie respuesta para la variable AUC para Benzocaína Diluyente B  
 Realizado por: Arias G., 2023

Valor optimo = 571,13

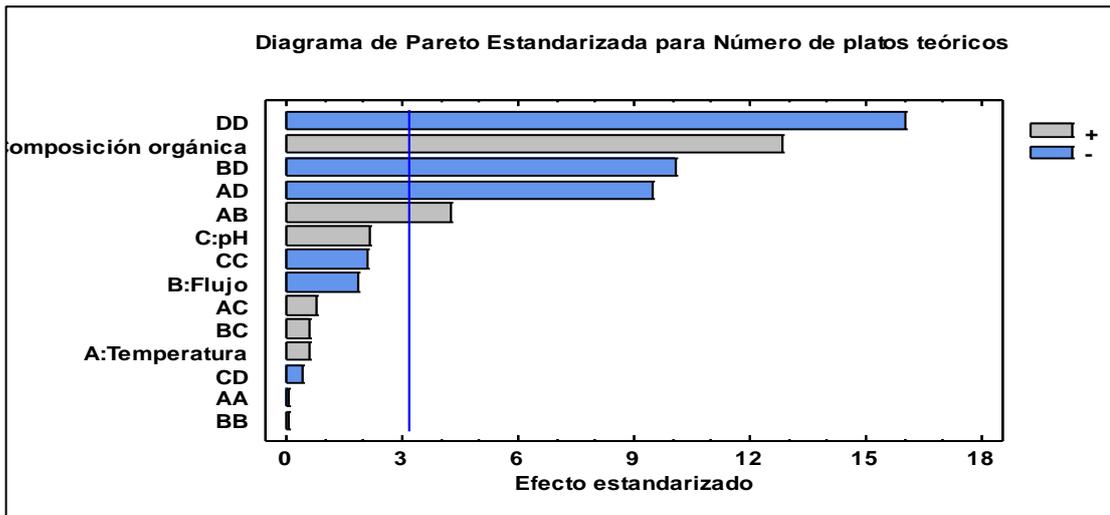
**Tabla 4-24:** Condiciones óptimas de robustez para la variable AUC

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	31,0355
Flujo	1,21716	1,78284	1,21849
pH	2,29289	3,70711	3,0441
Composición orgánica	17,9289	32,0711	32,0711

Realizado por: Arias G., 2023

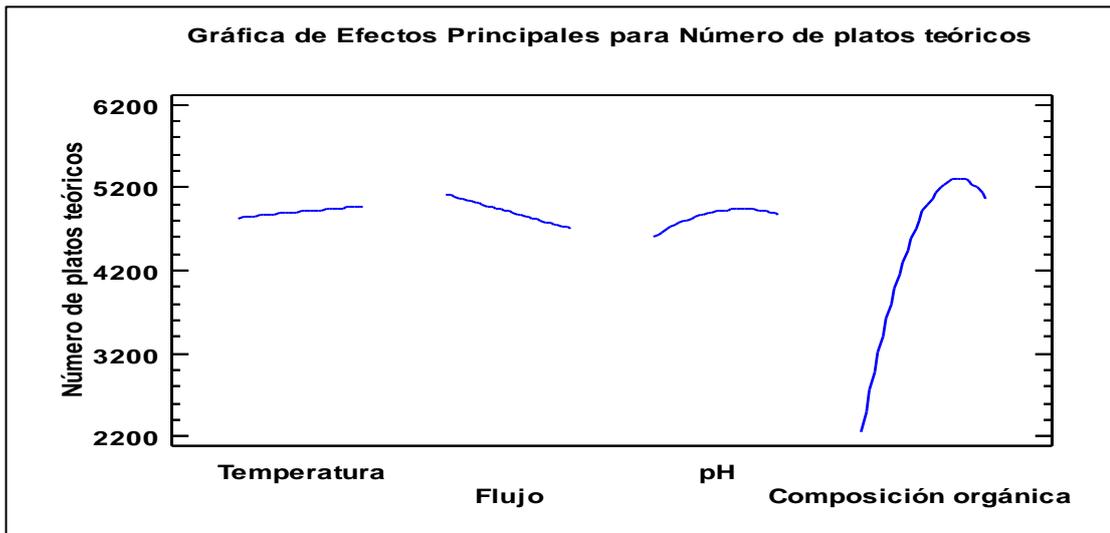
La Tabla 4-24., presenta la combinación de los niveles de los factores a la cual se maximiza el AUC, sobre la región indicada, logrando establecer el valor de uno o más factores con sus adecuados límites alto y bajo en ese valor, las condiciones más apropiadas para obtener un AUC es de un valor óptimo 571,13, se determinaron los valores óptimos de temperatura de columna, flujo, pH y % composición orgánica, se estableció los rangos a continuación citado: Temperatura columna 31,03°C, Flujo de 1,21 mL /min, pH = 3,04 y % composición orgánica de 32,92%. En la gráfica 4-21 de superficie- respuesta se consiguió apreciar los puntos donde se encuentra en la “cima y zonas frías” que formarían las condiciones óptimas de análisis a un valor de 510, que este caso ayuda a obtener el pico del Estándar Benzocaína diluyente B un valor mayor de AUC (área bajo de la curva).

4.1.10.2. Número de Platos teóricos



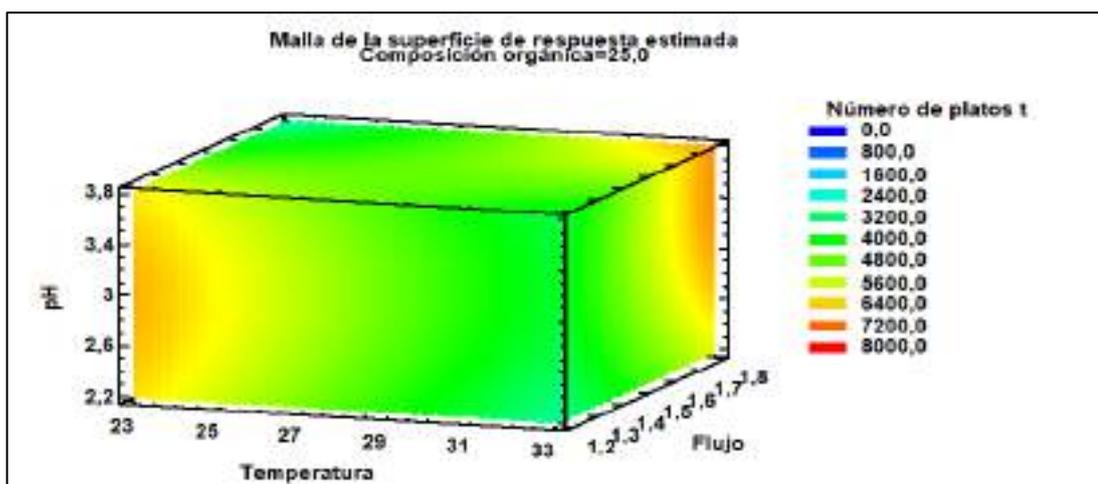
**Ilustración 4-22:** Diagrama de Pareto-Número de platos teóricos de Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-23:** Efectos principales-Número de platos teóricos de Benzocaína diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-24:** Malla superficie-Número de platos teóricos Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias, G, 2023.

Valor óptimo=10824,4

**Tabla 4-25:** Condiciones óptimas de robustez para la variable número de platos teóricos.

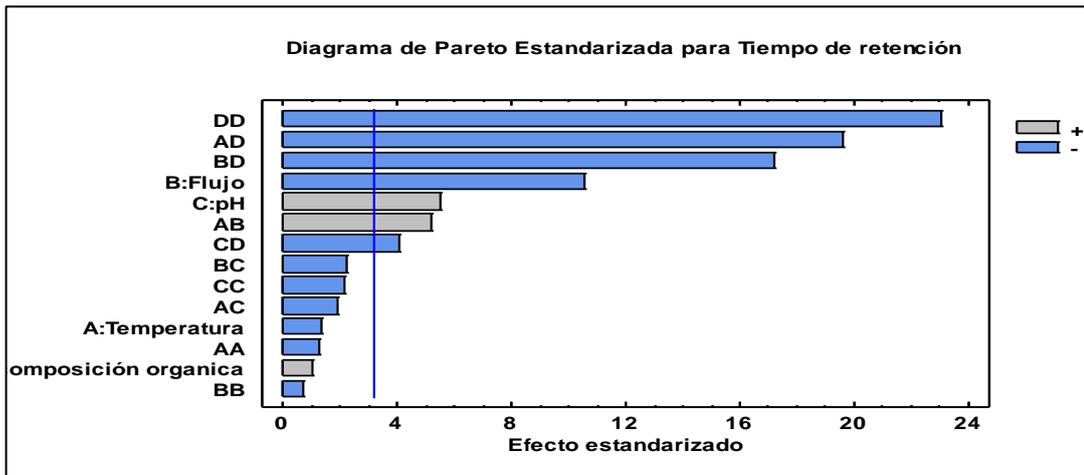
<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
<b>Temperatura</b>	23,9645	31,0355	23,9645
<b>Flujo</b>	1,21716	1,78284	1,21716
<b>pH</b>	2,29289	3,70711	3,46723
<b>Composición orgánica</b>	17,9289	32,0711	32,0625

Realizado por: Arias G., 2023

La Tabla 4-25., presenta la combinación de los niveles de los factores a la cual se maximiza el número de platos teóricos, sobre la región indicada. Logrando establecer el valor de uno o más factores con sus adecuados límites alto y bajo en ese valor, las condiciones más apropiadas para obtener Número de platos teóricos es de un valor óptimo 10824,4, se determinaron los valores óptimos de temperatura de columna, flujo, pH y % composición orgánica, se estableció los rangos mencionados a continuación citado: Temperatura columna 23,96°C, Flujo de 1,21 mL/min, pH:3,47 y % composición orgánica de 32,06%.

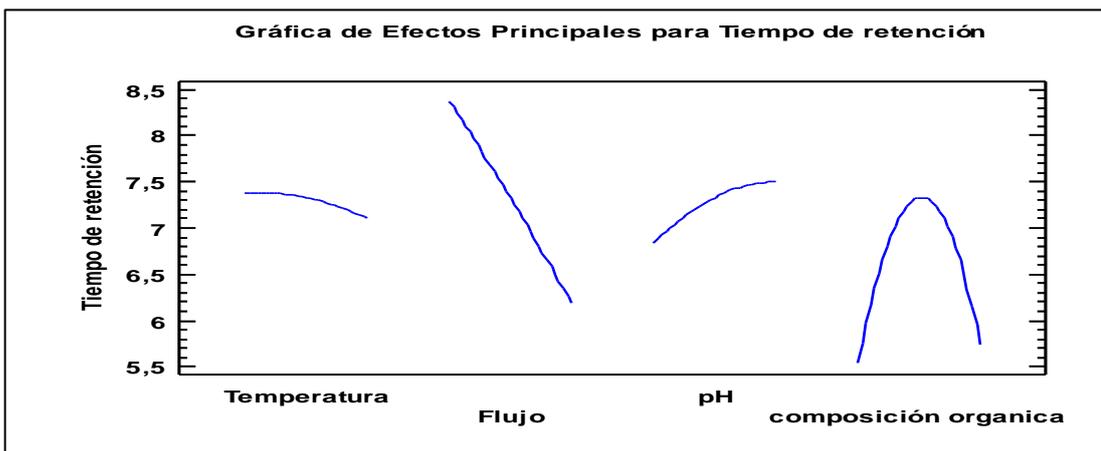
En la gráfica 4-24 de superficie- respuesta se consiguió apreciar los puntos donde se encuentra en la “cima y zonas frías” que formarían las condiciones óptimas de análisis a un valor de 7200, que este caso ayuda a obtener el pico del Estándar Benzocaína diluyente B con mayor eficiencia es decir mayor número de platos teóricos.

4.1.10.3. Tiempo de retención



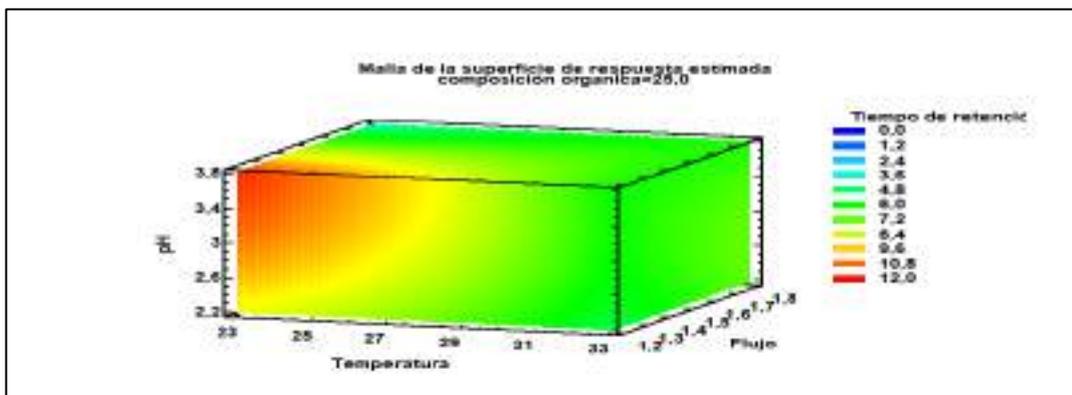
**Ilustración 4-25:** Diagrama de Pareto-tiempo de retención para Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias, G, 2023.



**Ilustración 4-26:** Efectos principales para Tiempo de retención de Benzocaína diluyente B

Realizado por: Arias, G, 2023.



**Ilustración 4-27:** Malla superficie-tiempo de retención para Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias, G, 2023.

Valor óptimo= 16,3471

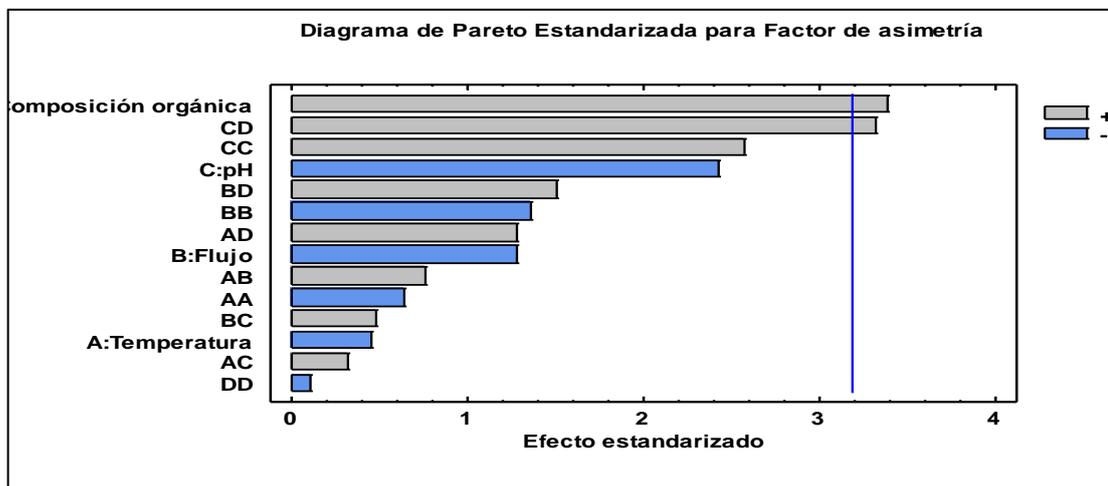
**Tabla 4-26:** Condiciones óptimas de robustez para la variable TIEMPO DE RETENCIÓN.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	23,9645
Flujo	1,21716	1,78284	1,21716
pH	2,2928	3,7071	3,28201
composición orgánica	17,9289	32,0711	31,9533

Realizado por: Arias G., 2023

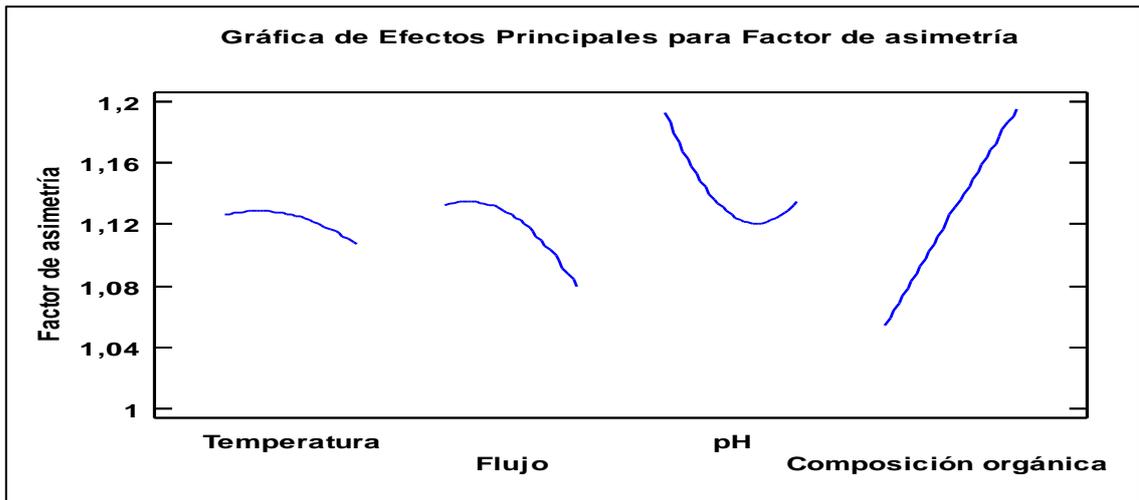
Esta Tabla 4-26, muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza el Tiempo de retención sobre la región indicada. Puede establecer el valor de uno o más factores a una constante, estableciendo los límites alto y bajo de Temperatura columna: 23,96, Flujo: 1,21, pH: 3,28 y Composición orgánica: 31,95%. El valor óptimo para el tiempo de retención es de 16,3471 min. En la gráfica 4-27., superficie- respuesta se compara los cuatros factores evaluados en el diseño experimental para interferir las condiciones óptimas maximiza el tiempo de retención del estándar Benzocaína diluyente B; de color rojo se observa las zonas calientes con condiciones óptimas.

#### 4.1.10.4. Factor de Asimetría



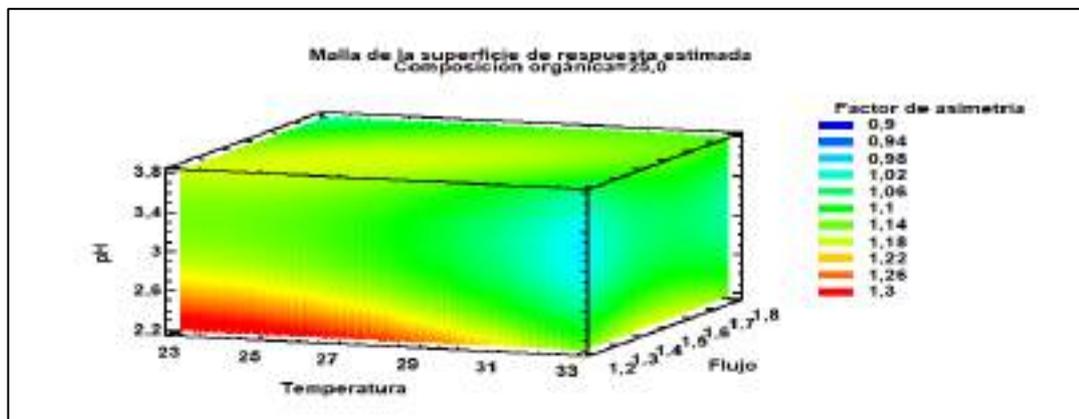
**Ilustración 4-28:** Diagrama de Pareto-Factor Asimetría de Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-29:** Efectos principales para el Factor de asimetría de Benzocaína diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-30:** Malla superficie para Factor de Asimetría de Benzocaína Diluyente B

Realizado por: Arias G., 2023

Valor óptimo= 1,40086

**Tabla 4-27:** Condiciones óptimas de robustez para la variable FACTOR DE ASIMETRÍA.

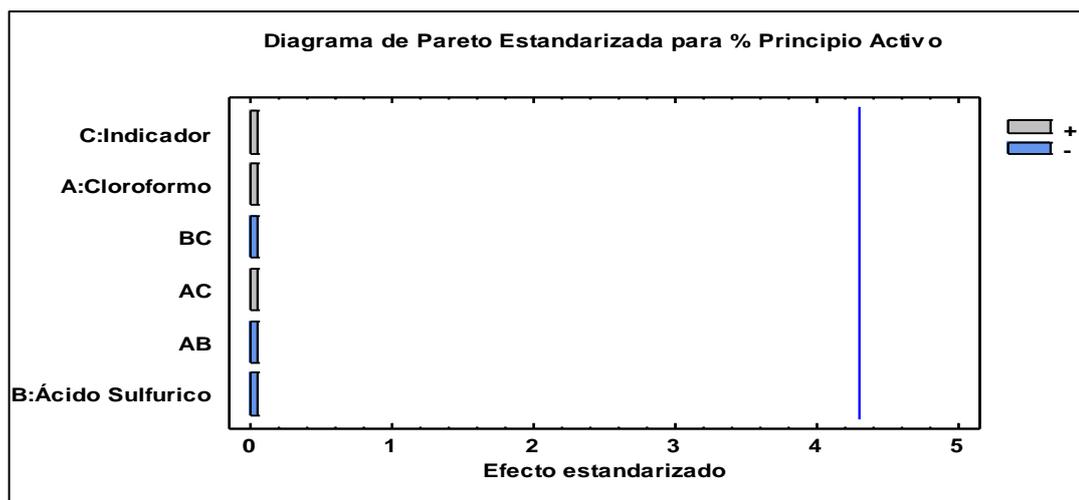
Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	23,9645	31,0355	25,1795
Flujo	1,21716	1,78284	1,21846
pH	2,29289	3,70711	2,29342
Composición orgánica	17,9289	32,0711	17,9289

Realizado por: Arias G., 2023

En la Tabla 27-4, se indica la combinación de los niveles de los factores, es decir se mantiene el factor de asimetría en 1,0 sobre la región indicada. Alcanzando establecer el valor de uno o más factores a una constante, con sus respectivos límites como es temperatura columna: 25,17°C,

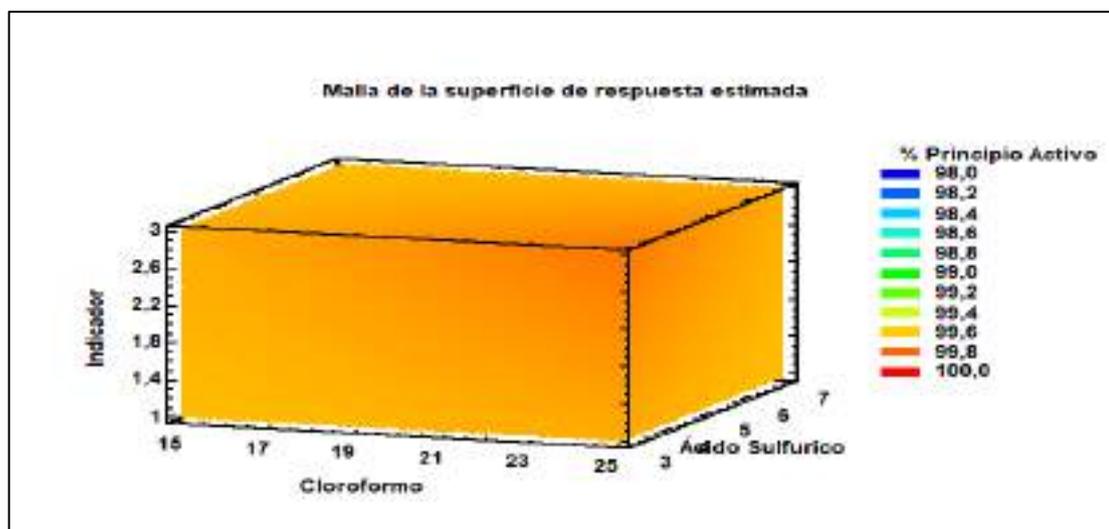
Flujo: 1,21 mL/ min, pH: 2,29 y % de composición orgánico: 17,92%. El valor óptimo para el Factor de Asimetría es de 1,40. Asimismo, en la Gráfica 4-30., se logra apreciar los puntos donde el método se encuentra en la cima y zonas frías que formarían las condiciones óptimas del análisis, que esta ocasión ayuda a obtener el pico de estándar Benzocaína Diluyente B con un menor factor de coleo posible.

#### 4.1.11. Cloruro de cetilpiridinio



**Ilustración 4-31:** Esquema de Pareto-cantidad de principio activo Cloruro de cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-32:** Malla Superficie- respuesta estimada para Estándar Cloruro de cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023

Valor óptimo= 99,7594

**Tabla 4-28:** Condiciones óptimas de robustez para la variable (%) PRINCIPIO ACTIVO

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
CLOROFORMO	15,0	25,0	15,0
ÁCIDO SULFURICO 2N	3,0	7,0	7,0
INDICADOR	1,0	3,0	3,0

Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

Realizado por: Arias G., 2023

De acuerdo, con el parámetro de robustez se ejecutó a la muestra estándar cloruro de cetilpiridinio a condiciones diferentes, por medio de la Tabla 4-28 se indica la verificación de factores maximizando el principio activo, en la muestra estándar detallando que las condiciones más adecuadas para obtener un porcentaje de principio activo es como valor óptimo 99,7594% para cada ensayo los siguientes volumen 15mL de cloroformo, 7mL de Ácido Sulfúrico y 15 mL de Indicador (naranja de metilo) quedando estos métodos lo más apropiados para una cantidad de recobro óptimo y seguro en cada ensayo establecido dentro de las condiciones del Laboratorio. Por ello, la robustez no debe tomar en consideración como un parámetro de validación en sí mismo, si no el análisis que permitirá conocer cuáles son las condiciones óptimas de trabajo para las diferentes variables estudiadas (AEFI, 2001, p.105).

#### 4.1.12. Estabilidad

**Tabla 4-29:** Resultados del parámetro estabilidad de la muestra para estándares Benzocaína.

PARÁMETRO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	CONDICIONES	TIEMPO (HORAS)	% DIFERENCIA ABSOLUTA (AUC)	
				Benzocaína A	Benzocaína B
<b>ESTABILIDAD DE LA MUESTRA</b>	La diferencia absoluta de cada condición con respecto a la normal no debe exceder el $RSD \leq 20\%$ de	<b>AMBIENTE</b>	0	0,087%	0,113%
			12	4,2623%	12,1682%
			24	3.9101%	3.5148%

	precisión del sistema	<b>REFRIGERACIÓN</b>	12	5,7465 %	2,6204%
			24	7,9548 %	0,2070%

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

En la Tabla 4-29. Se muestra el porcentaje de degradación del principio activo, se realizó a 0, 12 y 24 horas frente a factores ambiente y refrigeración a 12 y 24 horas de su preparación conservadas en las condiciones convencionales del laboratorio, en comparación con tiempo y temperatura del método analítico.

El estudio de Estabilidad de la Benzocaína diluyente A y B demostró como se evidencia en la Tabla.4-29. Los siguientes resultados en razón de su RSD no excede el 20 % de degradación, cumpliendo con el límite especificado y estableciendo que la muestra es estable a las 24 horas del Estándar Benzocaína con diluyente A y B, se dice que una alta concordancia entre los distintos ensayos a distintos tiempos, sin embargo la Benzocaína con diluyente B a las 12 horas a temperatura ambiente presenta un RSD alto a comparación con los demás tiempos esto debido a que las condiciones de operación suelen variar al colocar las muestras a distintas condiciones (AEFI,2001)., No obstante debido a la volatilidad del medio de disolución ( Acetonitrilo:H2O) para benzocaína diluyente B, se recomienda que la preparación y análisis de la muestra sea en fresco para evitar cualquier problema de error al procesar los resultados.

**Tabla 4-30:** Resultados del parámetro estabilidad de la muestra para Cloruro de cetilpiridinio.

CRITERIO DE ACEPTACION		RESULTADO	DECISIÓN
<b>ESTABILIDAD DE LA MUESTRA</b>	La diferencia absoluta de cada condición con respecto a la normal no debe exceder el $RSD \leq 20\%$ de precisión del sistema	<b>Ambiente:</b> 0,0724% <b>Refrigeración:</b> 0,0624 %	<b>Cumple</b>

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

En la Tabla 4-30. Se evidencian los resultados del ensayo de estabilidad de la muestra a tiempo de 0, 12, 24, 48 horas frente a condiciones ambiente y refrigeración son lo más óptimos y apropiados para cumplir con la determinación lo cual se indica en la tabla mencionada, para evaluar este parámetro se tomó como referencia los (mL) consumidos en la valoración del Cloruro de cetilpiridinio, obteniéndose los siguientes resultados un RSD = 0,0724% Ambiente y un RSD= 0,0624 % Refrigeración de variación para porcentaje de principio activo valor obtenido entre la variación de mL consumidos y peso de muestra a los diferentes tiempos establecidos, mismo que cumplen con las especificaciones establecidas y representa una estabilidad optima ya que permite conocer si la muestra es estable frente a distintos tiempos de valoración y así conocer un tiempo máximo de conservación para sus correspondientes análisis.

#### 4.1.13. Degradación forzada

**Tabla 4-31:** Degradación Forzada de la muestra para benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio

CRITERIO DE ACEPTACIÓN		RESULTADO	DECISIÓN
<b>DEGRADACIÓN FORZADA</b>	Identificación de Degradantes y sus tiempos de retención	El método analito para Bucosept tabletas (Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio), permite discrepar entre todas las iones químicos que logren generarse en condiciones de degradación forzada en medio alcalina, ácida, foto lítica, oxidación y degradación térmica.	Informativo

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

En la Tabla 4-31., se muestra el parámetro degradación forzada se puede discutir el distinto comportamiento del estándar del principio activo sometida a estrés frente agentes de degradación de carácter ácido, alcalina, oxidante, térmica, y foto lítica, las mismas que fueron sometidos a un tiempo de exposición de 24 horas a temperatura ambiente (25°C), permitiendo distinguir a las especies químicas que pueden generarse tras dicha exposición.

#### 4.1.14. Idoneidad del sistema

**Tabla 4-32:** Resultados del parámetro de Idoneidad del sistema.

<b>Benzocaína</b>				
<b>CRITERIO DE ACEPTACIÓN</b>		<b>RESULTADO</b>		<b>DECISIÓN</b>
		<b>Diluyente A</b>	<b>Diluyente B</b>	
<b>PRECISIÓN DEL SST</b>	RSD ≤ 2%	0,401%	1,013%	<b>Cumple</b>
<b>PRECISIÓN TR</b>	RSD ≤ 2%	0,15%	0,11%	
<b>NÚMEROS DE PLATOS TEORICOS</b>	N > 2000	5107,784	4924,924	
<b>FACTOR DE ASIMETRÍA</b>	Asimetría < 1,5	1,036	1,092	

**Fuente:** Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones.

**Realizado por:** Arias G., 2023

En la Tabla 4-32. Se indica los resultados del parámetro del parámetro de la Idoneidad del sistema que expresa el estado del sistema cromatográfico, verificando si es adecuado para cumplir el propósito del análisis que se haya establecido. Se determinaron criterios establecidos en (AEFI, 2001, pp.106-113), como; Precisión del SST, el cual evalúa la variación de los datos al haber realizado varias inyecciones consecutivas de una misma muestra estándar de Benzocaína con diluyente A y B y con RSD= 0,401% y 1,013% que se encuentran dentro del rango establecido es decir que el método analítico estudiado tiene un alto grado de concordancia entre varias inyecciones de la muestra Estándar.

El factor de capacidad que determina la retención del analito, se obtuvieron valores (minutos) para Benzocaína diluyente A, un valor de 7,444 y 7,514 Benzocaína diluyente B respectivamente son valores superiores a 1 minuto por lo que señala que el analito eluye a un tiempo de retención alejado de la línea base, por lo que no se ve comprometida la selectividad del método.

En cuanto al número de platos teóricos como indicativo de eficiencia, se obtuvieron valores de 5107,784 para Estándar Benzocaína con diluyente A y 4924,924 del Estándar de Benzocaína con diluyente B lo que indica, tanto que se cumple con el límite establecido en los criterios de aceptación además de la buena condición operativa de la columna cromatográfica y de las condiciones operativas del análisis empleadas.

Y el caso del factor de asimetría, se tuvieron resultados para Benzocaína con diluyente A 1,036 y para Benzocaína con diluyente B 1,092 que indican que los picos sufren de una poca asimetría, esto puede ser afectado por el pH de la fase móvil o de muestra sobrecargada (AEFI, 2001, p.111).

#### ***4.1.15. Incertidumbre de la medición***

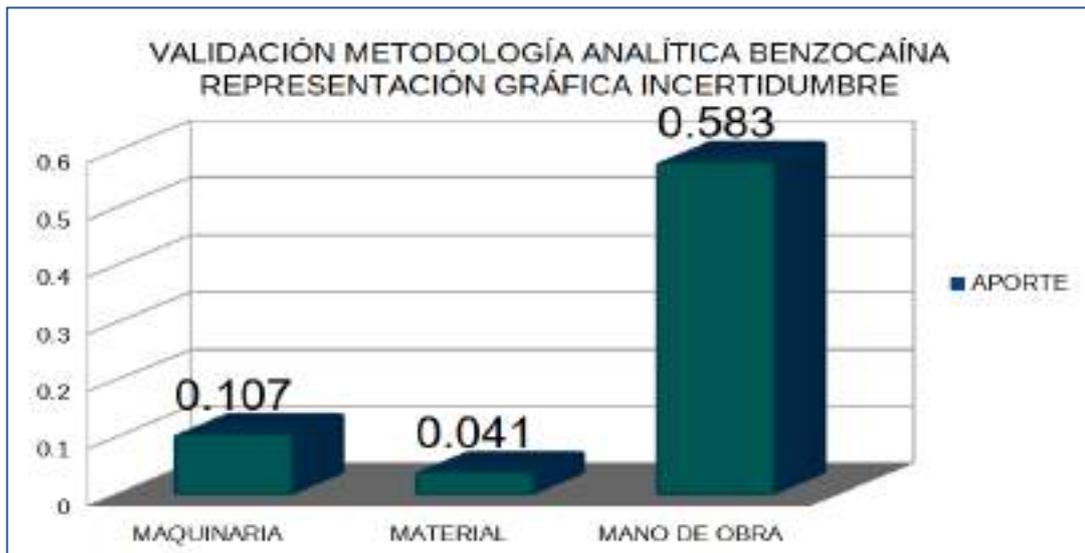
En el estudio de incertidumbre de la medición se analizó las fuentes de error de análisis en relación a las 6 M de Ishikawa, mano de obra, medio ambiente, maquinaria, material, método, y materia prima, se efectuó la suma de las incertidumbres individuales de los factores evaluados para obtener los resultados de la incertidumbre combinada y expandida que permite evaluar de mejor manera la influencia de dichos factores en el análisis; además se determinó que factor influyen en mayor grado a la incertidumbre de cada principio activo Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio.

**Tabla 4-33:** Incertidumbre de la medición para Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio.

PARÁMETRO	PRINCIPIO ACTIVO	
	BENZOCAÍNA	CLORURO DE CETILPIRIDINIO
INCERTIDUMBRE COMBINADA	$\mu = 0.731$	$\mu = 0.174$
INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	$U = k\mu$ (y) 1.463	$U = k\mu$ (y) 0.348

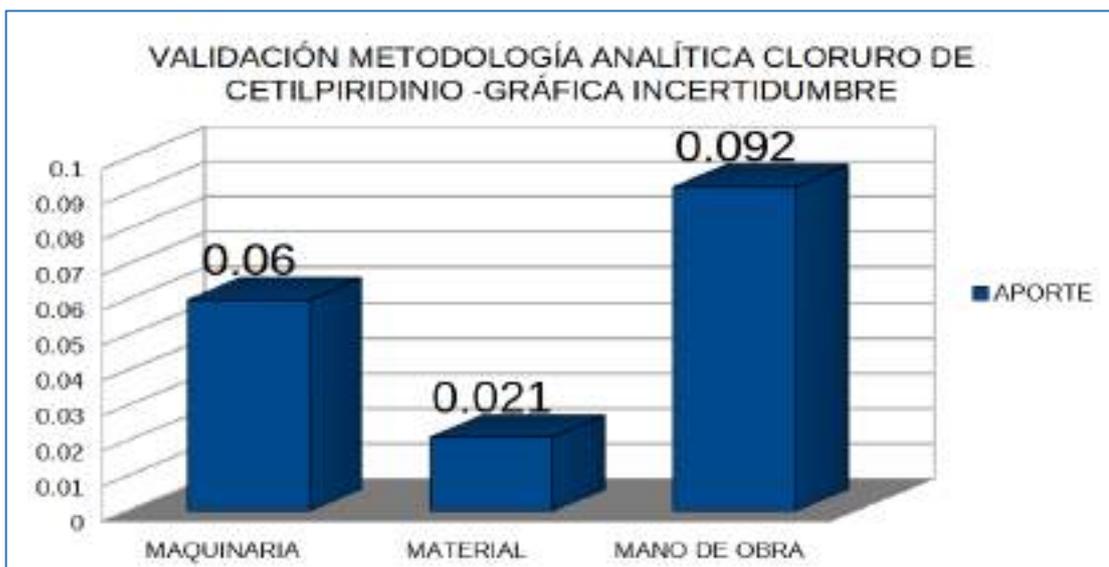
Fuente: Departamento de I+D+i & Departamento de Validaciones

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-33:** Incertidumbre de medición para Benzocaína y Cloruro de Cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023



**Ilustración 4-34:** Fuente de Incertidumbre de la medición para Cloruro de Cetilpiridinio

Realizado por: Arias G., 2023

Finalmente, en la Tabla 4-33 se observa los resultados obtenidos del cálculo de la incertidumbre de la medición total, se realizó este parámetro con el objetivo de brindar el grado de certeza necesaria para la validación del método analítico. En el gráfico 4-33 y 4-33 se observa el análisis de la Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio, el porcentaje más alto fuente de mayor incertidumbre es la mano de obra de los analistas, la causa de este error posiblemente por la técnica de pesaje, toma de alícuotas, aforo; mientras tanto para maquinaria y material aportan un error propio de su fabricación aportando la suma total de la incertidumbre, la misma que no representa un valor alto a comparar con la mano de obra lo cual es posible controlar y disminuir.

## CONCLUSIONES

- El estudio de los parámetros de validación desarrollados demostró la capacidad óptima del método analítico para su aplicación dentro de la valoración en rutina tanto de materia prima como del producto terminado Bucosept tabletas.
- Se demostró mediante ANOVA que el criterio de aceptación de  $p(\text{valor})$  fue mayor a 0,05 en los parámetros de validación, siendo adecuado el método analítico desarrollado por NEOFÁRMACO para la determinación de los principios activos en BUCOSEPT TABLETAS mediante la aplicación del protocolo de validación.
- Se determinó con un grado de confianza del 95,0% que en el método analítico no existe una diferencia estadísticamente significativa entre cada medición efectuada por parámetros, dando resultados consistentes, reproducibles, confiables y adecuados, proporcionando seguridad y fiabilidad para la valoración de Benzocaína y Cloruro de cetilpiridinio en Bucosept tabletas.

## **RECOMENDACIONES**

- Al momento de preparar las muestras verificar la completa disolución tanto de principios activos como de excipientes.
- Realizar correctamente los aforos para evitar diferencia significativa en los resultados.
- Analizar las muestras en fresco, no obstante, se puede analizar las muestras hasta 24 horas.

## **BIBLIOGRAFIA**

**AEFI.** *Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Sección Catalana. Comisión de Normas de Buena Fabricación y Control de Calidad.* [en línea]. 2001.. Disponible en: [http://cataleg.ub.edu/record=b1472012~S1\\*cat](http://cataleg.ub.edu/record=b1472012~S1*cat).

**ARCSA.** *Instructivo externo.* 2022.

**ARCSA.** *Normativa de buenas prácticas para laboratorios farmacéuticos.* 2022.

**BOLAÑOS, R. y BOND, K.** *Mejora de la calidad y eficacia de los medicamentos en la Región de las Américas.* *Rev Panam Salud Publica*, vol. 39, no. 5,

**BONET, R..** *Anestésicos locales. Ámbito Farmacéutico - Farmacoterapia*, 2011.

**DAGNINO, J.** *Análisis de varianza.* *Revista Chilena de Anestesia* [en línea], 2014. Disponible en: <https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n04.07.pdf>.

**DENTAID.** *EL CPC es un antiséptico de amplio espectro de acción que incrementa la actividad antibacteriana de la CHX El. Una iniciativa de Perio.Aid.* 2020.

**FDA.** *Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry.* 2015.

**FDA.** *FDA draft guidance – Analytical Procedures and Methods Validation.* 2019.

**FDA.** *La FDA actúa contra el uso de productos con benzocaína de venta sin receta para la dentición debido a riesgos de seguridad graves y una ausencia de beneficios* [en línea] 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/comunicados-de-prensa/la-fda-actua-contr-el-uso-de-productos-con-benzocaina-de-venta-sin-receta-para-la-denticion-debido>.

**GARCÍA, A. y YUSÁ, D.** *Hplc Instrumental* [en línea]. 2016. Disponible en: [www.lalibreria.upv.es](http://www.lalibreria.upv.es).

**GARCÍA, C.** *Laboratorio de Química Orgánica IV.* 2021.

**ICH-Q2A.** *BioPharm International - Analytical Methods : A Statistical Perspective on the ICH*

Q2A. 2007.

**LABORATORIO NEOFÁRMACO.** *Política, misión y visión.* 2003.

**MACARULLA, J.** *Bioquímica humana* [en línea]. 2021. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Bioquímica\\_humana/Bxo3EAAAQBAJ?hl=es&gbpv=1&dq=significado+de+indicador+en+valoracion+volumetrica&pg=PA47&printsec=frontcove](https://www.google.com.ec/books/edition/Bioquímica_humana/Bxo3EAAAQBAJ?hl=es&gbpv=1&dq=significado+de+indicador+en+valoracion+volumetrica&pg=PA47&printsec=frontcove).

**MARRERO, D. y GONZÁLEZ, V.** *Acercamiento a La Validacion De Metodos Analiticos En La Industria Farmaceutica Cubana.* *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 2005.

**MENDEZ, A.** *Desarrollo de métodos para el aislamiento y la detección de toxinas marinas en productos de la pesca y la acuicultura.* [en línea]. 2009. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Desarrollo\\_de\\_métodos\\_para\\_el\\_aislamien/x1Eg\\_Cc\\_jXoC?hl=es&gbpv=1&dq=tipos+de+cromatografía+segun+la+polaridad&pg=PA49&printsec=frontcover](https://www.google.com.ec/books/edition/Desarrollo_de_métodos_para_el_aislamien/x1Eg_Cc_jXoC?hl=es&gbpv=1&dq=tipos+de+cromatografía+segun+la+polaridad&pg=PA49&printsec=frontcover).

**MOLINA, M.** *Distribución de la t de Student. Anestesiari* [en línea] 2021. Disponible en: <https://anestesiari.org/2021/el-cervecerero-distribucion-de-la-t-de-student/>.

**MONGAY, C.** *Quimiometria* [en línea]. 2011. Disponible en: <https://www.google.com.ec/books/edition/Quimiometria/3oixtIRPAUC?hl=es&gbpv=1&dq=prueba+de+levens+que+es&pg=PA133&printsec=frontcover>.

**OMS.** *Calidad y seguridad de los medicamentos: sistemas de reglamentación: informe de la Secretaría.* [en línea] 2004. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/21235>.

**OMS.** *Validación de los procedimientos analíticos empleados en el examen de los materiales farmacéuticos.* 2010.

**OMS.** *Comité De Expertos De La Oms En Especificaciones Para Las Preparaciones Farmaceuticas. Informes Tecnicos.* 2012.

**OMS.** *Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Red PARF Documento técnico N° 6* [en línea] 2010. Disponible en: <file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/Espanol-control-calidad-laboratorios-farmaceuticos.pdf>.

**OMS.** *Prácticas adecuadas de fabricación: directrices sobre la validación de los procesos de fabricación.* 2010.

**PÁSSARO, C. y RIVERA, C.** *Guía Sobre Principios Básicos De Cromatografía Y Sus Aplicaciones.* Sennova, 2016.

**POLO, M.** *Desarrollo de nuevos métodos de microextracción en fase sólida para la determinación de contaminantes emergentes matrices acuosas* [en línea].2007. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Desarrollo\\_de\\_nuevos\\_métodos\\_de\\_microex/oAo2GtMGm7QC?hl=es&gbpv=1&dq=que+es+el+diseño+de+cribado&pg=PA106&printsec=frontcover](https://www.google.com.ec/books/edition/Desarrollo_de_nuevos_métodos_de_microex/oAo2GtMGm7QC?hl=es&gbpv=1&dq=que+es+el+diseño+de+cribado&pg=PA106&printsec=frontcover).

**RÍOS, M. y BADILLA, C.** *Validación de Procesos.* Instituto de Salud Pública de Chile [en línea] 2004. Disponible en: [http://www.ispch.cl/sites/default/files/u24/Guia\\_Validacion\\_GMP.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/u24/Guia_Validacion_GMP.pdf).

**SNYDER, L. y KIRKLAND, J..** *Introduction to modern liquid chromatography.* 2010.

**TOLEDO, M.** *El ABC de la valoración en la teoría y en la práctica.* Mettler-Toledo AG. Analytical [en línea] 2013. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/65309/An%Elisisvolum%E9trico.pdf;jsessionid=F6C9604A48773B6A3CC39924210B07F0?sequence=1>.

**USP-NF.** *Cloruro de cetilpiridinio.* Farmacopea, 2023.

**USP-NF.** *Cromatografía USP-NF.* 2023.

**USP-NF.** *Validación de Procedimientos* [en línea]. 2023. Disponible en: [https://online.uspnf.com/uspnf/document/4\\_GUIDE2C6F9E8EA714B72A7BA76ABD5E72964\\_4\\_es-ES?source=Search Results&highlight=1225](https://online.uspnf.com/uspnf/document/4_GUIDE2C6F9E8EA714B72A7BA76ABD5E72964_4_es-ES?source=Search Results&highlight=1225).

**USP.** *Cloruro de Cetilpiridinio, Tabletas de Disolución Bucal. Monografías Oficiales,* 2022.

**VADEMECUM.** *Monografías Principio Activo Cloruro Cetilpiridinio. Cetilpiridinio, preparados para la garganta* [en línea] 2015. Disponible en: [https://www.vademecum.es/equivalencialistacloruro+de+cetilpiridinio+alantonia+med+cell+compressed+lozenge-chile-r02aa06--cl\\_1](https://www.vademecum.es/equivalencialistacloruro+de+cetilpiridinio+alantonia+med+cell+compressed+lozenge-chile-r02aa06--cl_1).

**VOLONTÉ, G. y QUIROGA, P.** *Análisis farmacéutico* [en línea] 2013. Disponible en: <file:///C:/Users/Dell/Downloads/85-3-221-1-10-20150331.pdf>.

**WEITZEL, M et al.** *Incertidumbre en la medición para la industria farmacéutica.* [en línea] 2017. Disponible en: <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/resources/pf441nov12017.pdf>.

**ZUMBADO, H.** *Análisis Químico de los Alimentos. Métodos Clásicos* [en línea]. 2020. Disponible en: <http://avibert.blogspot.com>.



# ANEXOS

## ANEXO A: CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DEL PARÁMETRO SELECTIVIDAD BENZOCAÍNA DILUYENTE A.

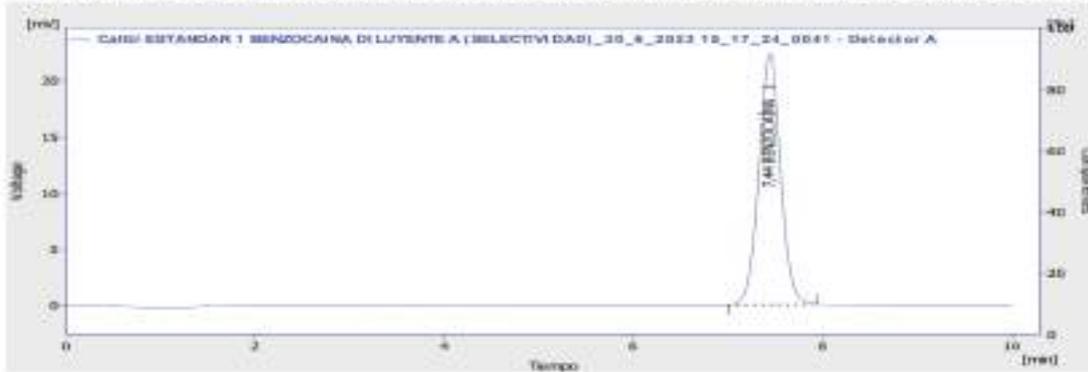
\\PCromatograma C:\Clarity\DataFiles\BUCOSEP TABLETAS\ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)\_30\_8\_2023 (5\_17\_24\_004).prinf 7

\\PCromatograma C:\Clarity\DataFiles\BUCOSEP TABLETAS\ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)\_30\_8\_2023 (5\_17\_24\_004).prinf 2

**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALORACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
ESTANDAR (SELECTIVIDAD)  
DILUYENTE A**

<b>Información del cromatograma</b>		Archivo creado	30/08/2023 15:27:26
Nombre archivo	C:\ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)_30_8_2023	Fecha de adquisición	30/08/2023 15:24:54
Origen	Autogénica, la adquisición fue a través de 30/08/2023 15:21:51	Por	YAJAIRA LAMORA
Original Project	BUCOSEP TABLETAS		
<b>Descripción de la muestra</b>			
Id. de la muestra	ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)		
<b>Método de adquisición</b>			
Descripción	VALIDACION BENZOCAINA - F20 - 27/9/2022 14:00:48	Por	DANIEL LAGUNA
Creación	16/07/2021 13:05:55	Por	TESTISTAS
Modificado	27/09/2022 14:01:40	Por	TESTISTAS
<b>Procedimiento</b>			
Descripción	VALIDACION BENZOCAINA - F20 - 27/9/2022 14:00:48 + INYECTOR CHANGE	Por	DANIEL LAGUNA
Creación	16/07/2021 13:05:55	Por	TESTISTAS
Modificado	27/09/2022 14:01:40	Por	TESTISTAS
Columna	SECURION SPHER 400 80 0 5 Linn	Integración	3000.exe
Fase móvil	ACN/AQUA/SOLUCION ANO ETILGLICOLINA (25/70/25)	Temperatura	25°C
Flujo	1.5 ml/min	Presión	3000 PSI
Modo			
Formato automático	10.00 min	Inicio automático	5000 mbar, 30seg
Cromatograma auto	(Ninguno)	Almuerzo	Sin cambios

\\PCromatograma C:\Clarity\DataFiles\BUCOSEP TABLETAS\ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)\_30\_8\_2023 (5\_17\_24\_004).prinf 7





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**PLACEBO CARGADO (SELECTIVIDAD)**  
**(DILUYENTE A)**

---

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo:	BUCOPLACERO CARGADO (BENZO + CLORURO) (DILUYENTE A)\SELECTIVIDAD\30_6_2023\35_39_04\04120	Archivo creado:	30/6/2023 12:48:39
Origen:	Adquisición, la adquisición ha comenzado 30/6/2023 10:40:36	Fecha de adquisición:	30/6/2023 10:53:36
Original Project:	BUCOSEP TABLETAS	Por:	TAMARA LAYDA

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra:	ESTANDAR 5 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)		
Muestra:			

**Método de adquisición:**

Validación:	VALIDACIÓN BENZOCAINA - F20 - 27/6/2023 14:01:48		
Descripción:	VALIDACIÓN BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2023 13:05:52	Por:	TESTAS
Modificado:	27/6/2023 14:01:48	Por:	TESTAS

**Processing Method:**

Validación:	VALIDACIÓN BENZOCAINA - F20 - 27/6/2023 14:01:48 - manual changes		
Descripción:	VALIDACIÓN BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2023 13:05:52	Por:	TESTAS
Modificado:	27/6/2023 14:01:48	Por:	TESTAS

**Columna:** UICHRONHER 100SP-B 5 um

**Fase móvil:** ACN AGUA (SOLUCION AMORTIGUADORA (25:75:0))

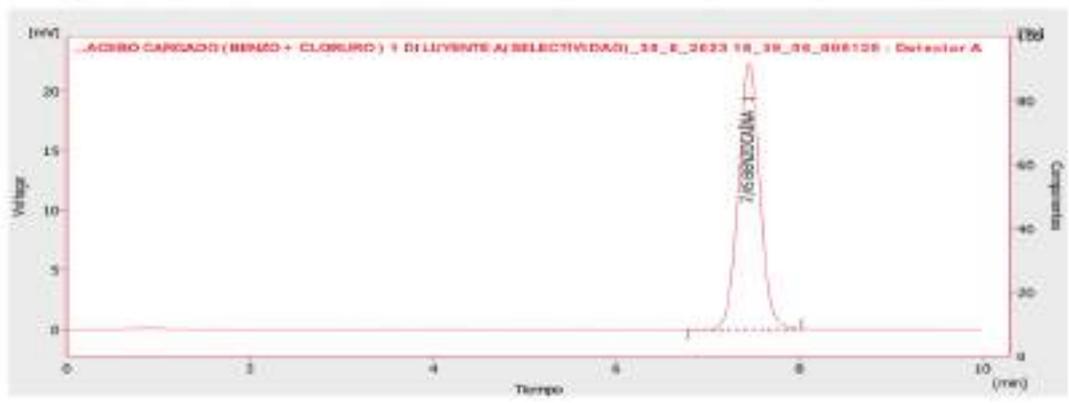
**Flujo:** 1.5 mL/min

**Método:** UICHRONHER 100SP-B 5 um

**Presión:** 300 PSI

**Velocidad automática:** 15.00 mm

**Inicio externo:** 500 mm, Bucle





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS (PLACEBO)**  
**SELECTIVIDAD**  
**DILUYENTE A**

---

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo:	BUCOPLACERO (DILUYENTE A)\SELECTIVIDAD\30_6_2023\35_41_38\04120	Archivo creado:	30/6/2023 20:53:38
Origen:	Adquisición, la adquisición ha comenzado 30/6/2023 20:43:08	Fecha de adquisición:	30/6/2023 20:53:38
Original Project:	BUCOSEP TABLETAS	Por:	TAMARA LAYDA

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra:	PLACEBO (DILUYENTE A)\SELECTIVIDAD		
Muestra:			

**Método de adquisición:**

Validación:	VALIDACIÓN BENZOCAINA - F20 - 27/6/2023 14:01:48		
Descripción:	VALIDACIÓN BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2023 13:05:52	Por:	TESTAS
Modificado:	27/6/2023 14:01:48	Por:	TESTAS

**Processing Method:**

Validación:	VALIDACIÓN BENZOCAINA - F20 - 27/6/2023 14:01:48 - manual changes		
Descripción:	VALIDACIÓN BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2023 13:05:52	Por:	TESTAS
Modificado:	27/6/2023 14:01:48	Por:	TESTAS

**Columna:** UICHRONHER 100SP-B 5 um

**Fase móvil:** ACN AGUA (SOLUCION AMORTIGUADORA (25:75:0))

**Flujo:** 1.5 mL/min

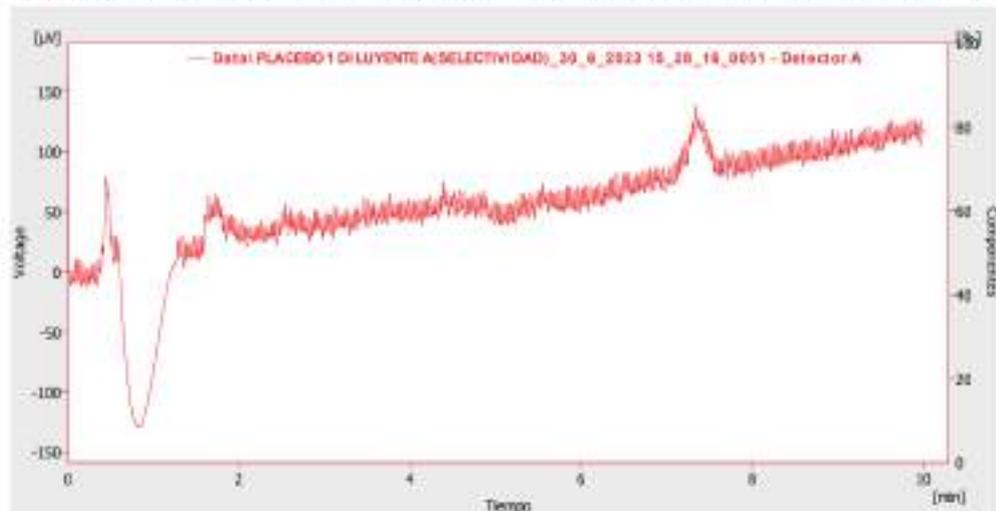
**Método:** UICHRONHER 100SP-B 5 um

**Presión:** 300 PSI

**Velocidad automática:** 15.00 mm

**Inicio externo:** 500 mm, Bucle

**Almacenamiento:** 30 - Bucle



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEPT TABLETAS**  
**SELECTIVIDAD**  
**ESTANDAR CLORURO DE CETILPIRIDINIO DILUYENTE A**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: C:\abi\ESTANDAR 5 CLORURO DE CETILPIRIDINIO DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)_30_6_2023 16_27_58_000	Archivo creado	: 30/6/2023 16:48:02
Origen	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 30/6/2023 16:27:58	Fecha de adquisición	: 30/6/2023 16:47:58
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: RAJAJA LANDA

**Descripción de la muestra:**

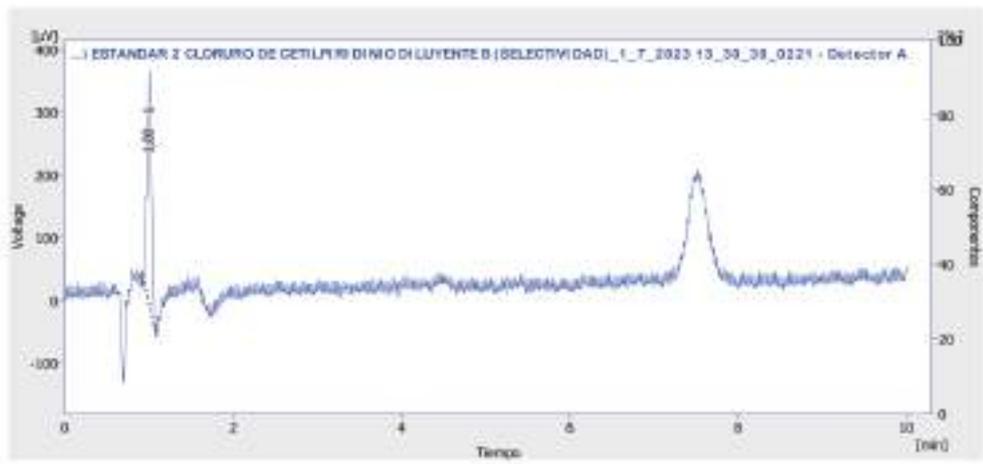
Id. de la muestra : ESTANDAR 5 CLORURO DE CETILPIRIDINIO DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)  
 Muestra :

Método de adquisición	: VALIDACION BENZOCAINA - #28 - 27/6/2023 14:00:46		
Descripción	: VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2023 13:05:02	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 27/6/2023 14:01:46	Por	: TESISITAS

Procesado Method	: VALIDACION BENZOCAINA - #28 - 27/6/2023 14:00:46 + manual changes		
Descripción	: VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2023 13:05:02	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 27/6/2023 14:01:46	Por	: TESISITAS

Columna	: LICHROSPHER 200 RP-8 5 um	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: ACN AGUA (SOLUCION AMORTIGUADA) (25:75:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 300 PSI
Nota	:		

Parado automático	: 15.00 min	Inicio externo	: 5.00 inicio, 8.000
Cromatograma nota	: (Ninguno)	Atenuación	: Sin cambios

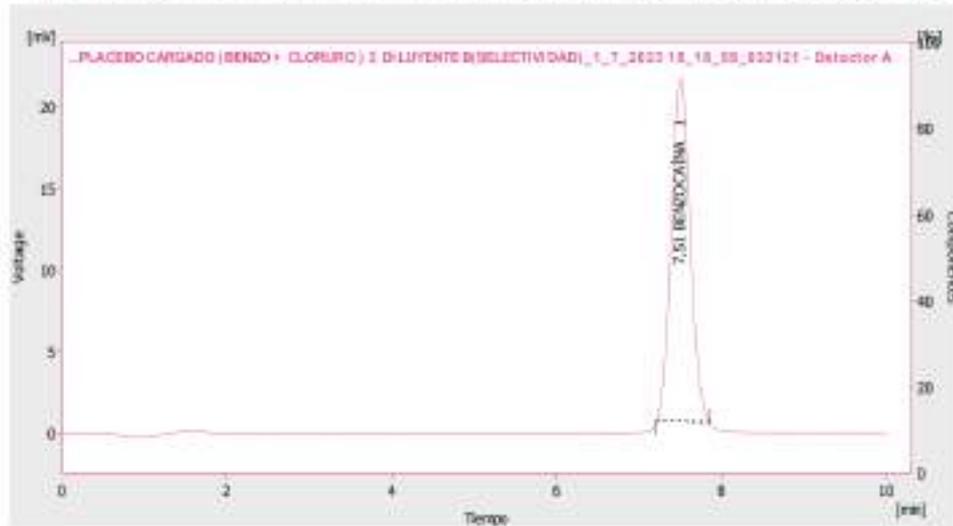






**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
PLACEBO CARGADO  
(DILUYENTE B)  
SELECTIVIDAD**

<b>Información del cromatograma</b>			
Nombre archivo	: Data\PLACEBO CARGADO (BENZO + CLORURO) 1 (DILUYENTE B) (SELECTIVIDAD)_1_7_2023 18_36_55.099126	Archivo creado	: 07/2023 18:46:57
Origen	: Adquisición. La adquisición ha comenzado 07/2023 18:36:55	Fecha de adquisición	: 07/2023 18:46:56
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: YAMARA GANDA
<b>Descripción de la muestra</b>			
Id. de la muestra	: PLACEBO CARGADO (BENZO + CLORURO) 1 (DILUYENTE B) (SELECTIVIDAD)		
Pluma	:		
Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #20: 27/02/2023 14:01:48		
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2023 13:05:52	Por	: DANIEL LAGIM
Modificado	: 27/02/2023 14:01:48	Por	: TESTETAS
Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #20: 27/02/2023 14:01:48 + manual changes		
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2023 13:05:52	Por	: DANIEL LAGIM
Modificado	: 27/02/2023 14:01:48	Por	: TESTETAS
Columna	: UCHROPHER 180 RP-#5 um	Detección	: 280 nm
Porcentaje móvil	: AGUA AGUA-SOLUCION AMORTIGUADA 0.1M	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 ml/min	Presión	: 300 PSI
Modo	:		
Parada automática	: 15.00 min	Inicio externo	: Solo inicio, Depura
Cromatograma real	: 27/02/2023	Atenuación	: Sin cambios





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**SELECTIVIDAD (PLACEBO)**  
**(DILUYENTE B)**

**Información del cronograma:**

Nombre archivo	: BUCOPLACEBO (DILUYENTE B)\SELECTIVIDAD_1_7_2023_15_08_30_00119	Fecha creado	: 1/7/2023 15:18:30
Origen	: Alquilada, la información ha comenzado 1/7/2023 15:20:00	Fecha de actualización	: 1/7/2023 15:18:00
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: YANISMA LARREA

**Descripción de la muestra:**

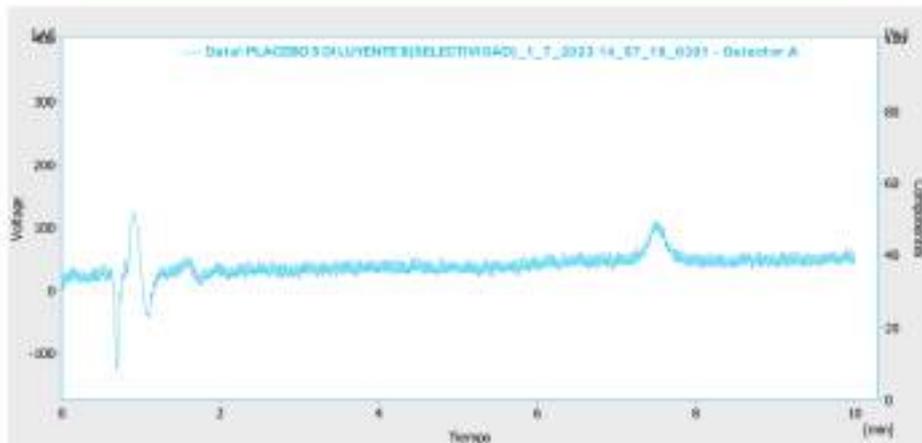
Id. de la muestra  
 Nombre  
 : PLACEBO (DILUYENTE B)\SELECTIVIDAD)

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #30 - 20/9/2023 14:02:46		
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por	: DANIEL LAGUNA
Creado	: 16/7/2023 13:05:00	Por	: TOSSETAS
Modificado	: 22/6/2023 14:01:48	Por	: TOSSETAS

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #30 - 20/9/2023 14:02:46 + manual changes
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA
Creado	: 16/7/2023 13:05:00
Modificado	: 22/6/2023 14:01:48

Columna	: LICROSPHIDR 100 RP-E 5 um	Detector	: 280 nm
Fase móvil	: ACACIOLINA/SOLUCION AMORTIGUADORA (20:78:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Modo	:		

Parámetro automático	: 15.00 min	Inicio externo	: Solo inicio, Bujada
Criterio de parada	: (Porcentaje)	Almuerzo	: Sin almuerzo



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**SELECTIVIDAD (ESTANDAR B)**  
**(DILUYENTE B)**  
**CLORURO CETILPIRIDINIO**

**Información del cronograma:**

Nombre archivo	: BUCOESTANDAR B CLORURO DE CETILPIRIDINIO (DILUYENTE B)\SELECTIVIDAD_1_7_2023_14_11_51	Fecha creado	: 1/7/2023 14:22:54
Origen	: Alquilada, la información ha comenzado 1/7/2023 14:13:51	Fecha de actualización	: 1/7/2023 14:22:54
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: YANISMA LARREA

**Descripción de la muestra:**

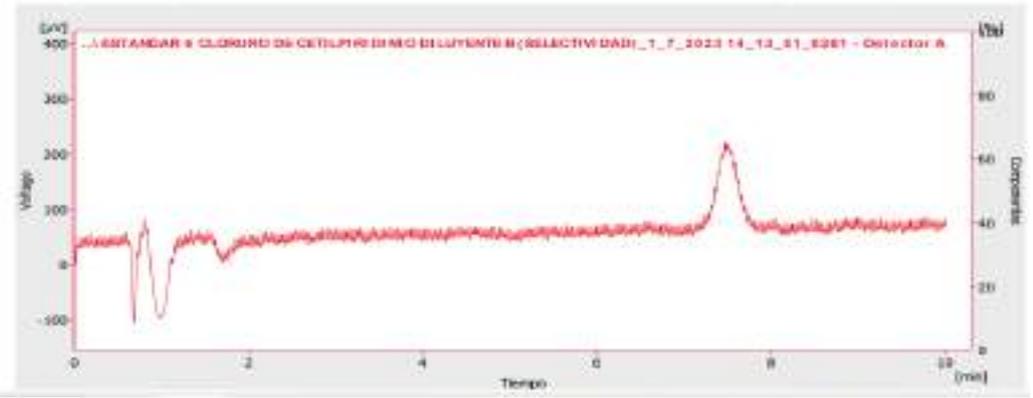
Id. de la muestra  
 Nombre  
 : ESTANDAR B CLORURO DE CETILPIRIDINIO (DILUYENTE B)\SELECTIVIDAD)

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #30 - 20/9/2023 14:01:46		
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA	Por	: DANIEL LAGUNA
Creado	: 16/7/2023 13:05:00	Por	: TOSSETAS
Modificado	: 22/6/2023 14:01:48	Por	: TOSSETAS

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #30 - 20/9/2023 14:01:46 + manual changes
Descripción	: VALORACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA
Creado	: 16/7/2023 13:05:00
Modificado	: 22/6/2023 14:01:48

Columna	: LICROSPHIDR 100 RP-E 5 um	Detector	: 280 nm
Fase móvil	: ACN/AGUA/SOLUCION AMORTIGUADORA (20:70:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Modo	:		

Parámetro automático	: 15.00 min	Inicio externo	: Solo inicio, Bujada
Criterio de parada	: (Porcentaje)	Almuerzo	: Sin almuerzo



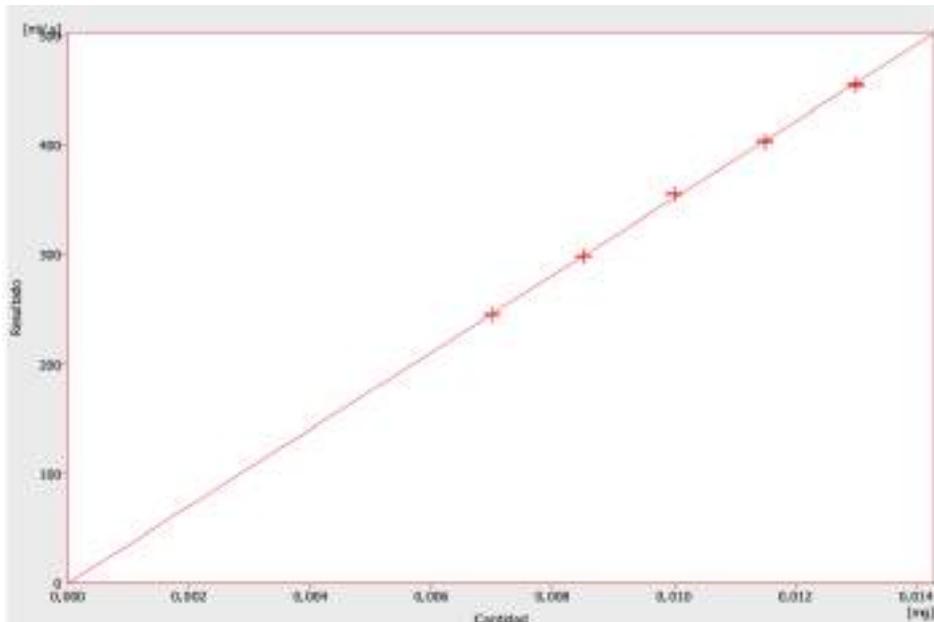
**ANEXO C: RECTAS DE REGRESIÓN DEL ANÁLISIS DEL PARÁMETRO LINEALIDAD  
BENZOCAÍNA DILUYENTE A**

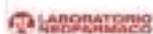
**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR NEOFÁRMACO CIA. LTDA.**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEPT TABLETAS**  
**LINEALIDAD DEL SISTEMA**  
**DILUYENTE A**

BENZOCAÍNA DILUYENTE A - Nivel 1 - 7,48 mg

- Tipo de pílo :  Orde
- Margen de izquierda :  Añ
- Margen izquierdo :  0,200 mm
- Margen derecho :  0,200 mm
- Selección de pílo :  Múltiples
- Crítica de pílo :  Añ
- Es ISTD :  None
- Use Sol.14 :  Ninguna
- Tipo de ajuste de la curva :  Lineal
- Origen :  Curva por el origen
- Método de ponderación :  Ninguna
- Aproximación lineal X :  Ninguna
- Aproximación lineal Y :  Ninguna
- Factor de corrección :  1,0000
- Calcular según :
- Coefficiente de correlación :  0,999936
- Residuo :  3,0000 [mV.c]
- Residuo :   $y = 3082,50209 \cdot x$

	Resultado	Cantidad	Factor corr.	Nº rep.	Estado
1	244,6796	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
2	244,6900	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
3	245,3463	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
4	257,6406	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
5	258,5150	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
6	258,5150	0,0020	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
7	263,1380	0,0100	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
8	264,0548	0,0100	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
9	265,1380	0,0100	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
10	404,2660	0,0143	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
11	405,4633	0,0143	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
12	405,6833	0,0143	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
13	455,5918	0,0130	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
14	457,1648	0,0130	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
15	454,4070	0,0130	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
16	0,0000	0,0000	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
17	0,0000	0,0000	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
18	0,0000	0,0000	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
19	0,0000	0,0000	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
20	0,0000	0,0000	0,0000	1/1	<input type="checkbox"/>
21	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>



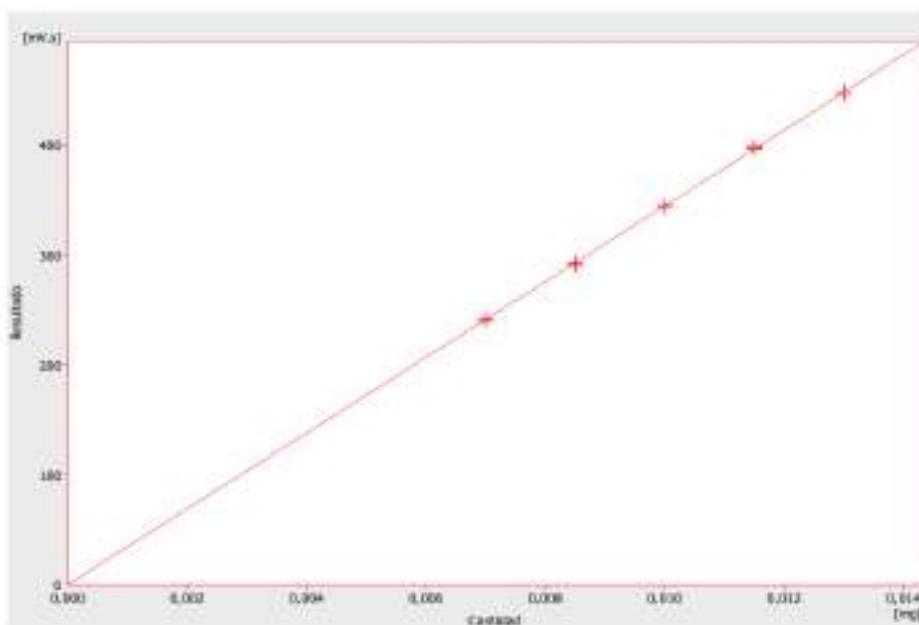


LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR NEOFÁRMACO CIA. LTDA.  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEPT TABLETAS (PLACEBO CARGADO)  
LINEALIDAD DEL METODO  
DILUYENTE A

02/02/2025 - 08:08:11 - 1,341 780

Tipo de pico : Orden  
Margen de búsqueda : Abs  
Margen izquierdo : 0,200 min  
Margen derecha : 0,200 min  
Selección de pico : Más cercano  
Criterio de cálculo : Área  
Es ISFD : None  
Uso Est. Inv : Ninguno  
Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
Origen : Curva pasa por origen  
Método de ponderación : Ninguno  
Aproximación lineal X : Ninguno  
Aproximación lineal Y : Ninguno  
Factor de corrección : 1,0000  
Calcular según :  
Coeficiente de correlación : 0,999940  
Residuo : 1,18414 [mV.u]  
Ecuación :  $Y = 3483,6789 * X$

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rec.	Usado
1	240,4040	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	241,0559	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	241,3953	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	260,3365	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	252,3509	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	290,8038	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	342,3119	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	344,9889	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
9	344,9121	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
10	390,5427	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	396,8725	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
12	396,2012	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
13	448,8997	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
14	446,6330	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
15	448,7357	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
17	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
18	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
19	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
20	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
21	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>



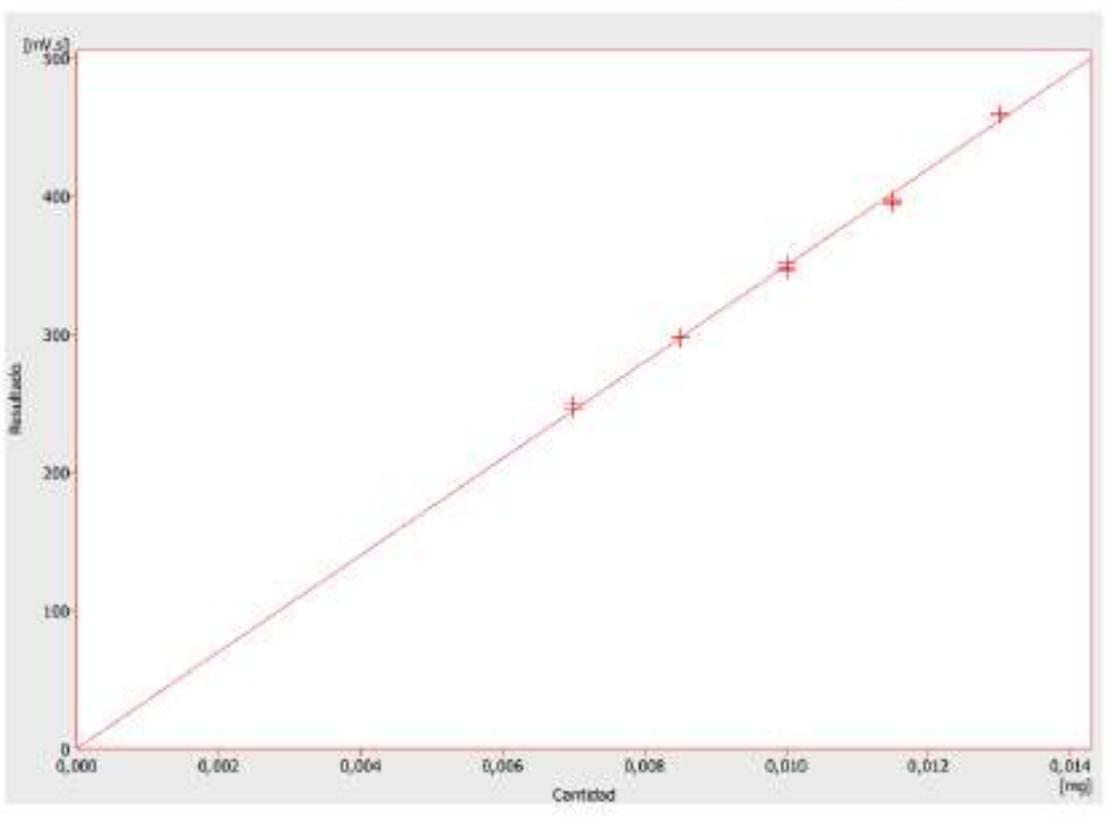
**ANEXO D: RECTAS DE REGRESIÓN DEL ANÁLISIS DEL PARÁMETRO LINEALIDAD  
BENZOCAÍNA DILUYENTE B**

**LABORATORIO NEOFARMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
LINEALIDAD DEL SISTEMA (ESTANDAR)  
(DILUYENTE B)**



Tipo de pico : Orden  
 Margen de búsqueda : Aba  
 Margen izquierdo : 0,200 min  
 Margen derecho : 0,200 min  
 Selección de pico : Más cercano  
 Criterio de cálculo : Área  
 Et. ISTD : None  
 User Est. Int. : Ninguno  
 Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
 Origen : Curva pasa por origen  
 Método de ponderación : Ninguna  
 Aproximación lineal X : Ninguna  
 Aproximación lineal Y : Ninguna  
 Factor de corrección : 1,000  
 Calcular según :  
 Coeficiente de correlación : 0,9994100  
 Residuo : 3,78676 [mV.s]  
 Ecuación :  $Y = 34870,59907 * X$

	Resultado	Conc. (mg)	Factor rep.	NP rec.	Usado
1	248,8228	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	248,8213	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	245,8089	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	297,4683	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	297,5848	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	297,5289	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	351,2767	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	347,7517	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
9	346,3063	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
10	397,2303	0,0125	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	396,7058	0,0125	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
12	394,4302	0,0125	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
13	459,3227	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
14	459,3093	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
15	459,3638	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
17	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
18	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
19	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
20	0,0000	0,0000	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>
BL	0,0000	Blanco	0,0000	0/0	<input type="checkbox"/>



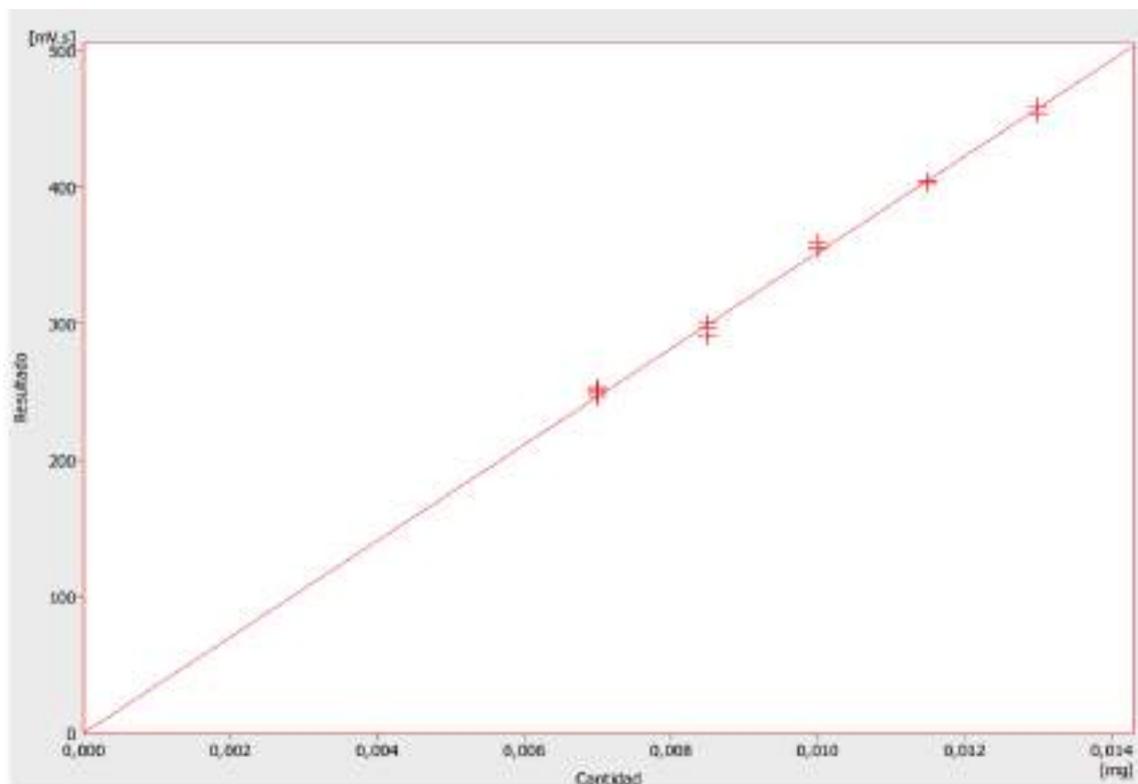


LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR NEOFÁRMACO CIA. LTDA.  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCEOSEPT TABLETAS  
LINEALIDAD DEL METODO (PLACEBO CARGADO)  
DILUYENTE B

BENZOCAPRA - Señal 1 - 7,525 min

Tipo de pico : Orden  
Margen de búsqueda : Abs  
Margen izquierdo : 0,200 min  
Margen derecho : 0,200 min  
Selección de pico : Más cercano  
Criterio de cálculo : Área  
Es ISTD : None  
Usar Est.Int : Ninguno  
Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
Origen : Curva pasa por origen  
Método de ponderación : Ninguna  
Aproximación lineal X : Ninguna  
Aproximación lineal Y : Ninguna  
Factor de corrección : 1,0000  
Calcular según :  
Coeficiente de correlación : 0,999409  
Residuo : 1,89464 [mV.s]  
Ecuación :  $Y = 35203,58715^*X$

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rep.	Usado
1	246,7879	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	252,6304	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	290,5105	0,0070	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	296,5888	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	290,7923	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	300,0036	0,0085	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	355,0978	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	309,3723	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
9	254,5963	0,0100	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
10	403,0991	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	404,5877	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
12	402,9847	0,0115	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
13	454,1741	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
14	450,3064	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
15	453,8239	0,0130	0,0000	1/1	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0,0000	0,0000	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>
17	0,0000	0,0000	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>
18	0,0000	0,0000	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>
19	0,0000	0,0000	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>
20	0,0000	0,0000	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>
21	0,0000	Blanco	0,0000	3/0	<input type="checkbox"/>



## ANEXO E: CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DEL PARÁMETRO PRECISIÓN BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEPT TABLETAS**  
**PRECISIÓN INTERMEDIA ESTANDAR**  
**ANALISTA 1 DIA 1 (DILUYENTE A)**

---

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: D:\NEO\ESTANDAR 1 PRECISIÓN INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 1_1_7_2023_1_25_04_060156	Archivo creado	: 1/7/2023 1:25:06
Origen	: Adquisición, la adquisición ha comenzado 1/7/2023 1:25:04	Fecha de adquisición	: 1/7/2023 1:25:04
Original Project	: BUCOSEPT TABLETAS	Par	: VALADRA LAMON

**Descripción de la muestra:**

Et. de la muestra	: ESTANDAR 1 PRECISIÓN INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 1
Muestra	:

**Método de adquisición:**

: VALIDACIÓN BENZOCAÍNA - #25: 2/7/2023 14:01:48	
Descripción	: VALIDACIÓN BUCOSEPT TABS BENZOCAÍNA
Creado	: 16/7/2023 13:05:02 Por: DANIEL LAGUA
Modificado	: 27/6/2023 14:01:48 Por: TESTISTAS

**Processing Method:**

: VALIDACIÓN BENZOCAÍNA - #25: 2/7/2023 14:01:48 - manual changes	
Descripción	: VALIDACIÓN BUCOSEPT TABS BENZOCAÍNA
Creado	: 16/7/2023 13:05:02 Por: DANIEL LAGUA
Modificado	: 27/6/2023 14:01:48 Por: TESTISTAS

**Columna:** LICHROSPHER 100 RP-8 5 µm      **Detección:** 280 nm

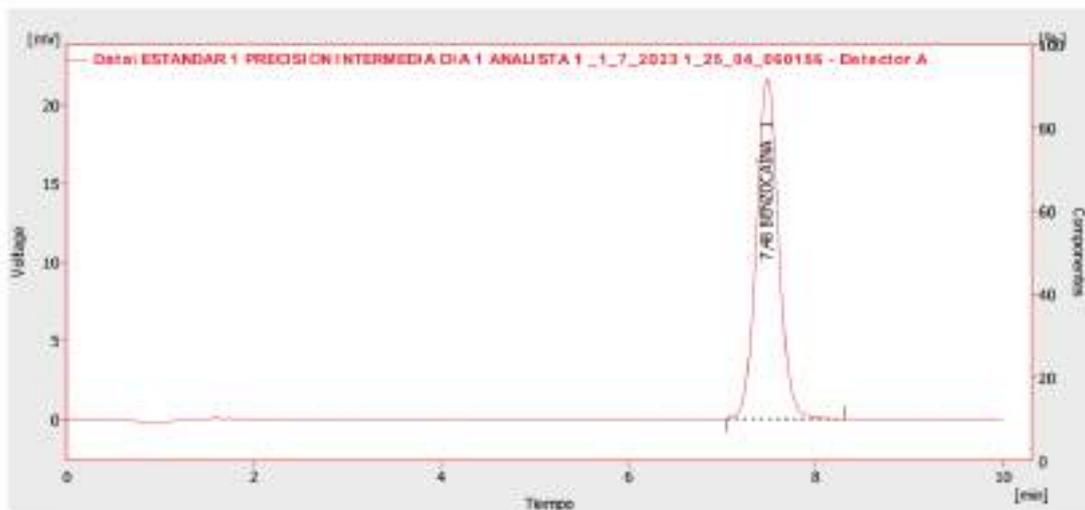
**Fase móvil:** AC 9:90:10 (AC 9:90:10)      **Temperatura:** 25°C

**Flujo:** 1.5 mL/min      **Presión:** 3000 PSI

**RG:**

**Paralelo automático:** 10.00 min      **Inicio método:** Solo inicio, Resado

**Cromatograma real:** (Ninguno)      **Alineación:** Sin cambios





LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEPT TABLETS  
PRECISIÓN INTERMEDIA ESTANDAR  
ANALISTA 2 DIA 1 (DILUYENTE A)

Información del cromatograma:

Nombre archivo	: Data1ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 2_1_7_2023_2_30_06_066164	Archivo creado	: 1/7/2023 2:40:08
Origen	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 1/7/2023 2:30:08	Fecha de adquisición	: 1/7/2023 2:40:07
Original Project	: BUCOSEPT TABLETS	Por	: YAZARA LANDA

Descripción de la muestra:

Id. de la muestra	: ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 2
Muestra	:

Método de adquisición : VALORACION BENZOCAINA - #20 - 27/6/2023 14:01:48

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2023 13:05:02

Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 27/6/2023 14:01:48

Por : TESISTAS

Processing Method : VALORACION BENZOCAINA - #20 - 27/6/2023 14:01:48 + manual changes

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2023 13:05:02

Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 27/6/2023 14:01:48

Por : TESISTAS

Columna : LICHROSPIHER 100 RP-8 5 um

Detección : 280 nm

Fase móvil : ACN:AGUA:ISOLUCION AMORTIGUADORA (25:75:5)

Temperatura : 25°C

Flujo : 1.5 mL/min

Presión : 3000 PSI

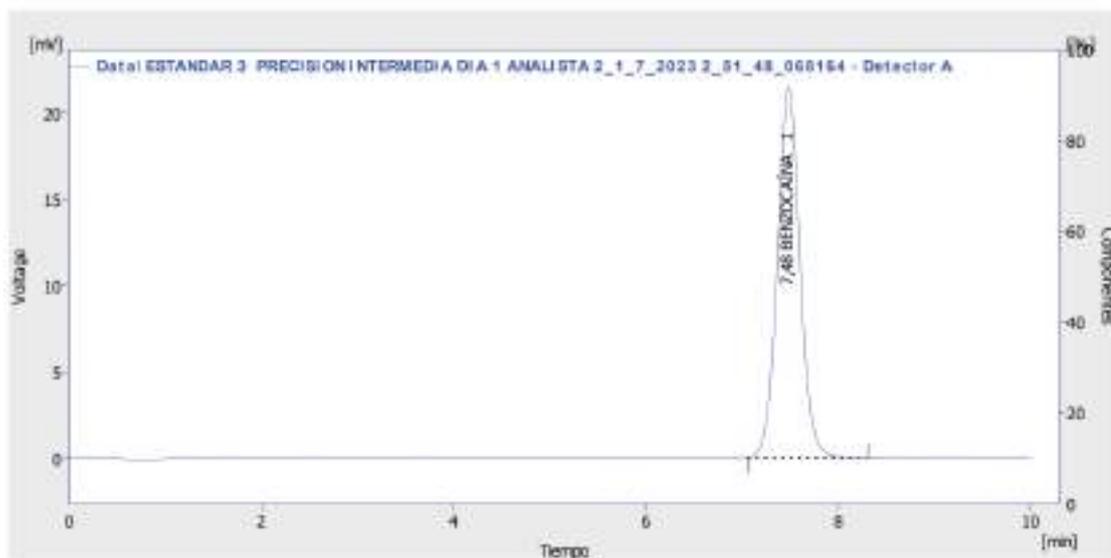
Note :

Parado automático : 30:00 min

Inicio externo : Sólo inicio, Sejale

Cromatograma restó : (Ninguno)

Atenuación : Sin cambios





LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEPT TABLETAS  
PRESICIÓN INTERMEDIA ESTANDAR  
ANALISTA 2 DIA 2 (DILUYENTE A)

Información del cromatograma:

Nombre archivo	: CROMESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 2 DILUYENTE A_3_7_2023 16_14_01_009108	Archivo creado	: 3/7/2023 16:24:02
Origen	: Adquisición, la adquisición ha comenzado 3/7/2023 16:14:00	Fecha de adquisición	: 3/7/2023 16:24:01
Original Project	: BUCOSEPT TABLETAS	Por	: YALAIIRA LANDA

Descripción de la muestra:

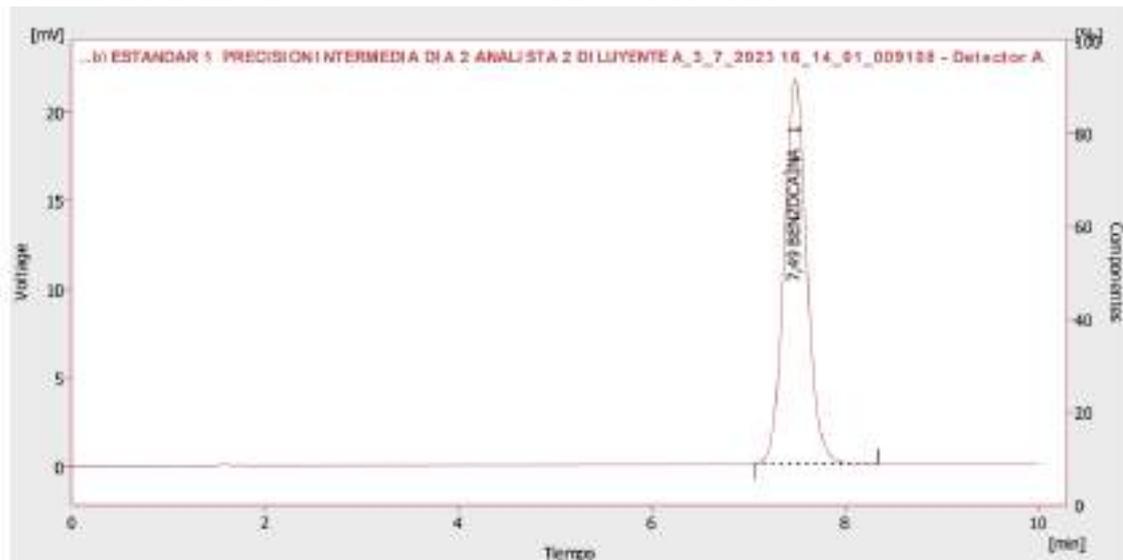
Id. de la muestra	: ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 2 DILUYENTE A
Muestra	:

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #23_ 3/7/2023 13:52:45		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 3/7/2023 13:55:02	Por	: DANIEL LAGUNA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YALAIIRA LANDA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #23_ 3/7/2023 13:52:45 + manual changes		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 3/7/2023 13:55:02	Por	: DANIEL LAGUNA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YALAIIRA LANDA

Columna	: LIChROSPHER 100 RP-8 5 µm	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: ACN:AGUA (SOLUCION AMORTIGUADORA (25:70:5))	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 300 PSI
Modo	:		

Parada automática	: 35.00 min	Inyección externa	: Sólo INEC, Bypass
Cromatograma resto	: (Ninguno)	Atmósfera	: Sin cambios





LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEPT TABLETAS  
PRESICIÓN INTERMEDIA ESTANDAR  
ANALISTA 1 DIA 2 (DILUYENTE A)

Información del cromatograma:

Nombre archivo : CALIBREESTANDAR 6 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 1 DILUYENTE Archivo creado : 11/8/2023 13:25:23  
A\_3\_7\_2023 14\_28\_19\_003102  
Origen : Adquisición, la adquisición ha comenzado 3/7/2023 14:28:19 Fecha de adquisición : 3/7/2023 14:38:29  
Original Project : BUCOSEPT TABLETAS Por : YAJAIRA LANDA

Descripción de la muestra:

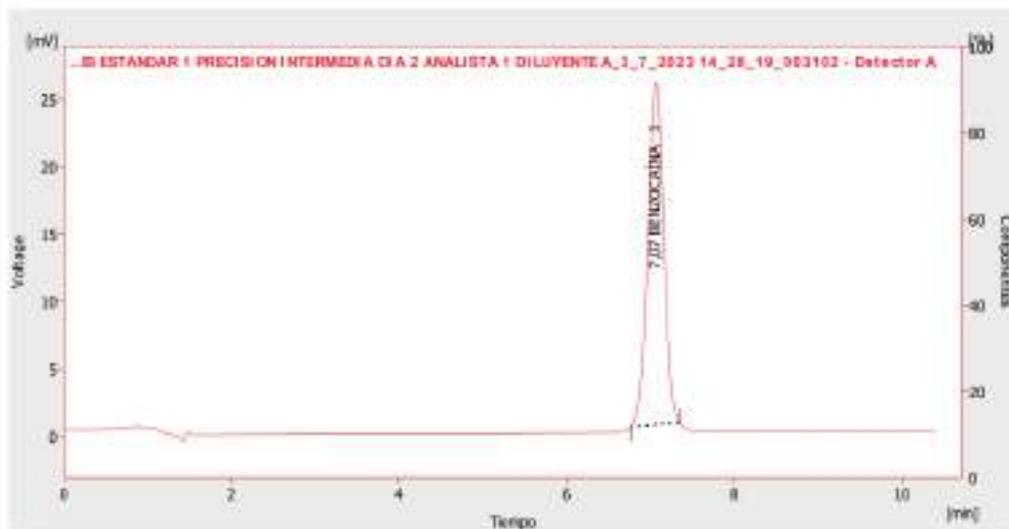
Id. de la muestra : ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 1 DILUYENTE A  
Muestra :

Método de adquisición : VALORACION BENZOCAINA - #21\_ 3/7/2023 13:52:45  
Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
Creado : 30/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
Modificado : 3/7/2023 13:52:52 Por : YAJAIRA LANDA

Processing Method : VALORACION BENZOCAINA - #21\_ 3/7/2023 13:52:45 + manual change  
Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
Creado : 30/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
Modificado : 3/7/2023 13:52:52 Por : YAJAIRA LANDA

Columna : LICHROSHER 100 RP-8 5 um Detección : 200 nm  
Fase móvil : ACN:AGUA: SOLUCION AMORTIGUADORA  
(25:70:5) Temperatura : 25°C  
Flujo : 1.5 mL/min Presión : 3000 PSI  
Nota :

Parámetro automática : 90.00 min Inicio externo : Solo inicio, Bajada



## ANEXO F: CROMATOGRAMAS DEL ANÁLISIS DEL PARÁMETRO PRECISIÓN BENZOCAÍNA EN DILUYENE B



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**PRECISION INTERMEDIA (ESTANDAR)**  
**(DILUYENTE B)**  
**DIA 1 ANALISTA 2**

---

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	ESTANDAR 3 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 2_1_7_2023 2_51_48_068164	Archivo creado	1/7/2023 3:01:48
Origen	Agrupado, la adquisición ha comenzado 1/7/2023 3:01:48	Fecha de adquisición	1/7/2023 3:01:48
Original Project	BUCOSEP TABLETAS	Por	YANIRA LANDÁ

**Descripción de la muestra:**

Muestra: ESTANDAR 3 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 2

**Método de adquisición:** VALORACION BENZOCAINA - #20: 27/6/2023 14:01:48

Descripción: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado	16/7/2021 13:05:02	Por	DAVID LAOLA
Modificado	27/6/2023 14:01:48	Por	TESISTAS

**Processing Method:** VALORACION BENZOCAINA - #20: 27/6/2023 14:01:48 - manual changes

Descripción: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado	16/7/2021 13:05:02	Por	DAVID LAOLA
Modificado	27/6/2023 14:01:48	Por	TESISTAS

**Columna:** LICHPHOSPER 100RP-8 5 um

**Fase móvil:** ACN A 0.01: SOLUCION AMORTIGUADORA (25/70/5)

Flujo	1.5 mL/min	Presión	3000 PSI
Nota			

**Parada automática:** 10.00 min

**Cromatograma modo:** (Ninguno)

Ciclo externo	Sólo inicio, Sejeda
Abricación	En cambios

Detalle ESTANDAR 3 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 2\_1\_7\_2023 2\_51\_48\_068164 - Detector A



LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
PRECISIÓN INTERMEDIA (ESTANDAR)  
(DILUYENTE B)  
DIA 2 ANALISTA 1

Información del cronograma:

Nombre archivo	: C:\B\ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 1 DILUYENTE B_3_7_2023 17_18_03_815114	Archivo creado	: 3/7/2023 17:20:05
Origen	: Adquisición, la adquisición ha comenzado 3/7/2023 17:19:00	Fecha de adquisición	: 3/7/2023 17:20:05
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: YAJARA LANDA

Descripción de la muestra:

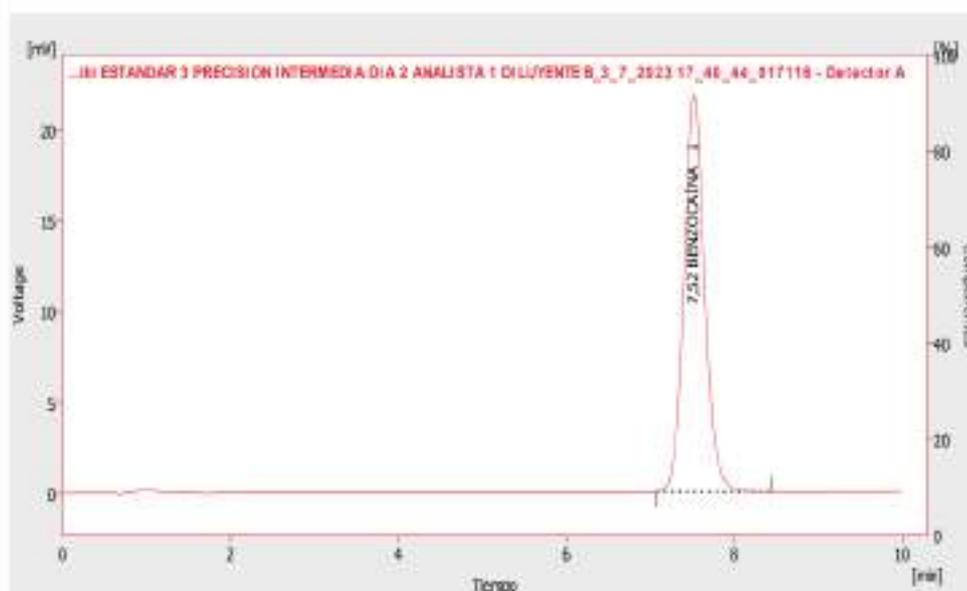
Id. de la muestra	: ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 1 DILUYENTE B
Muestra	:

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #20: 3/7/2023 13:52:45		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2023 13:06:00	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJARA LANDA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #20: 3/7/2023 13:52:45 + manual changes		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2023 13:06:00	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJARA LANDA

Columna	: LICHROSPHER 300 RP-8 5 um	Detección	: 200 nm
Fase móvil	: ACN:AGUA-SALICILON AMORTIGUADORA (25:75:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Nota	:		

Parada automática	: 10,00 min	Inicio externo	: Solo inicio, parada
Cronograma rest	: (Ninguno)	Alivacón	: Sin cambio





LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
PRECISION INTERMEDIA (ESTANDAR)  
(DILUYENTE B)  
DIA 2 ANALISTA 2

Información del cronograma:

Nombre archivo : C:\E\ESTANDAR 3 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 2 DILUYENTE B\_3\_7\_2023 18\_46\_46\_023122 Archivo creado : 3/7/2023 18:55:48  
Origen : Adquirida, la adquisición ha comenzado 3/7/2023 18:46:46 Fecha de adquisición : 3/7/2023 18:55:46  
Original Project : BUCOSEP TABLETAS Ppr : YAJAIRA LANDA

Descripción de la muestra:

Id. de la muestra : ESTANDAR 3 PRECISION INTERMEDIA DIA 2 ANALISTA 2 DILUYENTE B  
Muestra : 1

Método de adquisición : VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 3/7/2023 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 3/7/2023 13:52:45 Por : YAJAIRA LANDA

Processing Method : VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45 + manual change

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 3/7/2023 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 3/7/2023 13:52:45 Por : YAJAIRA LANDA

Columna : LICHROSPHER 200 RP-8 5 um Detección : 280 nm

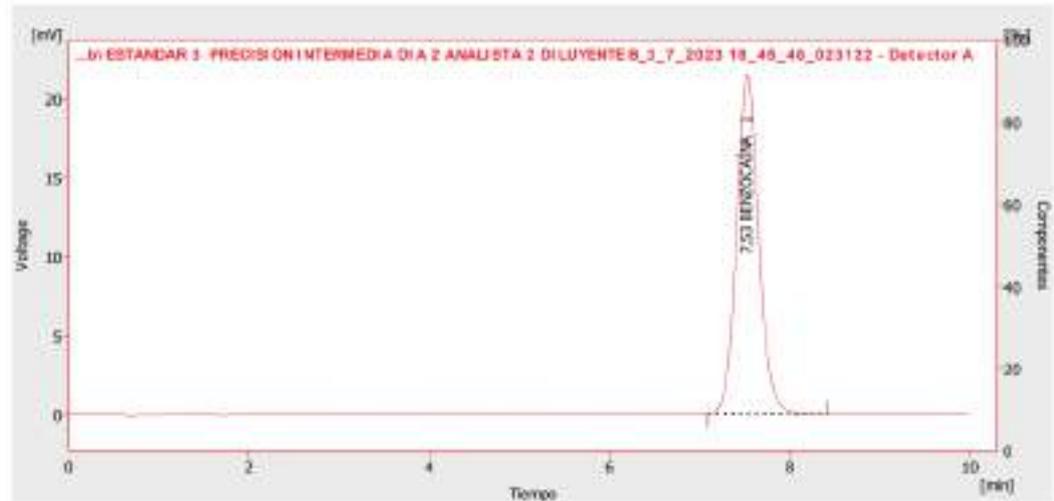
Fase móvil : ACN-AQUA-SOLUCION AMPHOTERCIADONA Temperature : 25°C

Flujo : 1.5 mL/min Presión : 3000 PSI

Nota : 1

Parada automática : 00:00 min Inicio externo : Sólo inicio, Repetir

Cronograma real : (Ninguno) Alteración : Sin cambios



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
PRECISION INTERMEDIA (ESTANDAR)  
(DILUYENTE B)  
DÍA 1 ANALISTA 1**



**Información del cromatograma:**

Nombre archivo : Data\ESTANDAR 4 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 1\_1\_7\_2023\_1\_25\_04\_060156 Archivo creado : 11/6/2023 12:56:17  
 Origen : Adquirida, la adquisición ha comenzado 1/7/2023 1:25:04 Fecha de adquisición : 1/7/2023 1:25:04  
 Original Project : BUCOSEP TABLETAS Par : YAJARA LANCA

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : ESTANDAR 1 PRECISION INTERMEDIA DIA 1 ANALISTA 1  
 Muestra :

Método de adquisición : VALORACION BENZOCAINA - #20 - 27/6/2023 14:01:48

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2023 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 27/6/2023 14:01:48 Por : TESISTAS

Procesamiento Método : VALORACION BENZOCAINA - #20 - 27/6/2023 14:01:48 + manual changes

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2023 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 27/6/2023 14:01:48 Por : TESISTAS

Columna : LICHROSPER 100 RP-8 5 um Detección : 280 nm

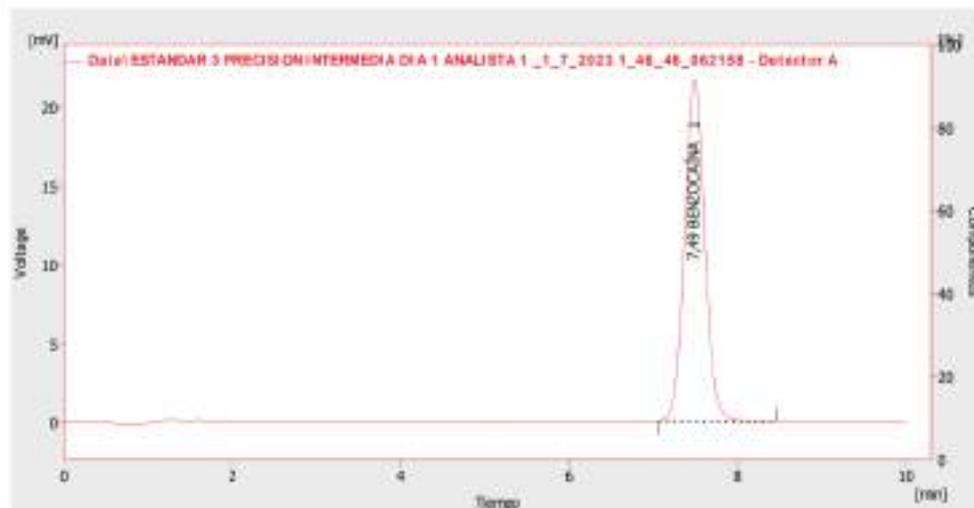
Fase móvil : ACN:AGUA:SOOLUCION AMRETSQUADORA Temperatura : 25°C

Flujo : 1.5 mL/min Presión : 3000 PSI

Nota :

Parada automática : 10.00 min Inicio externo : Sólo inicio, Bajada

Cromatograma resta : (Vigilante) Alineación : Sin cambios



**ANEXO G: CROMATOGRAMAS DE CONDICIONES ÓPTIMAS ESTABLECIDAS EN EL PARÁMETRO ROBUSTEZ BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A**

**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEPT TABLETS  
ROBUSTEZ  
(DILUYENTE A)**



**Información del cromatograma:**

Número archivo	: C:\METODO 9 Ph 2.5 ESTANDAR DILUYENTE A_8_8_2023 15_58_14_004202	Archivo creado	: 8/8/2023 16:08:16
Origen	: Adjudica, la adquisición ha comenzado 8/8/2023 15:58:14	Fecha de adquisición	: 8/8/2023 16:08:14
Original Project	: BUCOSEPT TABLETS	Por	: TESISTAS

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : METODO 9 Ph 2.5 ESTANDAR DILUYENTE A  
Muestra :

**Método de adquisición**

: C:\Clarity\DataFile\BUCOSEPT TABLETS\ROBUSTEZ\VALORACION BENZOCAINARO - #26; 8/8/2023 10:32:12  
 Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 11:29:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 8/8/2023 10:32:12 Por : TESISTAS

**Processing Method**

: C:\Clarity\DataFile\BUCOSEPT TABLETS\ROBUSTEZ\VALORACION BENZOCAINARO - #26; 8/8/2023 10:32:12 + manual changes  
 Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 11:29:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 8/8/2023 10:32:12 Por : TESISTAS

**Columna**

: LICHROSPHER 100 RP-8 5 um Deteción : 290 nm

**Fase móvil**

: ACN:AGUA(SAOLUCION AMORTIGUADORA Temperatura : 25°C

**Flujo**

: 1.3 mL/min Presión : 3000 PSI

**Nota**

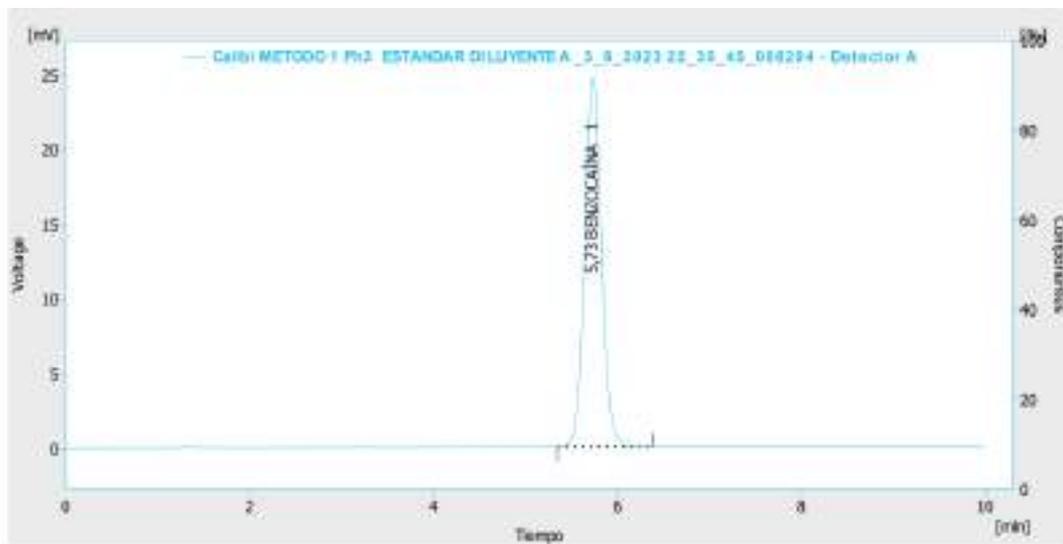
:

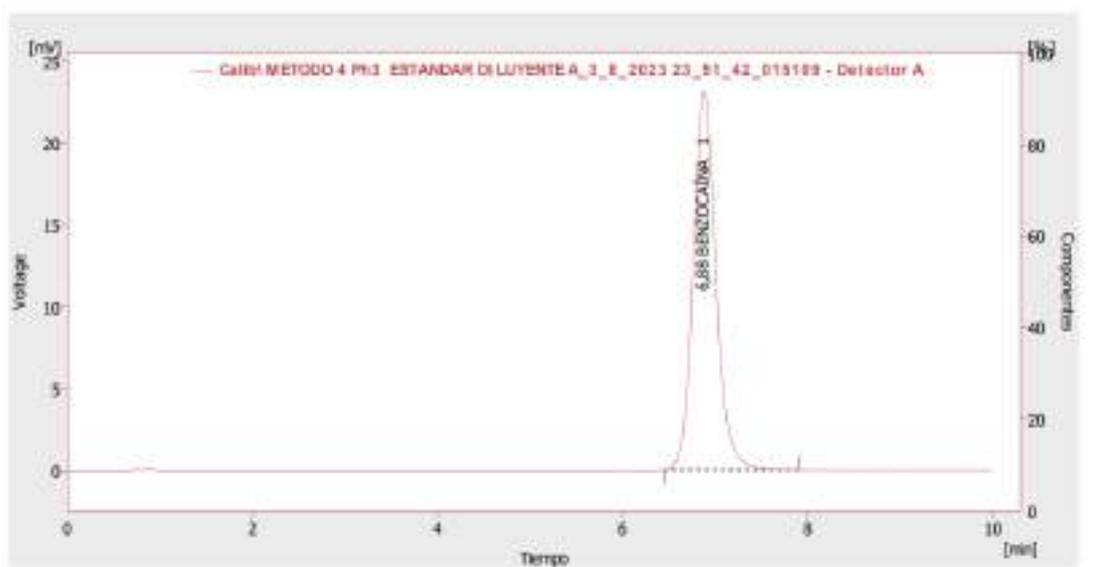
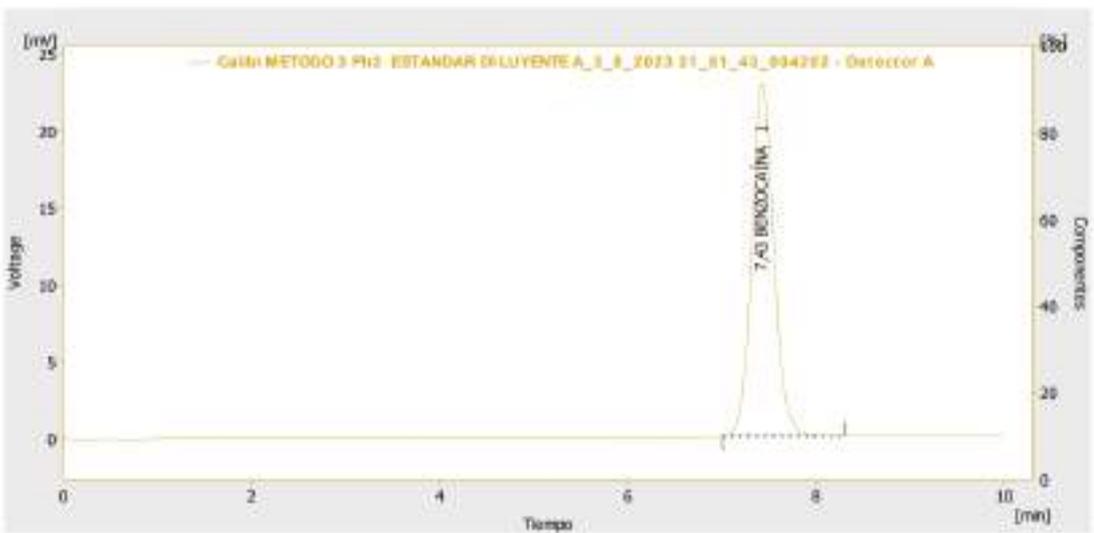
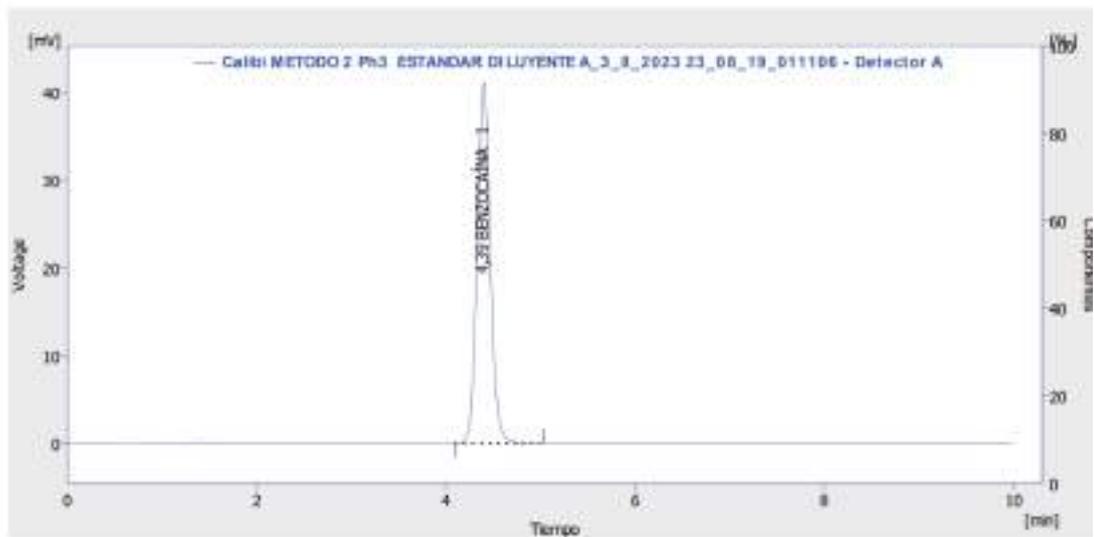
**Parada automática**

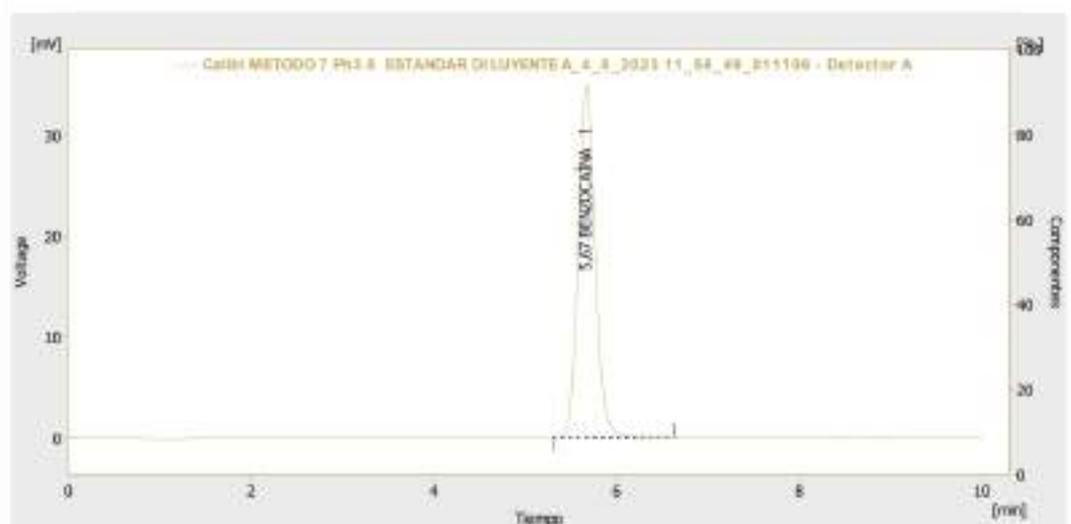
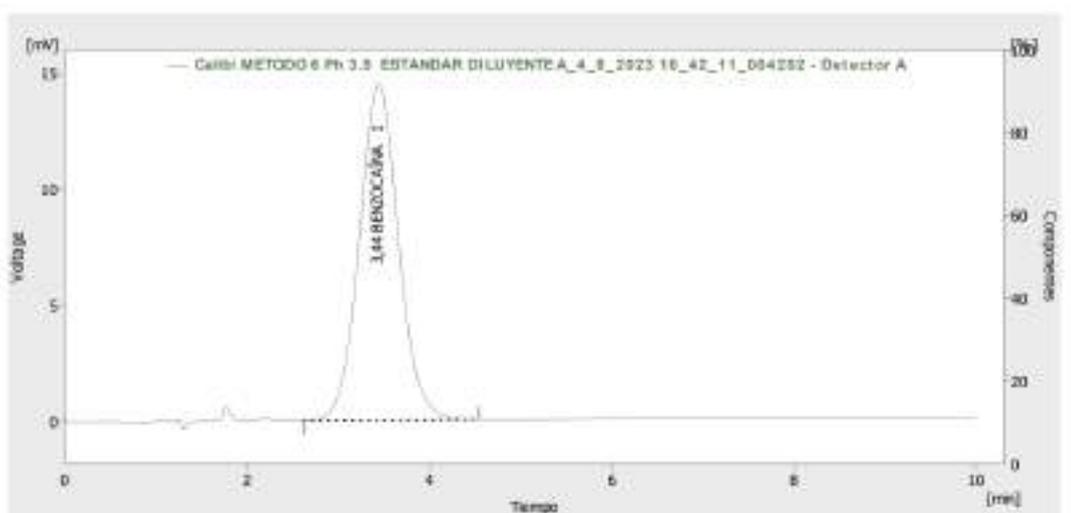
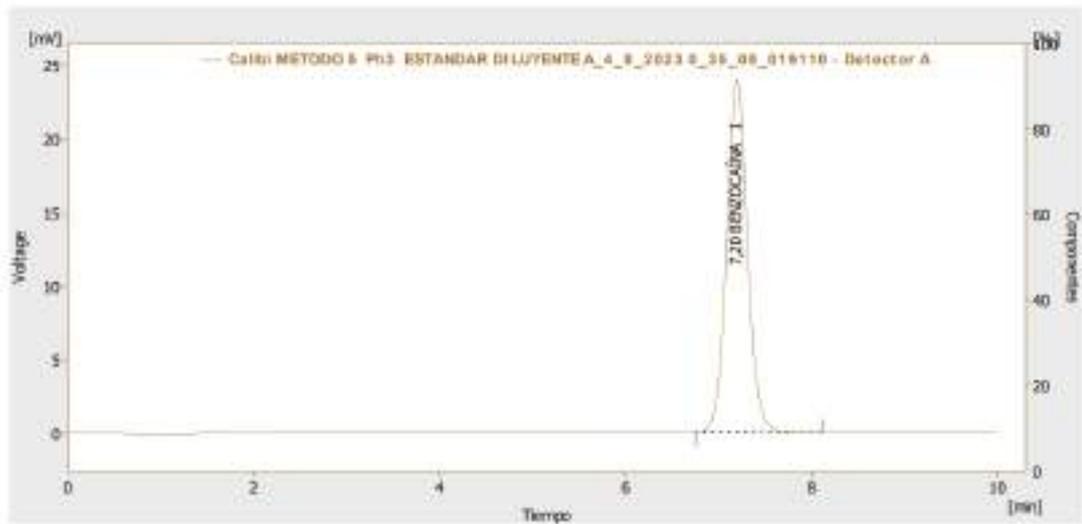
: 10,00 min Inicio externo : Sólo inicio, ligada

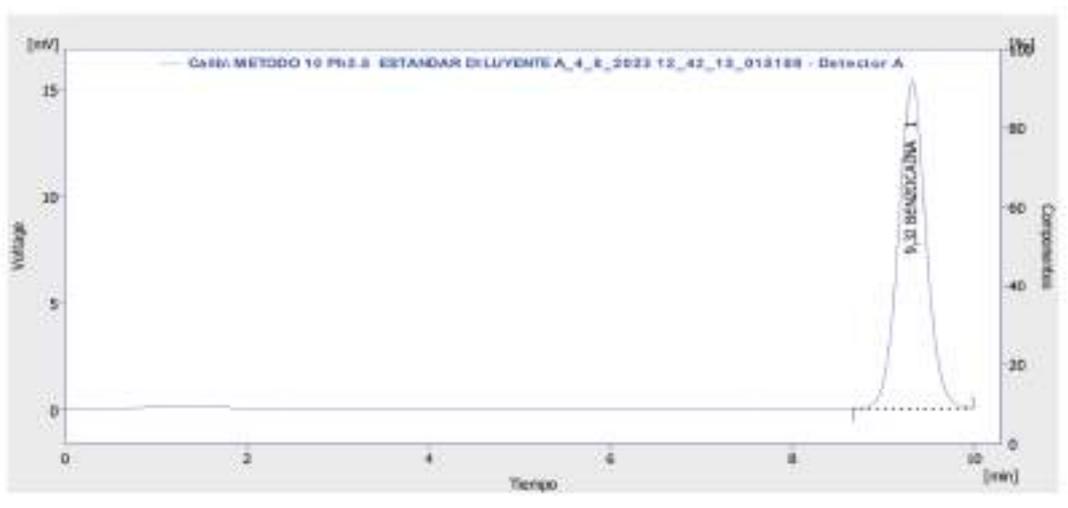
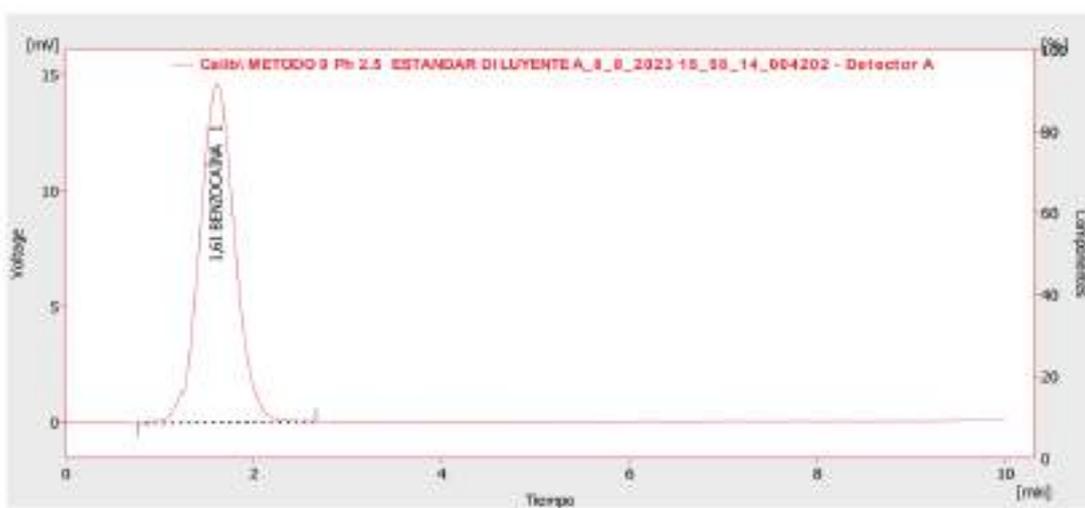
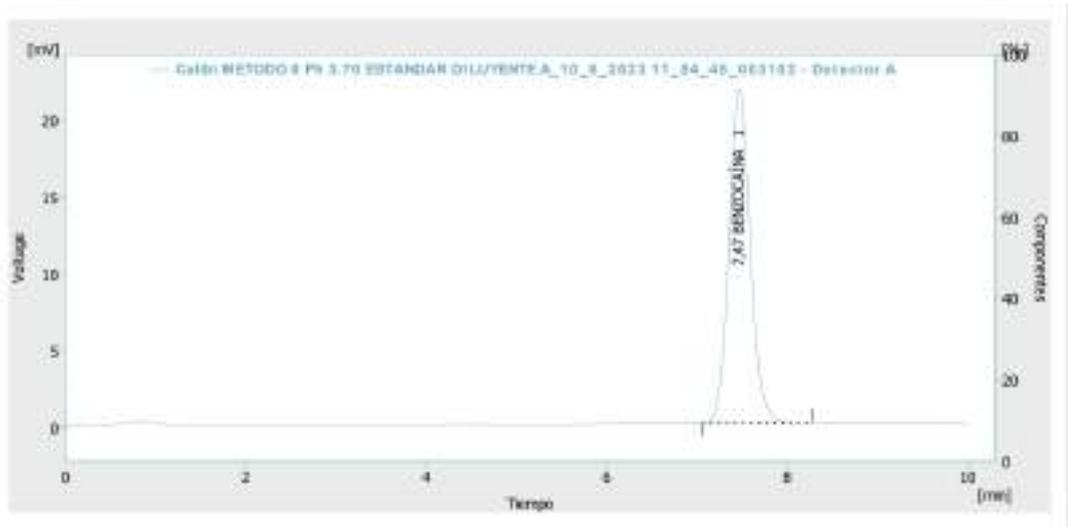
**Cromatograma resta**

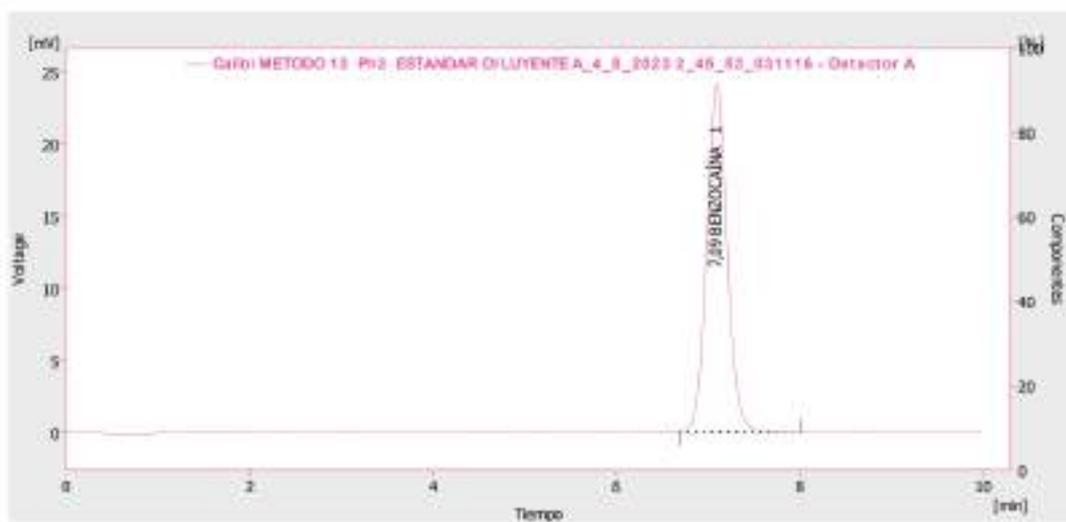
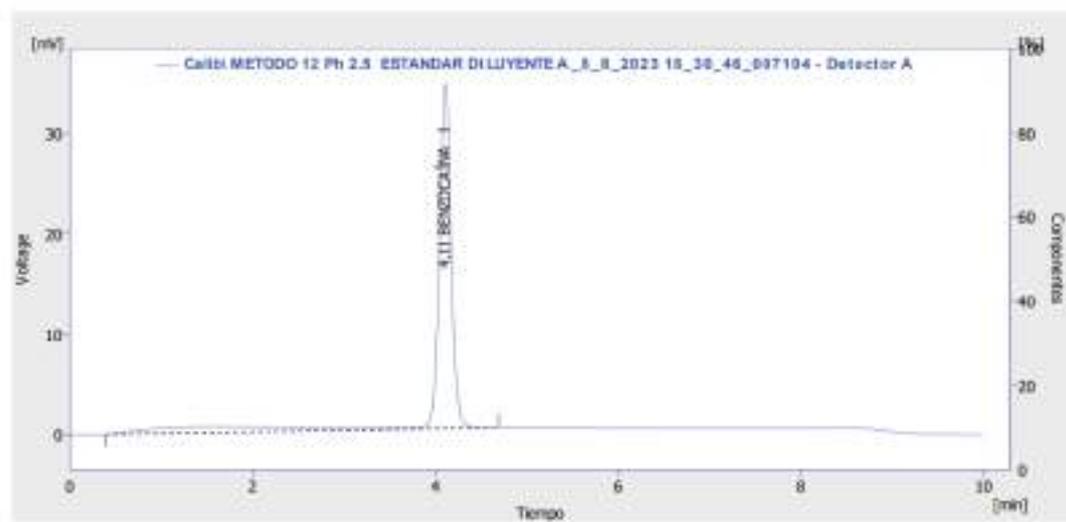
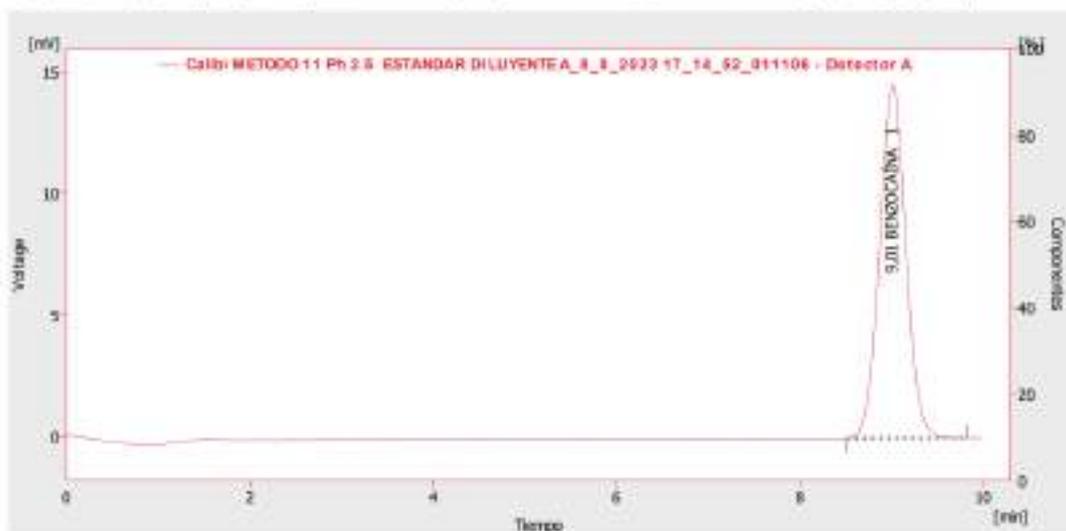
: (Ninguno) Finalización : Sin cambios

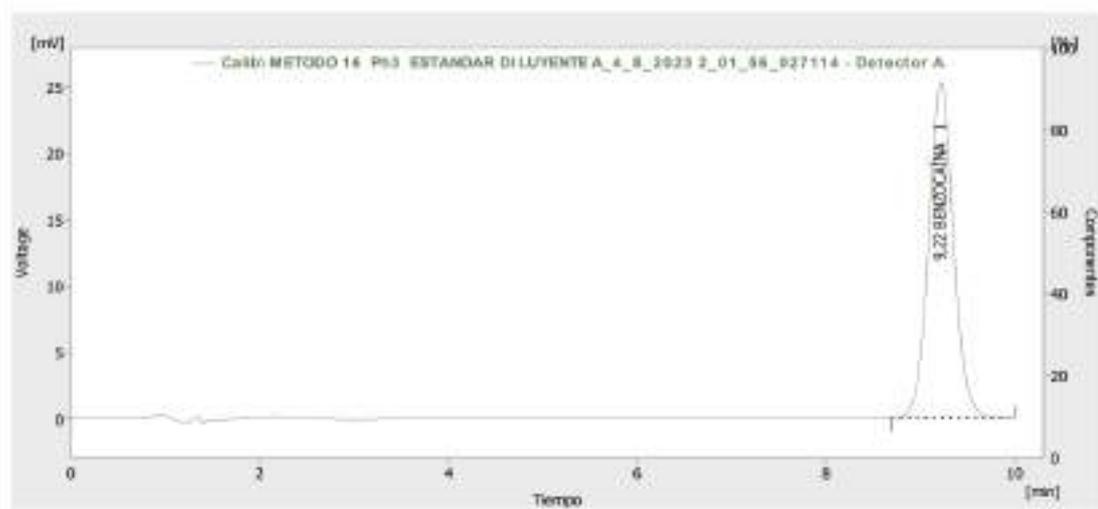
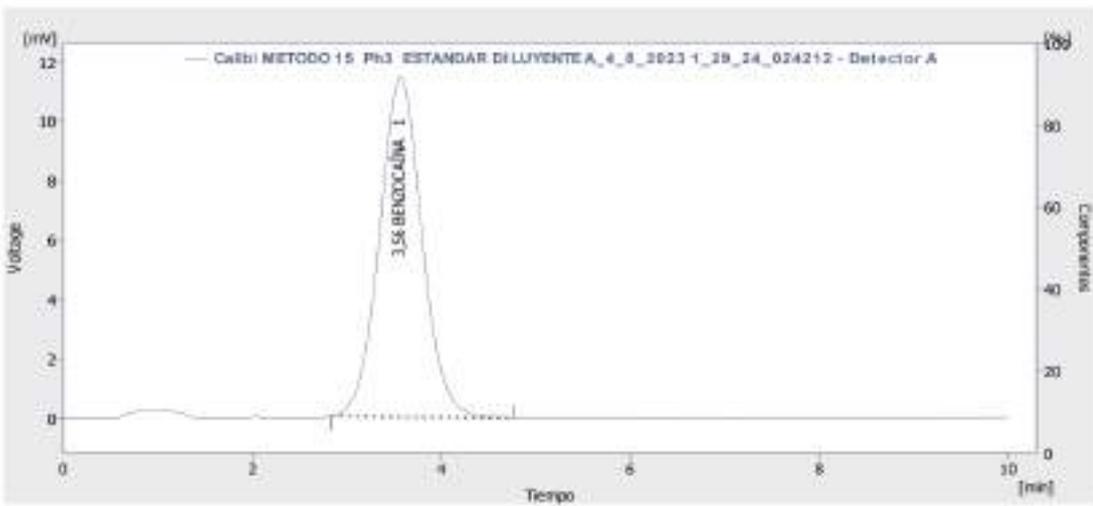
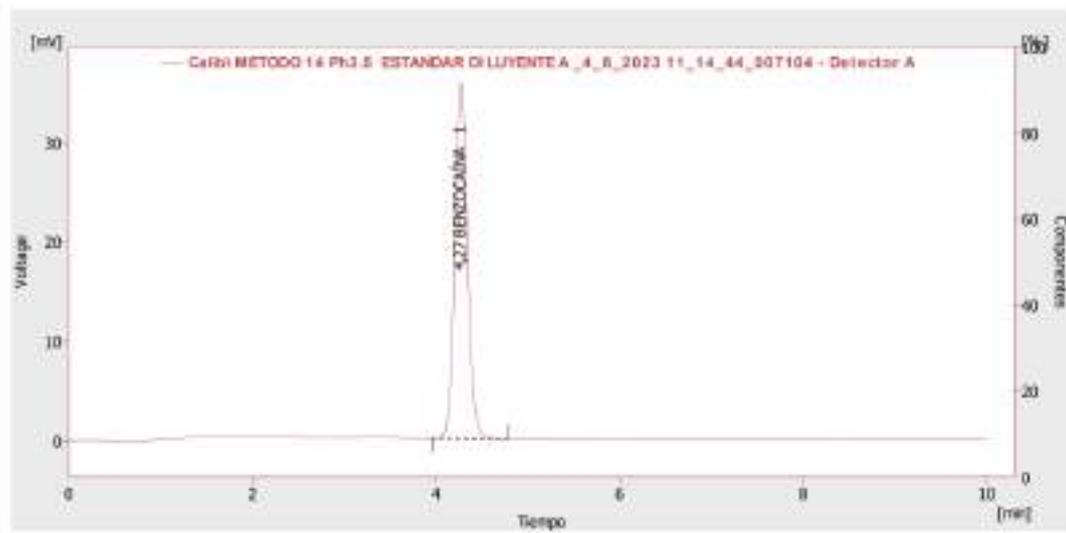


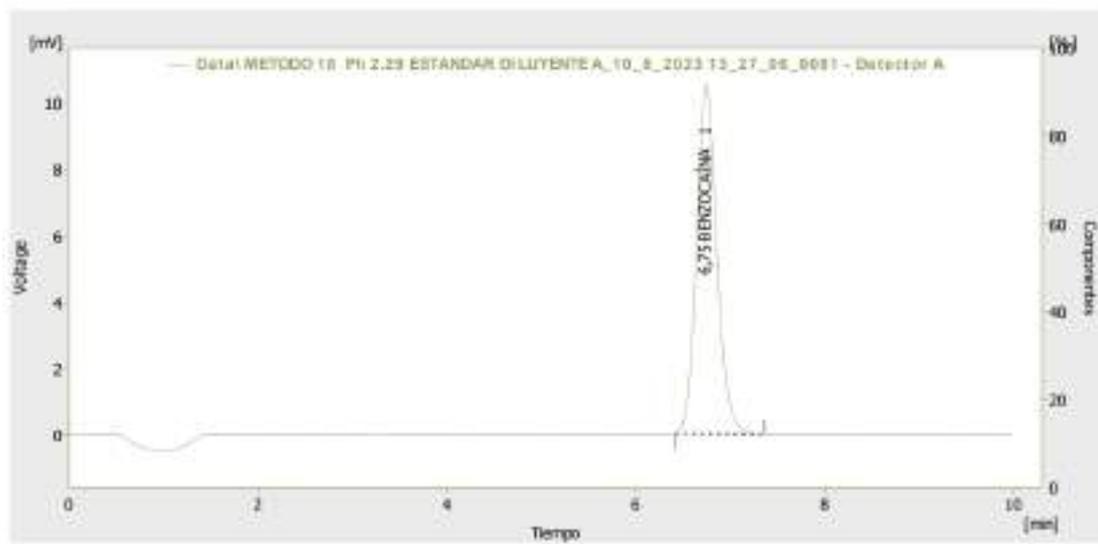
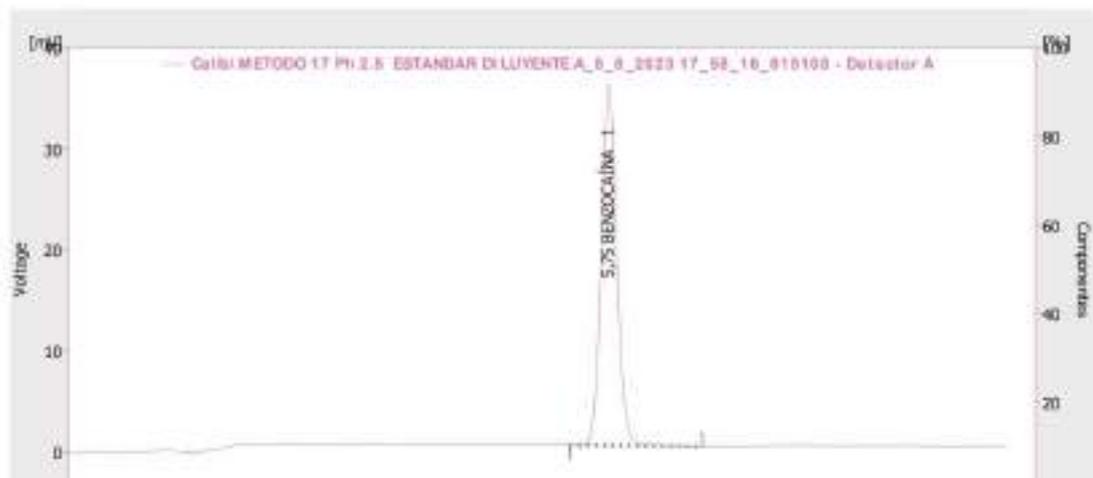












**ANEXO H: CROMATOGRAMAS DE CONDICIONES ÓPTIMAS ESTABLECIDAS EN EL PARÁMETRO ROBUSTEZ BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B**

12/8/2023 Cromatograma C:\Clarity\Datos\BUCOSEP TABLETAS\Calib\METODO 9 Ph 2.5 ESTANDAR DILUYENTE B\_8\_8\_2023\_16\_19\_35\_006201.prm: 1 of 35

**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**ROBUSTEZ**  
**(DILUYENTE B)**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: C:\Clarity\Datos\BUCOSEP TABLETAS\Calib\METODO 9 Ph 2.5 ESTANDAR DILUYENTE B_8_8_2023_16_19_35_006201	Archivo creado	: 8/8/2023 16:29:57
Origen	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 8/8/2023 16:29:55	Fecha de adquisición	: 8/8/2023 16:29:55
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTISTAS

**Descripción de la muestra:**

ID de la muestra : METODO 9 Ph 2.5 ESTANDAR DILUYENTE B  
Muestra :

**Método de adquisición:**

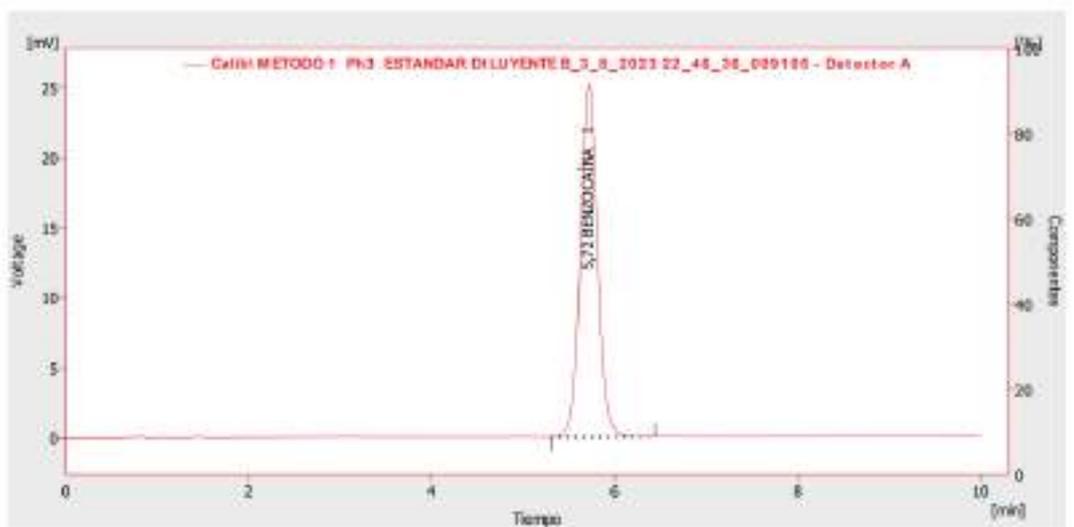
C:\Clarity\Datos\BUCOSEP TABLETAS\ROBUSTEZ\VALIDACION BENZOCAINA.R9 - #26; 8/8/2023 10:32:12  
Descripción : VALIDACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA  
Creado : 18/7/2021 13:25:02 Por : DANIEL LAGUA  
Modificado : 8/8/2023 30:32:12 Por : TESTISTAS

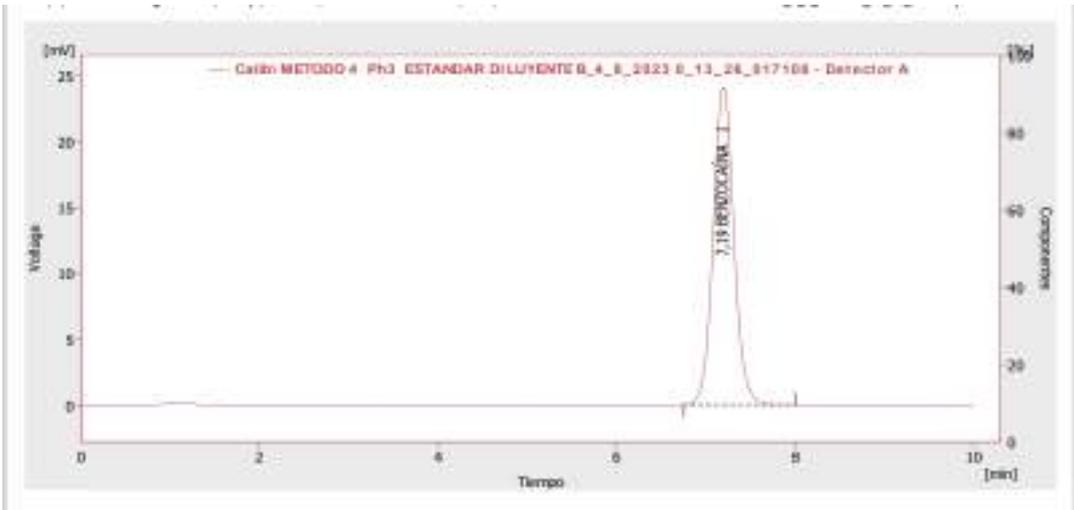
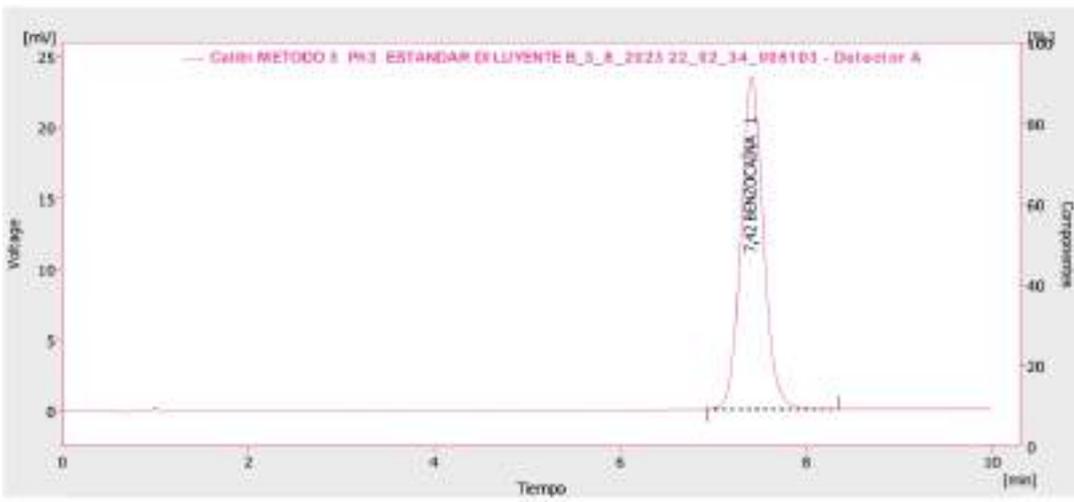
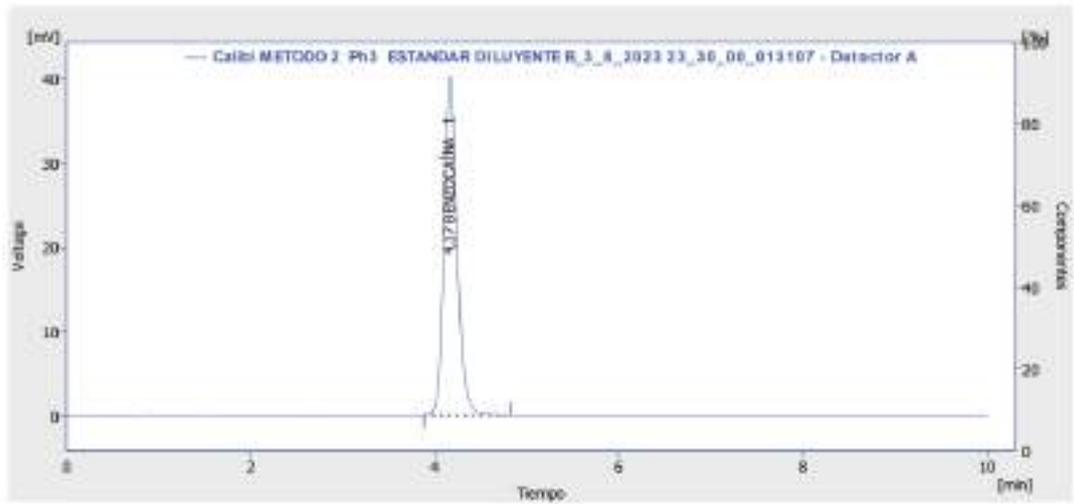
**Processing Method:**

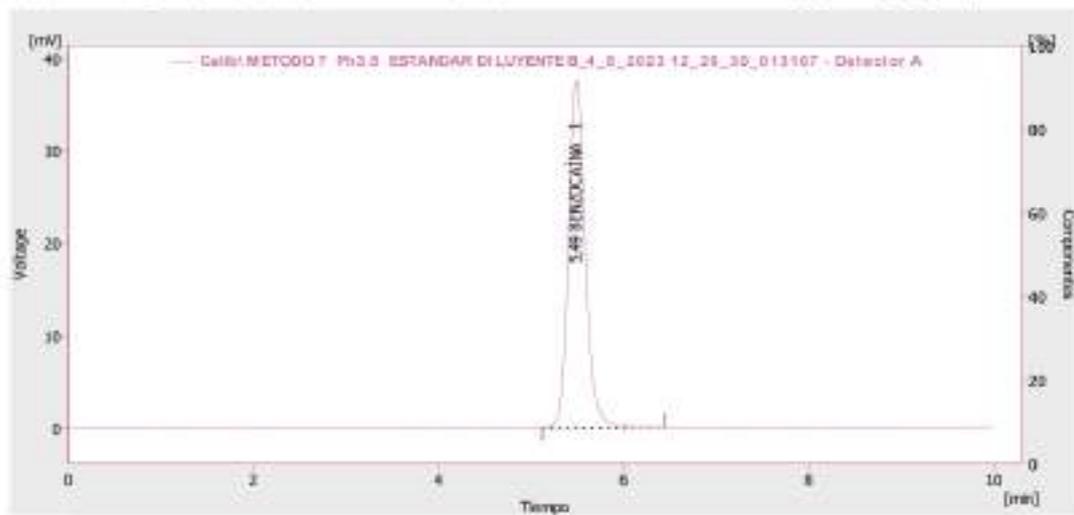
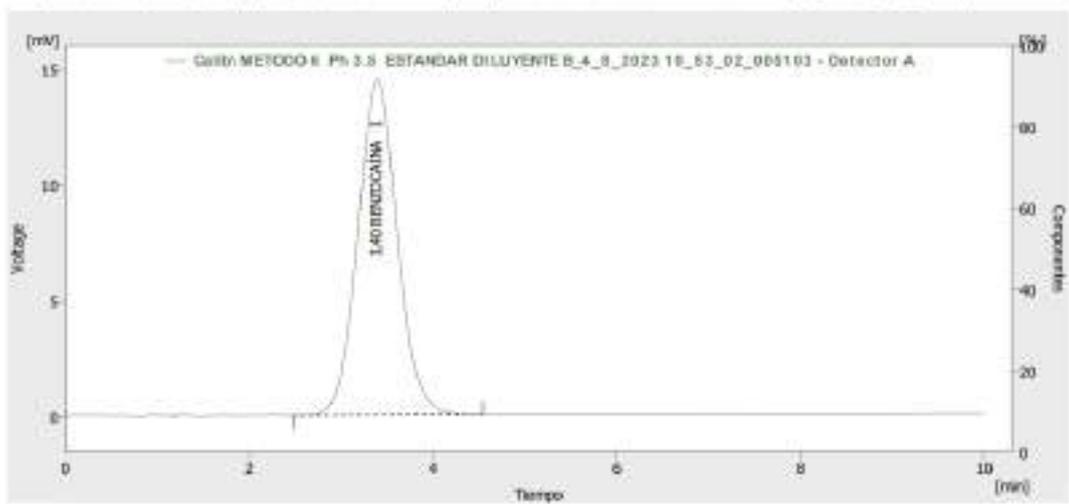
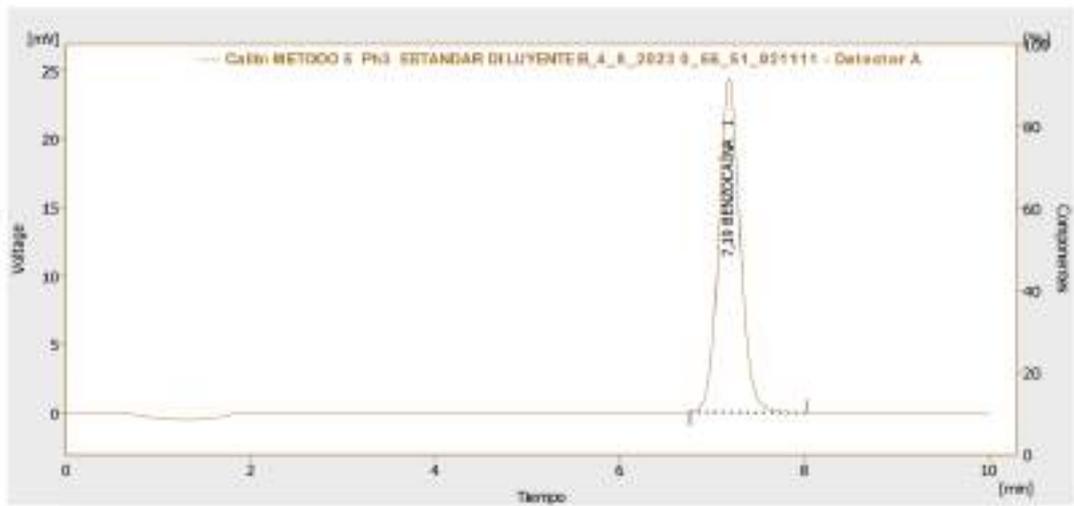
C:\Clarity\Datos\BUCOSEP TABLETAS\ROBUSTEZ\VALIDACION BENZOCAINA.R9 - #26; 8/8/2023 10:32:12 + manual changes  
Descripción : VALIDACION BUCOSEP TABS BENZOCAINA  
Creado : 18/7/2021 13:25:02 Por : DANIEL LAGUA  
Modificado : 8/8/2023 30:32:12 Por : TESTISTAS

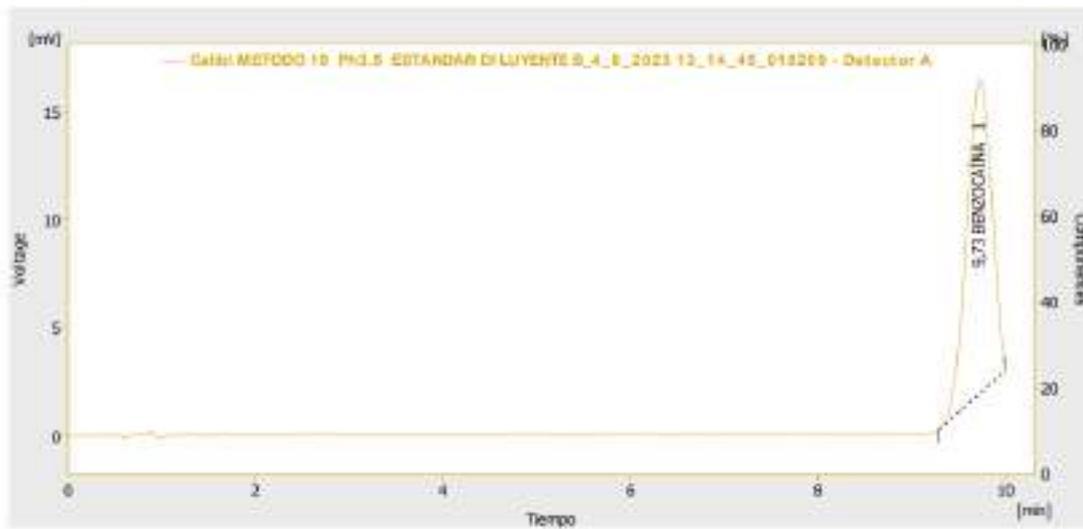
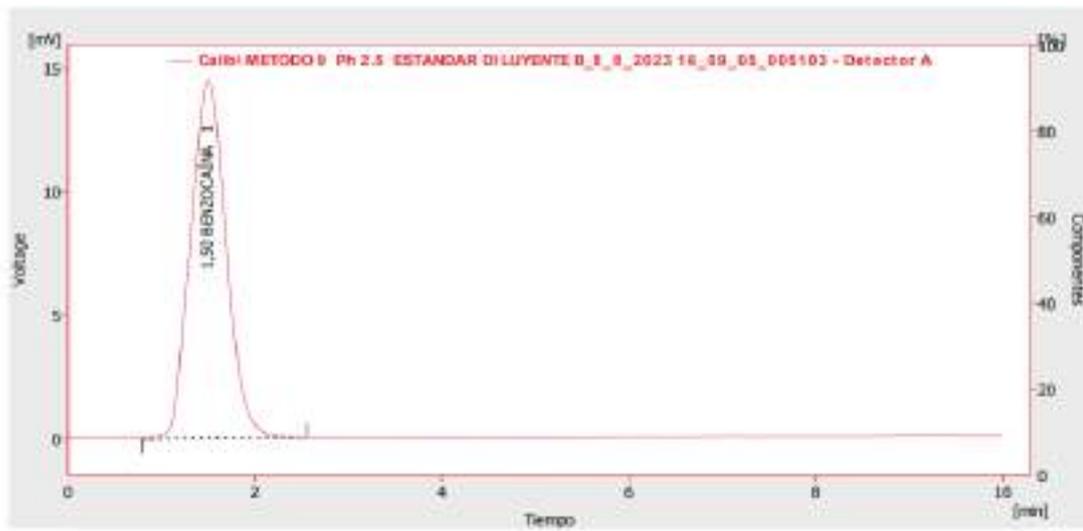
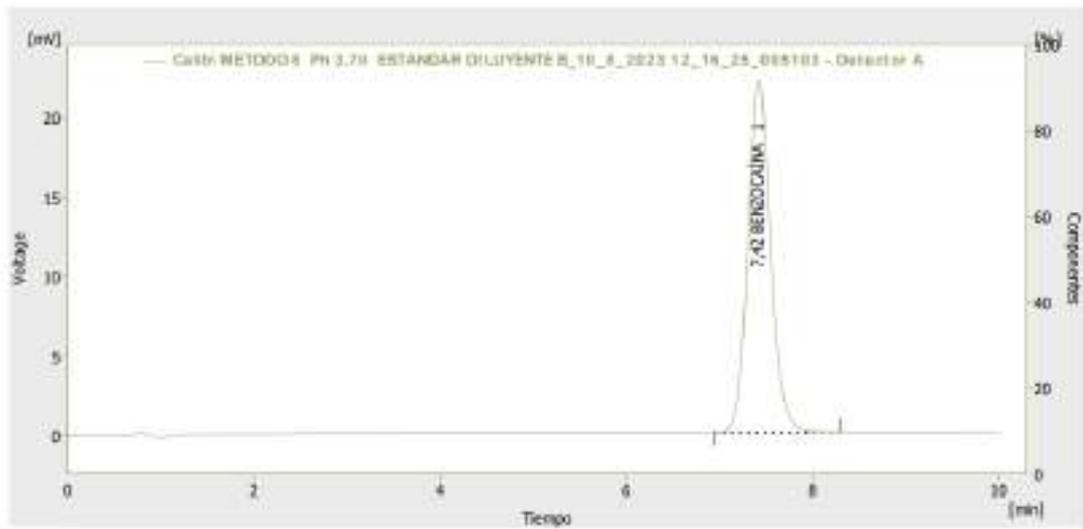
**Columna:** LICHROSPHER 100 RP-8 5µm      Detección : 280 nm  
**Fase móvil:** ACN:AGUA (SA) DILUCION AMORTIGUADA (25/70/5)      Temperatura : 25°C  
**Flujo:** 1.3 mL/min      Presión : 3800 PSI  
**Note:** :

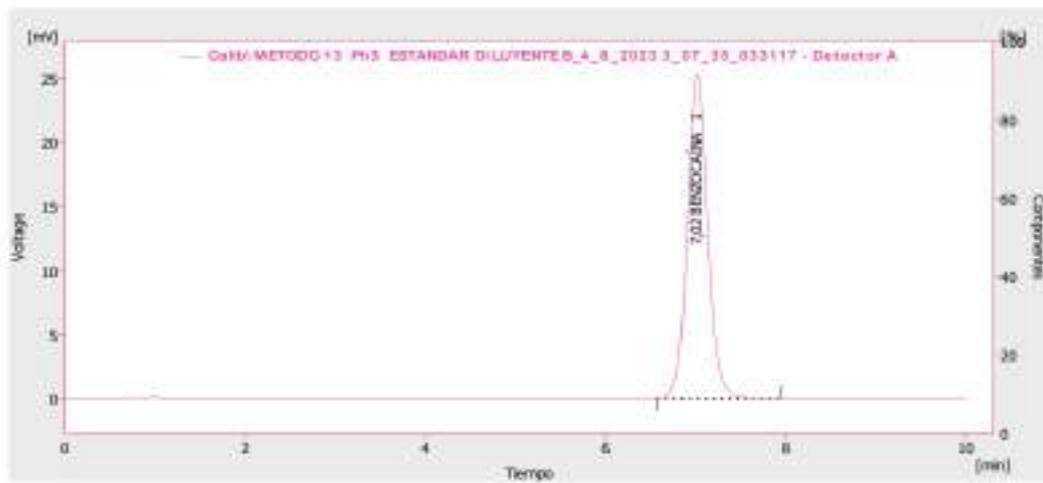
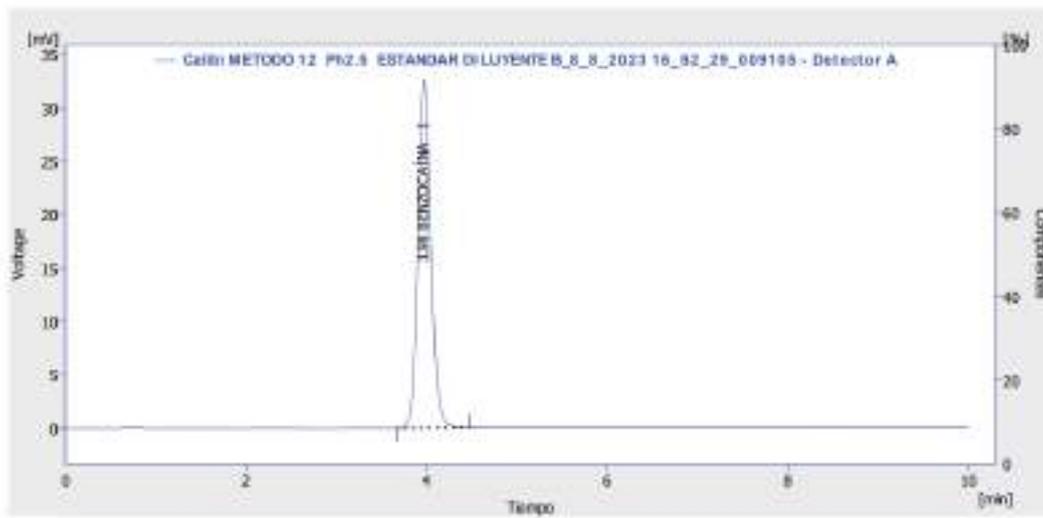
**Parada automática:** 10.00 min      Inicio externo: Sólo inicio, parada  
**Cromatograma rest:** (Ninguno)      Alineación: Sin cambios

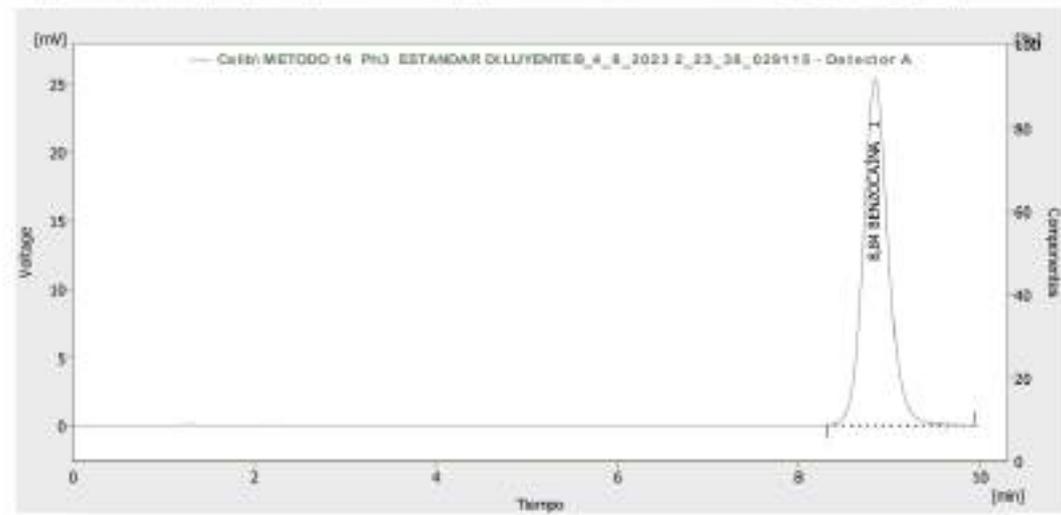
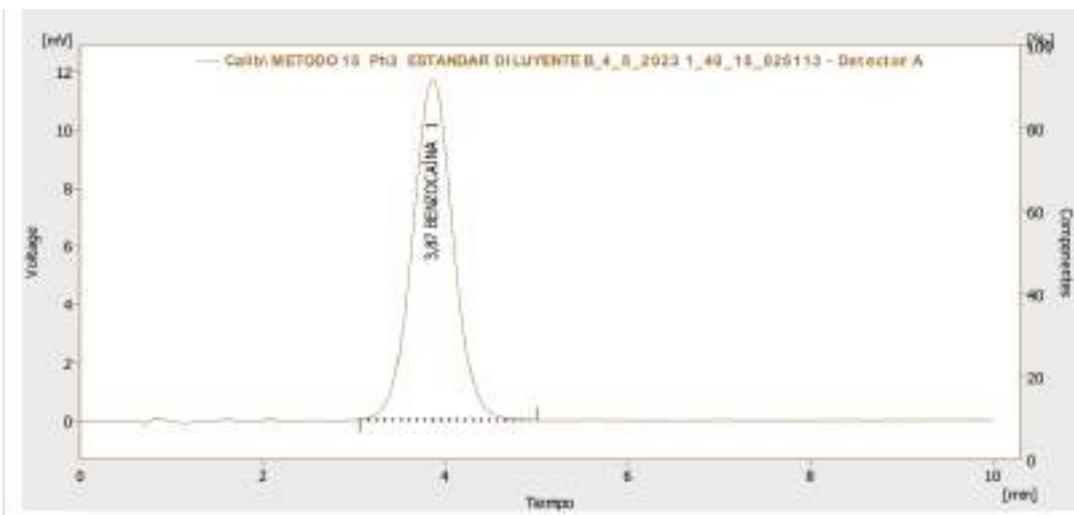
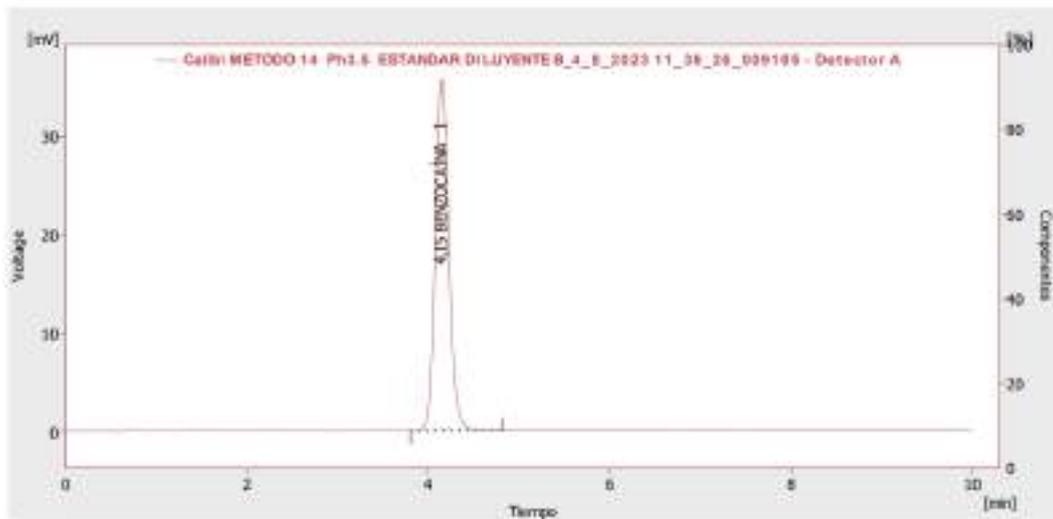


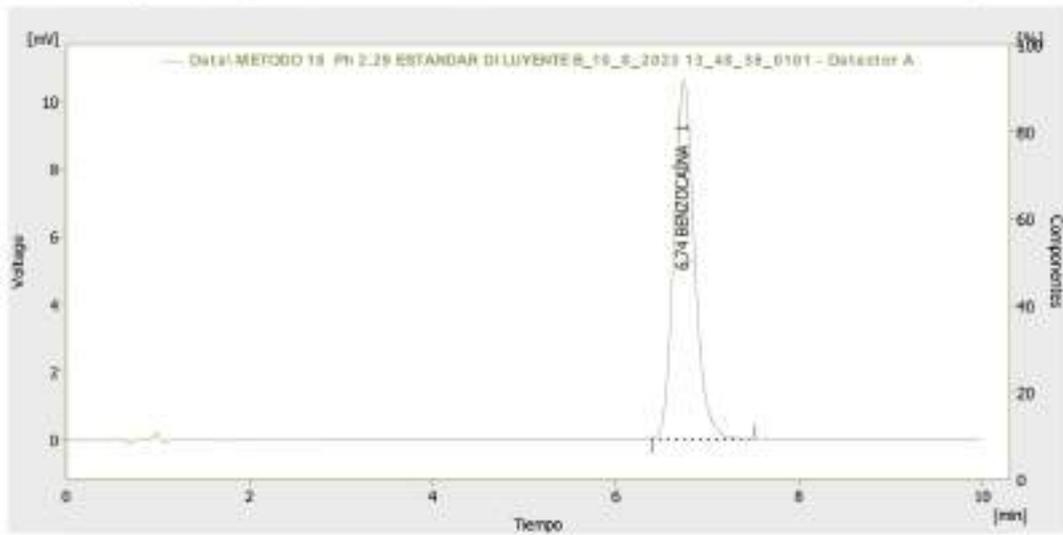
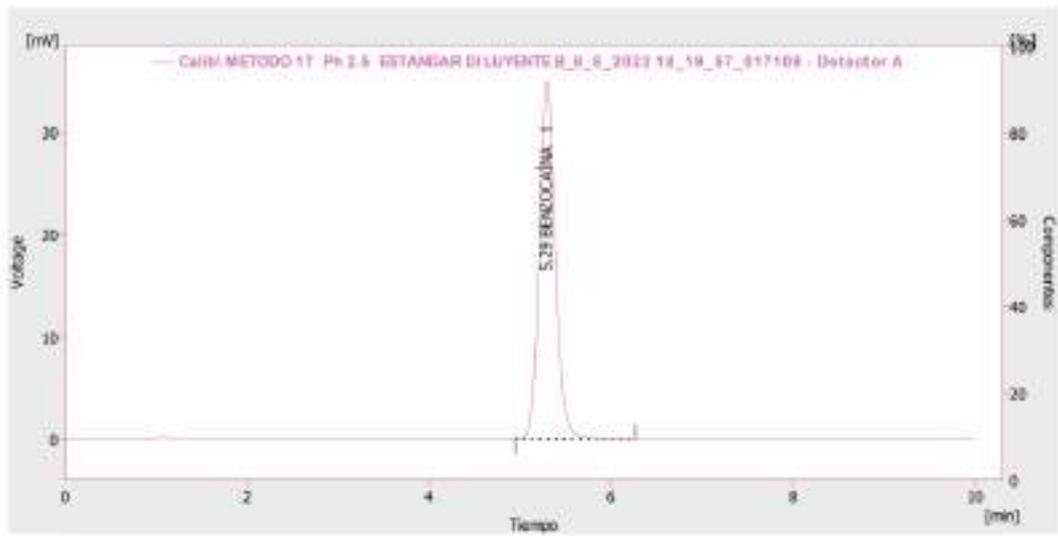












**ANEXO I: CROMATOGRAMAS DEL PARÁMETRO DE ESTABILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A**

**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
ESTABILIDAD 0 HORAS  
(DILUYENTE A)**

**Información del cromatograma**

Nombre archivo	CalibESTANDAR 0 HORAS DILUYENTE A_2_8_2023 20_37_55_038319	Archivo creado	12/8/2023 20:47:57
Origen	Adquirida, la adquisición ha comenzado 2/8/2023 20:37:55	Fecha de adquisición	2/8/2023 20:47:55
Original Project	BUCOSEP TABLETAS	Por	TESISTAS

**Descripción de la muestra**

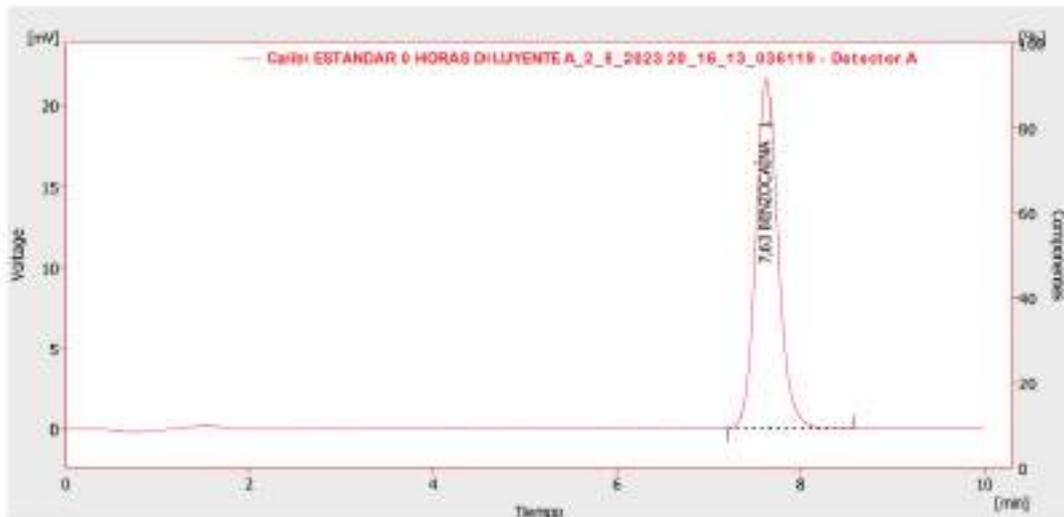
ID de la muestra : ESTANDAR 0 HORAS DILUYENTE A  
Muestra :

Método de adquisición	VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45		
Descripción	VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	16/7/2021 13:45:02	Por	DANIEL LAGUA
Modificado	3/7/2023 13:52:45	Por	YAJARA LANDA

Processing Method	VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45 + manual changes		
Descripción	VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	16/7/2021 13:45:02	Por	DANIEL LAGUA
Modificado	3/7/2023 13:52:45	Por	YAJARA LANDA

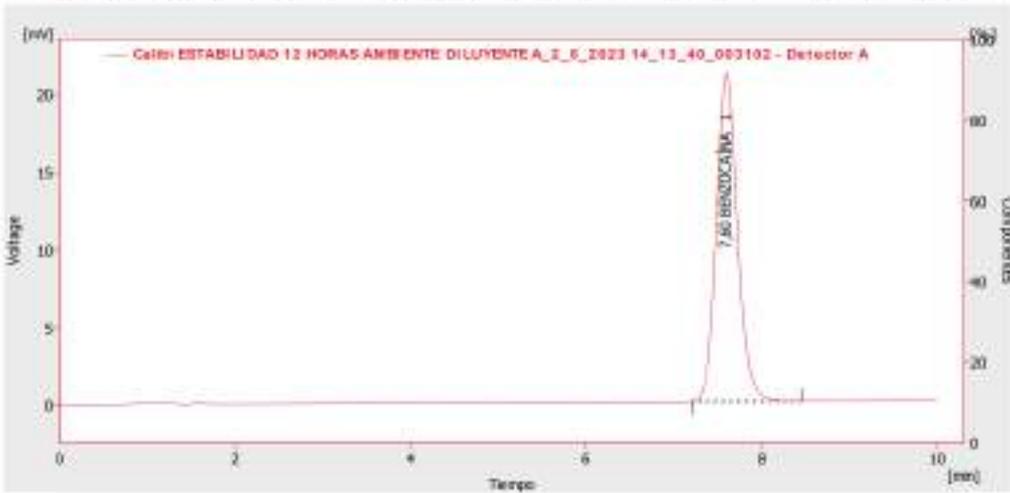
Columna	LICHROSIPHER 200 RP-8 5 um	Detección	280 nm
Fase móvil	ACN:AGUA:SOLUCION AMORTIGUADORA (20/70:5)	Temperatura	25°C
Flujo	1.5 ml/min	Presión	3000 PSI
Nota	:		

Parada automática	: 30,00 min	Inicio externo	: Sólo inicio, Bapada
Cromatograma resta	: (Ninguno)	Alineación	: Sin cambios



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**ESTABILIDAD 12 HORAS**  
**(DILUYENTE A)**

<b>Información del cromatograma:</b>			
Nombre archivo	: C:\ESTABILIDAD 12 HORAS AMBIENTE DILUYENTE A_2_E_2023 14_35_22_003021	Archivo creado	: 2/8/2023 14:45:25
Origen	: Adquirido, la adquisición fue comandada 2/8/2023 14:35:21	Fecha de adquisición	: 2/8/2023 14:45:21
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESISITAS
<b>Descripción de la muestra:</b>			
Id. de la muestra	: ESTABILIDAD 12 HORAS AMBIENTE DILUYENTE A		
Muestra	:		
Método de adquisición	: VALIDACION BENZOCAINA - #23 - 2/7/2023 13:52:46		
Descripción	: VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:46	Por	: YAJAIRA LANDA
Processing Method	: VALIDACION BENZOCAINA - #23 - 2/7/2023 13:52:46 + manual changes		
Descripción	: VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAGUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:46	Por	: YAJAIRA LANDA
Columna	: LICHROSPHER 100 RP-E 5 um	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: ACN-AGUA-SOLUCION AMORTIGUADORA (25:75:3)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Nota	:		
Parada automática	: 18,00 min	Inicio externo	: Sólo inicio, Depende
Cromatograma resto	: (7) figura	Alimentación	: Sin cambios





## LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

### BUCOSEP TABLETAS

### ESTABILIDAD 24 HORAS

### (DILUYENTE A)

**Información del cronograma:**

Nombre archivo:	C:\Lab\ESTABILIDAD 24 HORAS AMBIENTE DILUYENTE A_2_8_2023_15_43_58_011304	Archivo creado:	2/19/2023 15:54:05
Origen:	Adquirido, la adquisición ha comenzado 2/19/2023 15:43:58	Fecha de adquisición:	2/19/2023 15:53:58
Original Project:	BUCOSEP TABLETAS	Por:	TESISTAS

**Descripción de la muestra:**

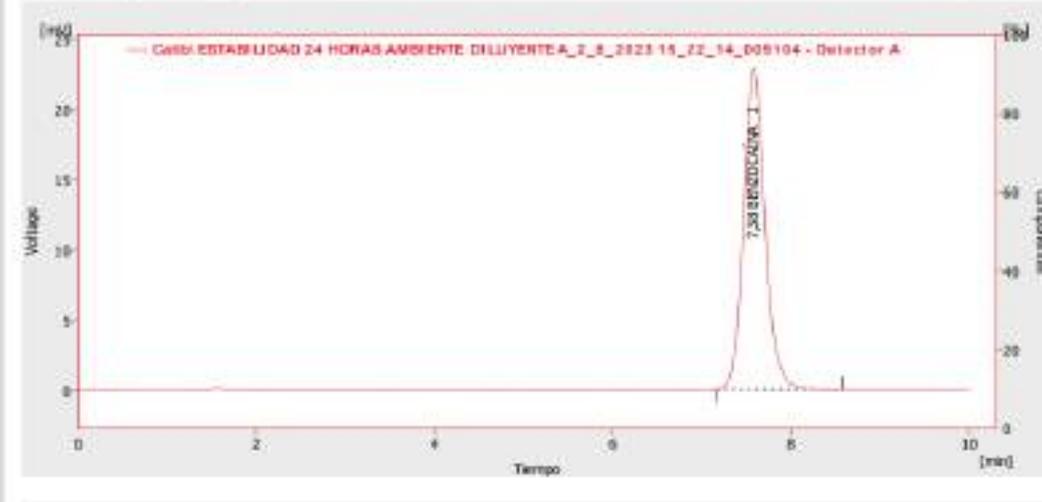
ID de la muestra: ESTABILIDAD 24 HORAS AMBIENTE DILUYENTE A  
 Muestra:

Método de adquisición:	VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45		
Descripción:	VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado:	26/7/2023 13:05:02	Por:	DANIEL LAGUA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	YAJAIRA LANDA

Processing Method:	VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45 + manual change		
Descripción:	VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado:	26/7/2023 13:05:02	Por:	DANIEL LAGUA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	YAJAIRA LANDA

Columna:	LICHROSPHER 200 RP-8 5 µm	Debitación:	200 ml/min
Fase móvil:	ACN:AGUA (SOLUCION AMORTIGUADORA 125:75:5)	Temperatura:	25°C
Flujo:	1.5 ml/min	Presión:	3000 PSI
Nota:			

Parada automática:	33,90 min	Inicio externo:	Solo inicio, Bajada
Cronograma restó:	(Ninguno)	Adquisición:	sin cambios





## LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

### BUCOSEP TABLETAS

### ESTABILIDAD 12 HORAS

### (DILUYENTE A)

### REFRIGERACIÓN

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo:	C:\BU\ESTABILIDAD 12 HORAS REFRIGERACIÓN - DILUYENTE A_2_8_2023 15_07_54_006003	Archivo creado:	3/8/2023 15:17:56
Origen:	Aquí arriba, la adquisición ha comenzado 3/8/2023 15:07:54	Fecha de adquisición:	3/8/2023 15:17:54
Original Project:	BUCOSEP TABLETAS	Por:	TESISTAS

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra:	ESTABILIDAD 12 HORAS REFRIGERACIÓN - DILUYENTE A
Muestra:	:

Método de adquisición: VALDRACION BENZOCAINA - #23, 3/7/2023 13:52:45

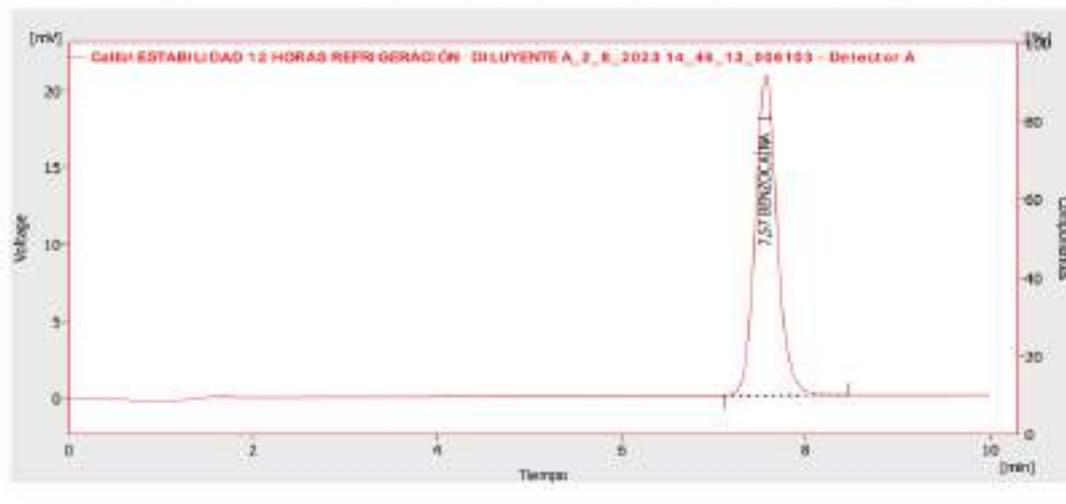
Descripción:	VALDRACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2021 13:05:02	Por:	YAJAIRA LANDA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	YAJAIRA LANDA

Processing Method: VALDRACION BENZOCAINA - #23, 3/7/2023 13:52:45 + manual changes

Descripción:	VALDRACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por:	DANIEL LAGUA
Creado:	16/7/2021 13:05:02	Por:	YAJAIRA LANDA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	YAJAIRA LANDA

Columna:	LICHROSPHER 100 RP-8 5um	Detección:	280nm
Fase móvil:	ACN/AQUA-SAGUCCION AMORTIGUADORA (25:75:5)	Temperatura:	25°C
Flujo:	1.5 mL/min	Presión:	3000 PSI
Nota:	:		

Parado automático:	30.00 min	Inicio externo:	Sin inicio, Bypass
Cromatogramas restó:	(Ninguno)	Alinación:	Sin cambios





## LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

#### BUCOSEP TABLETAS

#### ESTABILIDAD 24 HORAS

#### (DILUYENTE A)

#### REFRIGERACIÓN

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: Calib\ESTABILIDAD 24 HORAS REFRIGERACIÓN DILUYENTE A_2_8_2023 16_27_23_015305	Archivo creado	: 2/8/2023 16:27:26
Origen	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 2/8/2023 16:27:23	Fecha de adquisición	: 2/8/2023 16:27:23
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTISTAS

**Descripción de la muestra:**

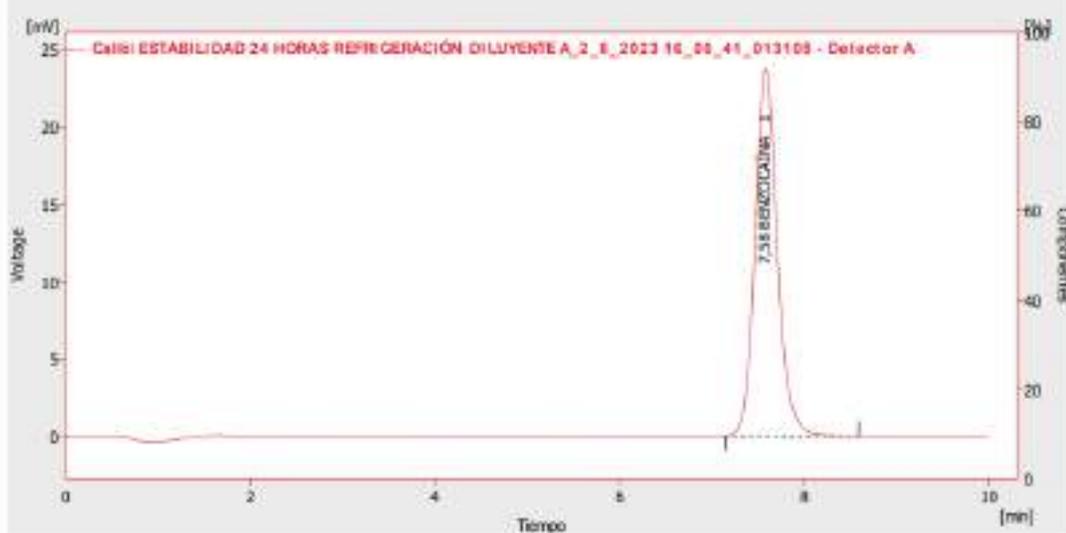
Id. de la muestra : ESTABILIDAD 24 HORAS REFRIGERACIÓN DILUYENTE A  
 Muestra :

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #23; 3/7/2023 13:52:45		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por	: DANIEL LAQUA
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: YAJADRA LAMDA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJADRA LAMDA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #23; 3/7/2023 13:52:45 + manual changes		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por	: DANIEL LAQUA
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: YAJADRA LAMDA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJADRA LAMDA

Columna	: LICHROSFER 100 RP-8 5 µm	Disección	: 200 nm
Fase móvil	: ACN:AGUA:SADLUCCION ANORTIGUADORA (25:70:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Nota	:		

Parada automática	: 15.00 min	Inicio automático	: 550 mMO, Señala
Cromatograma rotado	: (ninguno)	Almacén	: Sin cambios





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**DEGRADACIÓN FORZADA 24 HRS**  
**(DILUYENTE A)**  
**AMBIENTE**

**Información del Cromatograma:**

Nombre archivo	: C:\B\DEGRADACION FORZADA SLN HCL 0.1 N - DILUYENTE A_2_8_2023 18_48_30_028110	Archivo creado	: 2/8/2023 18:58:32
Origen	: Adquirido. La adquisición ha comenzado 2/8/2023 18:48:38	Fecha de adquisición	: 2/8/2023 18:58:30
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTISTAS

**Descripción de la muestra:**

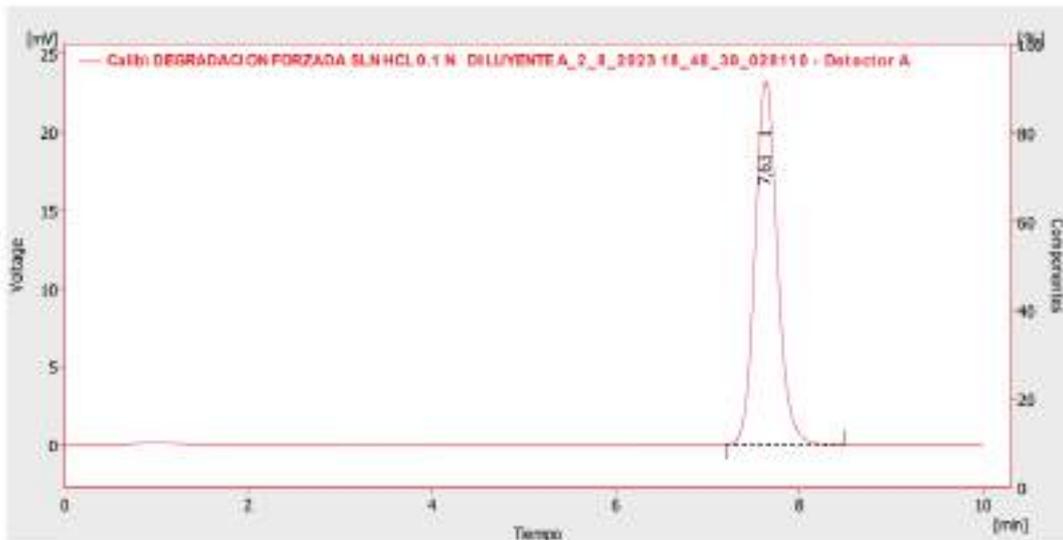
Id. de la muestra	: DEGRADACION FORZADA SLN HCL 0.1 N - DILUYENTE A
Muestra	: 1

Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAMIRA LAMDA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45 + manual changes		
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAMIRA LAMDA

Columna	: LIChROSPHER 300 RP-8 5 µm	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: A CN AGUA: SAOLUCCION A MORTISUA DORA (25:70:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Nota	:		

Parada automática	: 10:00 min	Inicio externo	: Sólo inicio, parada
Cromatograma rotar	: (Ninguno)	Alineación	: Sin cambios



# ANEXO J: CROMATOGRAMAS DEL PARÁMETRO DE ESTABILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**ESTABILIDAD 0 HORAS**  
**(DILUYENTE B)**  
**AMBIENTE**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo:	: Carb\ESTANDAR 0 HORAS- DILUYENTE B_2_8_2023 20_46_46_039120	Archivo creado:	: 2/9/2023 20:58:47
Origen:	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 2/9/2023 20:46:46	Fecha de adquisición:	: 2/9/2023 20:58:46
Original Project:	: BUCOSEP TABLETAS	Por:	: TESTESTAS

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra: ESTANDAR 0 HORAS- DILUYENTE B  
 Muestra: .

Método de adquisición: VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45

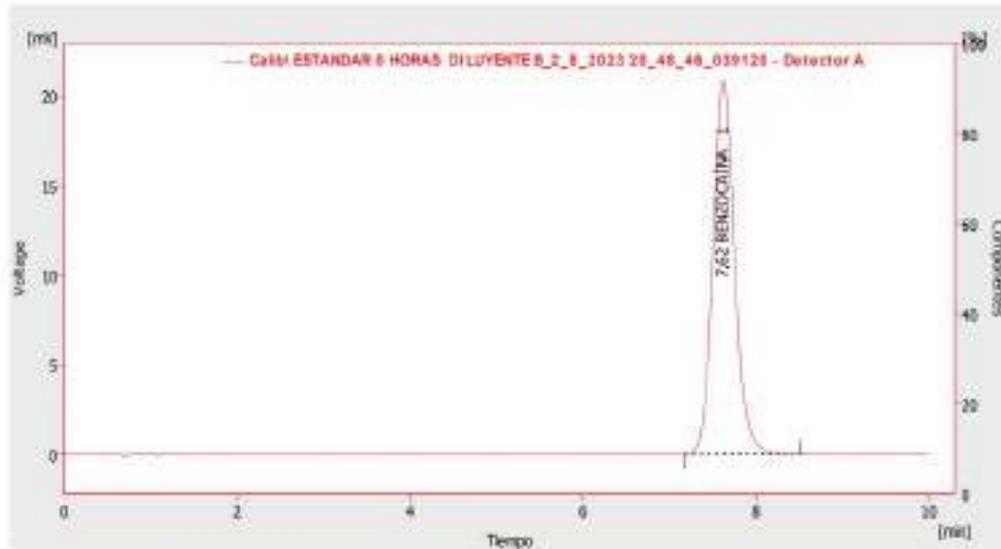
Descripción:	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por:	: DANIEL LAGUA
Creado:	: 16/7/2021 13:05:02	Por:	: VALAIRA LANDA
Modificado:	: 3/7/2023 13:52:45	Por:	: VALAIRA LANDA

Processing Method: VALORACION BENZOCAINA - #23: 3/7/2023 13:52:45 + manual changes

Descripción:	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA	Por:	: DANIEL LAGUA
Creado:	: 16/7/2021 13:05:02	Por:	: VALAIRA LANDA
Modificado:	: 3/7/2023 13:52:45	Por:	: VALAIRA LANDA

Columna:	: LICHROSPER XB RP-8 5 µm	Diámetro:	: 250 mm
Fase móvil:	: ACN:AGUA (50:50) CON ADICION AMORTIGUADOR (25:75:5)	Temperatura:	: 25°C
Flujo:	: 1.5 mL/min	Presión:	: 3000 PSI
Nota:	:		

Parada automática:	: 10.00 min	Inicio externo:	: Solo Inicio, Bajada
Cromatograma lista:	: (Vejuno)	Alimentación:	: Sin cambios





## LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

#### BUCOSEP TABLETAS

#### ESTABILIDAD 12 HORAS

#### (DILUYENTE B)

#### AMBIENTE

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo:	Calib\ESTABILIDAD 12 HORAS AMBIENTE DILUYENTE B_2_8_2023 16_59_57_018306	Archivo creado:	3/8/2023 17:09:59
Origen:	Adquiere la adquisición ha comenzado 2/8/2023 16:59:57	Fecha de adquisición:	2/8/2023 17:09:57
Original Project:	BUCOSEP TABLETAS	Por:	TESISTAS

**Descripción de la muestra:**

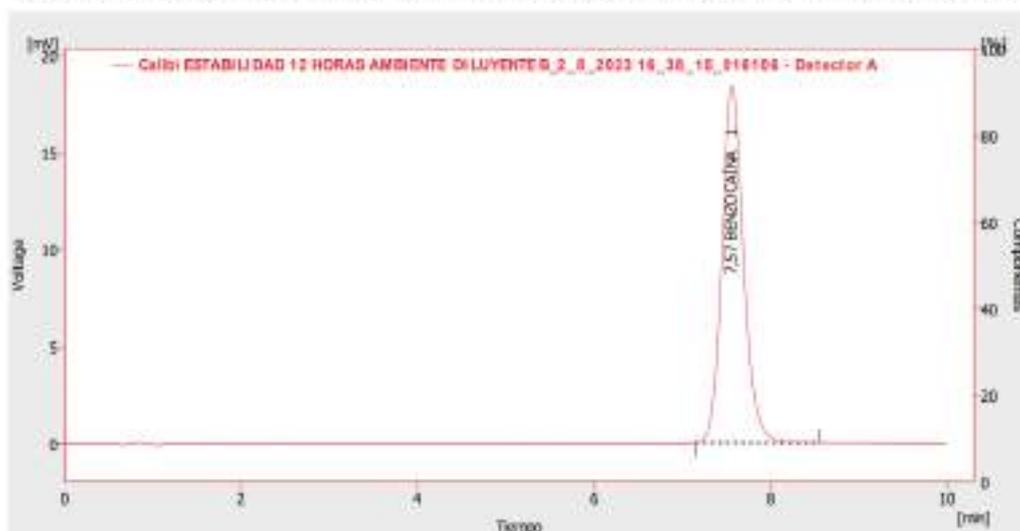
Id. de la muestra: ESTABILIDAD 12 HORAS AMBIENTE DILUYENTE B  
 Muestra: 1

Método de adquisición:	VALIDACION BENZOCAINA - #22 - 3/7/2023 13:52:45	Por:	DANIEL LAGUA
Descripción:	VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado:	3/7/2023 13:08:02	Por:	DANIEL LAGUA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	KAJAIRA LANDA

Processing Method:	VALIDACION BENZOCAINA - #22 - 3/7/2023 13:52:45 + manual changes	Por:	DANIEL LAGUA
Descripción:	VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado:	3/7/2023 13:08:02	Por:	DANIEL LAGUA
Modificado:	3/7/2023 13:52:45	Por:	KAJAIRA LANDA

Columna:	LICHROSPHER 100 RP-8 5 µm	Detección:	200 nm
Fase móvil:	ACR LA AGUA (SOLUCION AMORTIGUADORA (20:70:10))	Temperatura:	25°C
Flujo:	1.5 mL/min	Presión:	3000 PSI
Método:	1		

Parada automática:	30,00 min	Inicio externo:	Solo inicio, Bajada
Cromatograma resal:	(Ninguno)	Adquisición:	Sin cambios





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**ESTABILIDAD 24 HORAS**  
**(DILUYENTE B)**  
**AMBIENTE**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: Calib\ESTABILIDAD 24 HORAS AMBIENTE DILUYENTE B_2_8_2023 18_05_04_024086	Archivo creado	: 2/9/2023 18:15:06
Origen	: Adquirida, la adquisición ha comenzado 2/9/2023 18:05:04	Fecha de adquisición	: 2/9/2023 18:05:04
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTISTAS

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : ESTABILIDAD 24 HORAS AMBIENTE DILUYENTE B  
 Muestra : -

**Método de adquisición**

VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45  
 Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 3/7/2023 13:52:45 Por : YAJAIRA LANDA

**Processing Method**

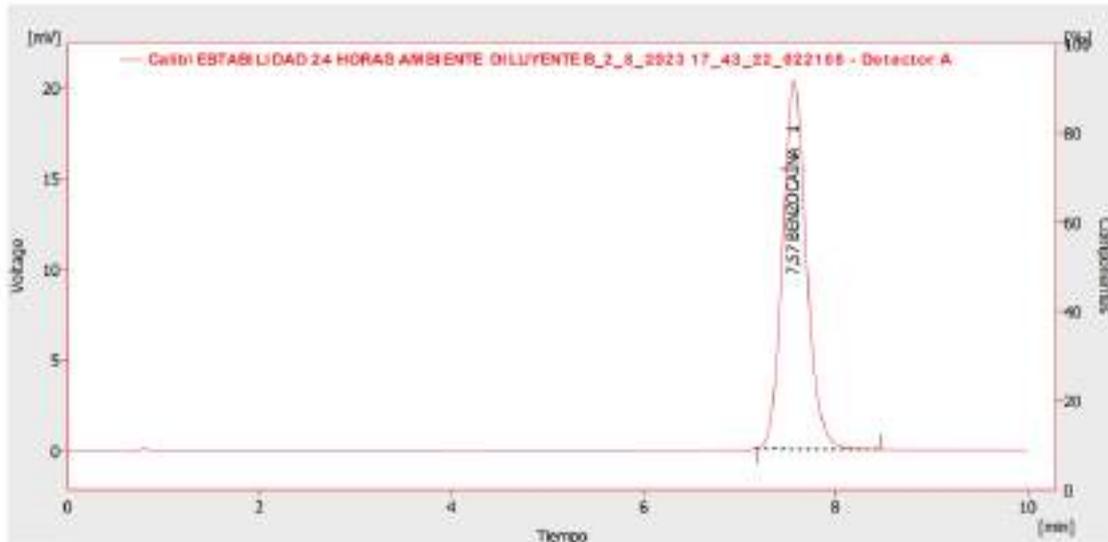
VALORACION BENZOCAINA - #23 - 3/7/2023 13:52:45 + manual changes  
 Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 3/7/2023 13:52:45 Por : YAJAIRA LANDA

**Columna**

LICHROSPHER 100 RP-8 5um Detección : 280 nm  
 Fase móvil : ACN:AGUA:SA DILUCION AMORTIGUADORA Temperatura : 25°C  
 (25:70:5) Presión : 300 PSI  
 Flujo : 1.5 mL/min  
 Nota : -

**Parada automática**

10,00 min Inicio externo : Sólo inicio, Bajada  
 Cromatograma rets : (Ninguno) Alineación : Sin cambios





## LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

### BUCOSEP TABLETAS

### ESTABILIDAD 12 HORAS

### (DILUYENTE B)

### REFRIGERACION

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: C:\ESTABILIDAD 12 HORAS REFRIGERACIÓN - DILUYENTE B_2_8_2023 17_10_48_019107	Archivo creado	: 2/9/2023 17:30:59
Origen	: Adquirido, la adquisición ha comenzado 2/9/2023 17:30:48	Fecha de adquisición	: 2/9/2023 17:30:48
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTISTAS

**Descripción de la muestra:**

N. de la muestra : ESTABILIDAD 12 HORAS REFRIGERACIÓN - DILUYENTE B  
 Muestra :

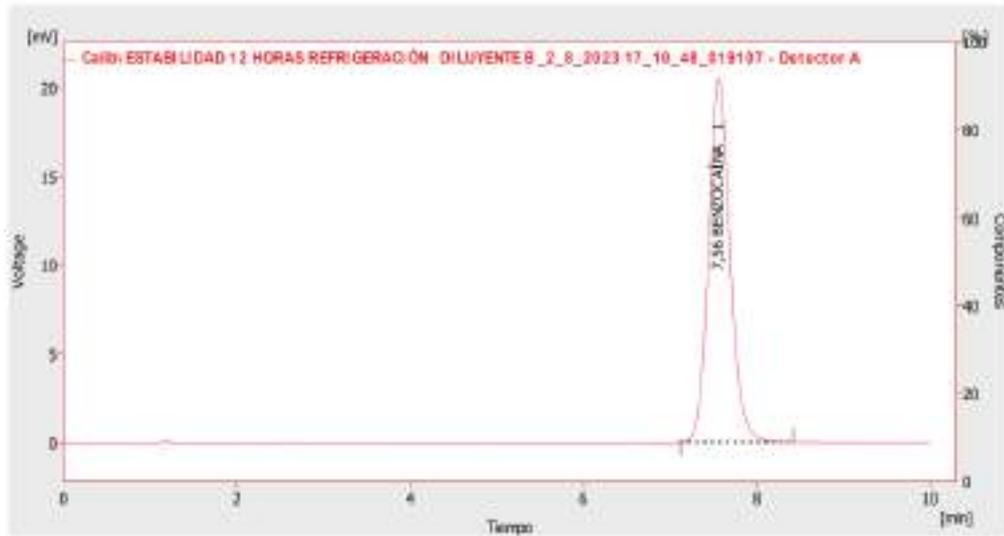
Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #23	3/7/2023 13:52:45	
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJAJARA LANDA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #23	3/7/2023 13:52:45	+ manual change
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 16/7/2021 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJAJARA LANDA

Columna	: UICHROSPHER 100RP-6 5 um	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: ACN:AGUA:SAOLUCION AMORTIGUADORA (25:70:5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Nota	:		

Parado automática	: 10.00 min	Inicio externo	: Sí/no inicio, Señal
Cromatograma rotado	: (Ninguno)	Alineación	: Sí/no cambio

t





**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR  
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO  
BUCOSEP TABLETAS  
ESTABILIDAD 24 HORAS  
(DILUYENTE B)  
REFRIGERACION**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: Cab\ESTABILIDAD 24 HORAS REFRIGERACIÓN_DILUYENTE B_2_8_2023_18_15_55_025109	Archivo creado	: 2/8/2023 18:25:57
Origen	: A lo largo, la adquisición ha comenzado 2/8/2023 18:15:55	Fecha de adquisición	: 2/8/2023 18:25:55
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Per	: TESISSTAS

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : ESTABILIDAD 24 HORAS REFRIGERACIÓN\_DILUYENTE B  
Muestra :

Método de adquisición : VALORACION BENZOCAINA - #23; 2/7/2023 13:52:45

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2021 13:05:02

Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 2/7/2023 13:52:45

Por : YAJARA LANDA

Processing Method : VALORACION BENZOCAINA - #23; 2/7/2023 13:52:45 + manual changes

Descripción : VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA

Creado : 16/7/2021 13:05:02

Por : DANIEL LAGUA

Modificado : 2/7/2023 13:52:45

Por : YAJARA LANDA

Columna : LICHROSPHER 108 RP-8 5 µm

Detección : 280 nm

Fase móvil : ACN:AGUA:SAOLUCION AMORTIGUADORA (25:75:5)

Temperatura : 25°C

Flujo : 1.5 mL/min

Presión : 3000 PSI

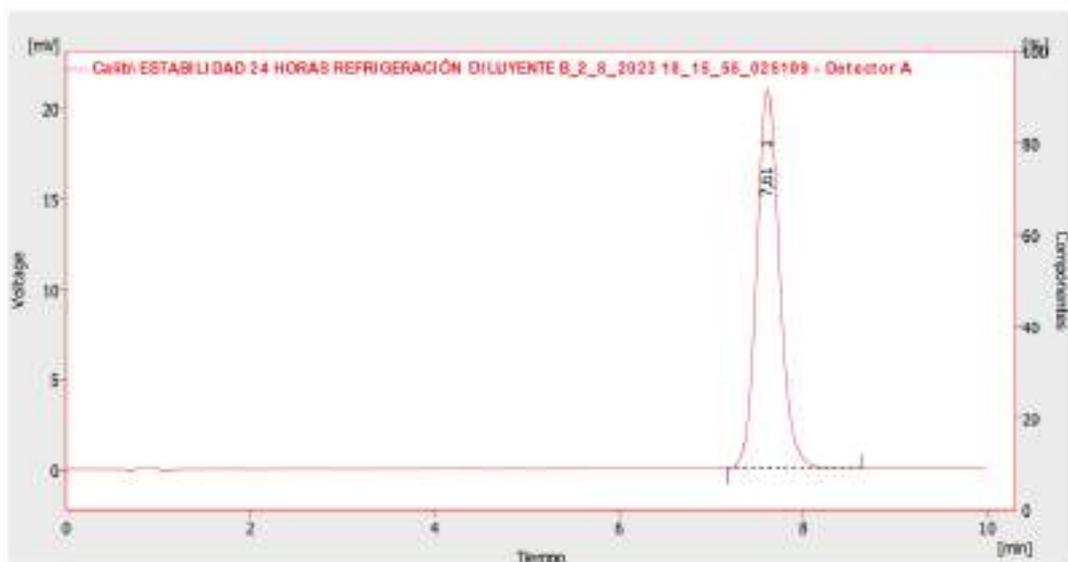
Nota :

Parada automática : 30.00 min

Inicio externo : Solo inicio, Bajada

Cromatograma rota : (Ninguno)

Abstracción : Sin cambios



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**DEGRADACION FORZADA**  
**(DILUYENTE B)**



**Información del cromatograma:**

Nombre archivo	: Calib\DEGRADACION FORZADA SLN HCL 0.1 N - DILUYENTE B_2_8_2023 18_59_21_029111	Archivo creado	: 1/8/2023 18:09:23
Origen	: Edgymda, la adquisición ha comenzado 1/8/2023 18:59:21	Fecha de adquisición	: 1/8/2023 18:09:23
Original Project	: BUCOSEP TABLETAS	Por	: TESTESTAS

**Descripción de la muestra:**

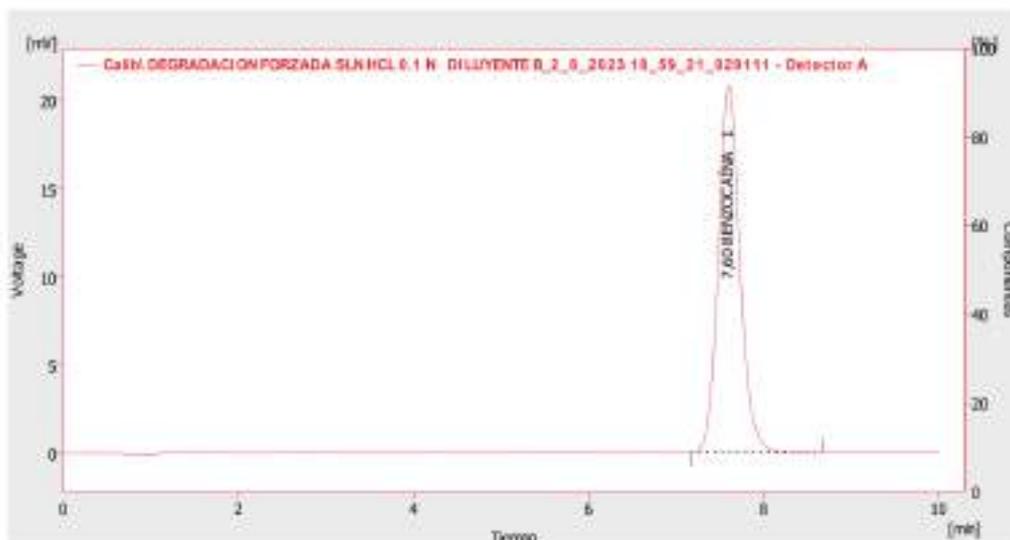
30.66 M Inyectada : DEGRADACION FORZADA SLN HCL 0.1 N - DILUYENTE B  
 Fluente :

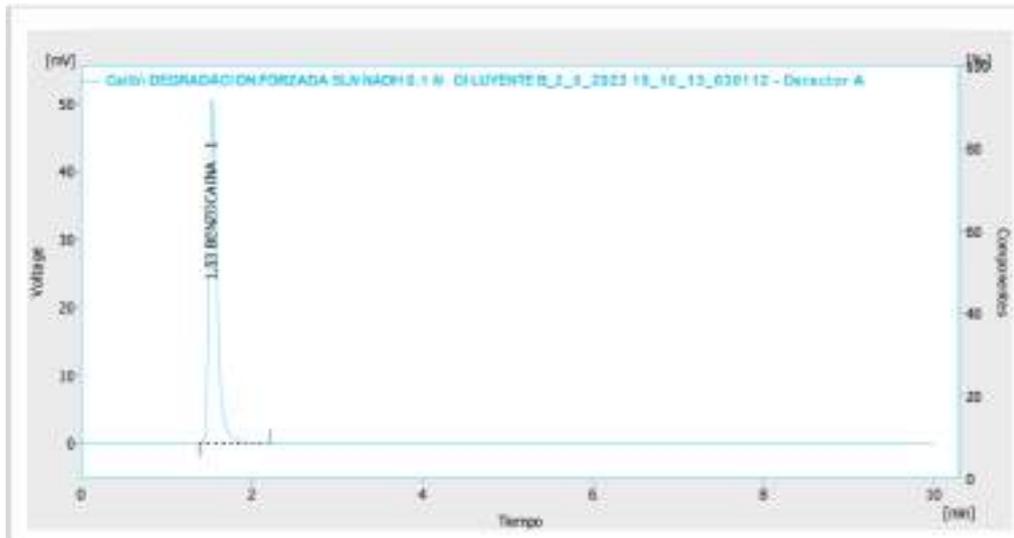
Método de adquisición	: VALORACION BENZOCAINA - #12	3/7/2023 13:52:45	
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2023 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJARA LANCA

Processing Method	: VALORACION BENZOCAINA - #13	3/7/2023 13:52:45	+ manual changes
Descripción	: VALORACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA		
Creado	: 18/7/2023 13:05:02	Por	: DANIEL LAQUA
Modificado	: 3/7/2023 13:52:45	Por	: YAJARA LANCA

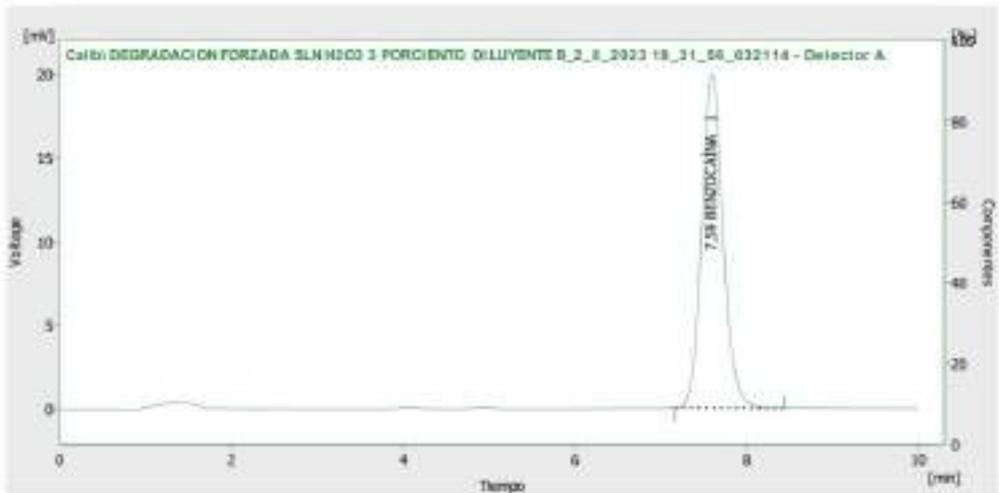
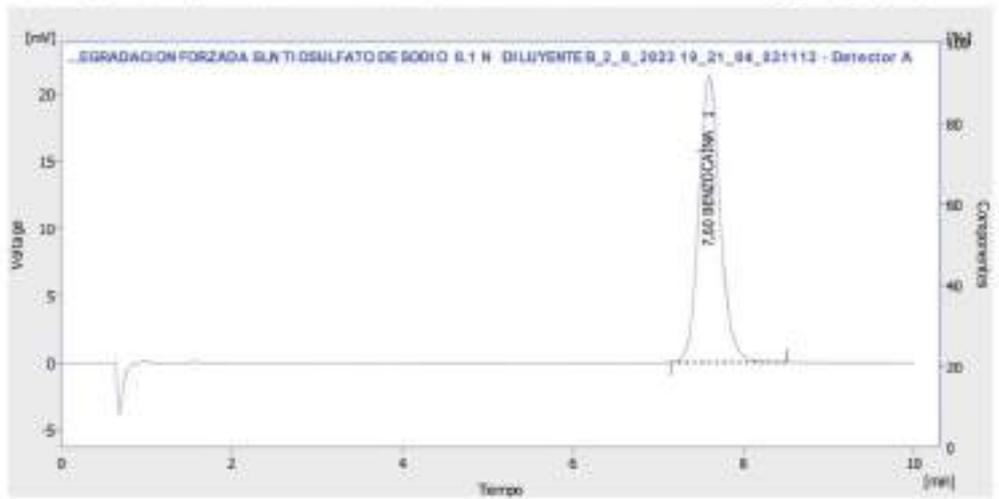
Columna	: LECHROSPHER 100 RP-8 4 um	Detección	: 280 nm
Fase móvil	: ACN-AQUA-SOLUCION AMORTIGUADORA (20:79.5)	Temperatura	: 25°C
Flujo	: 1.5 mL/min	Presión	: 3000 PSI
Note	:		

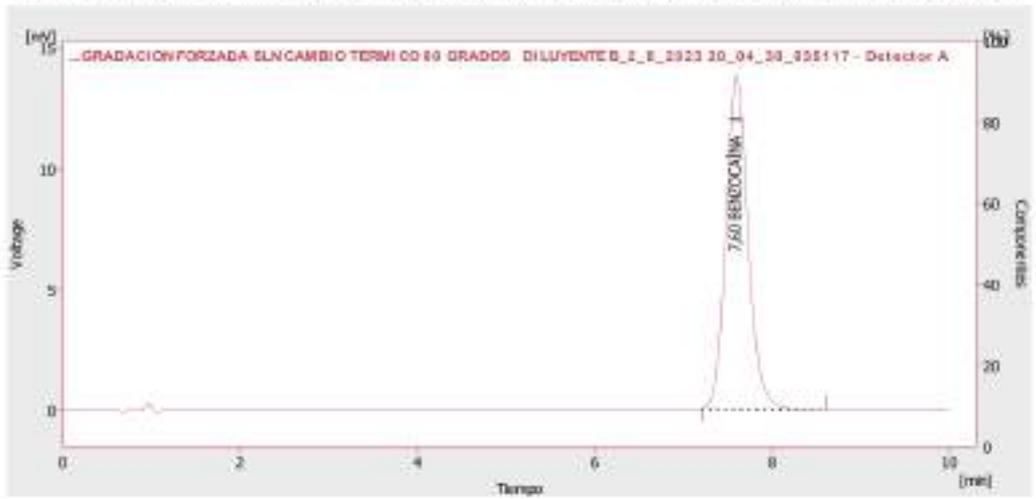
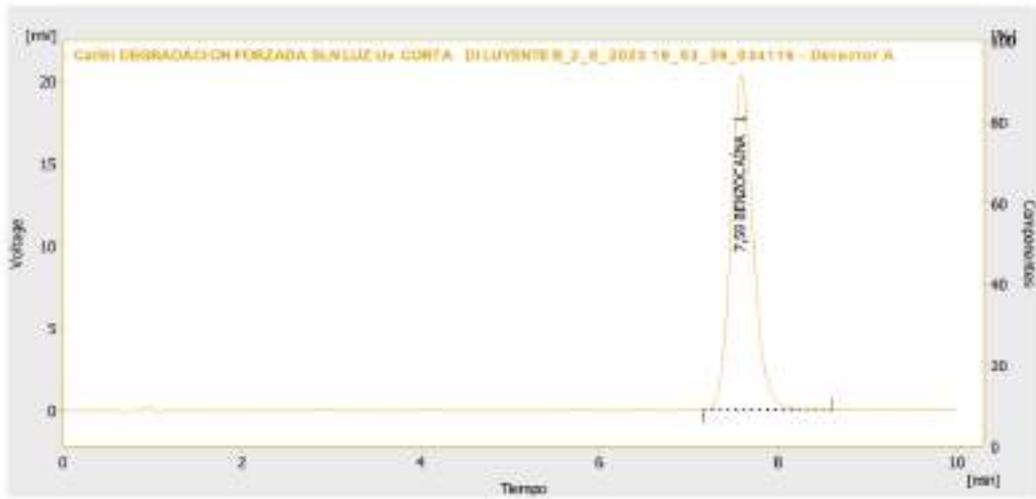
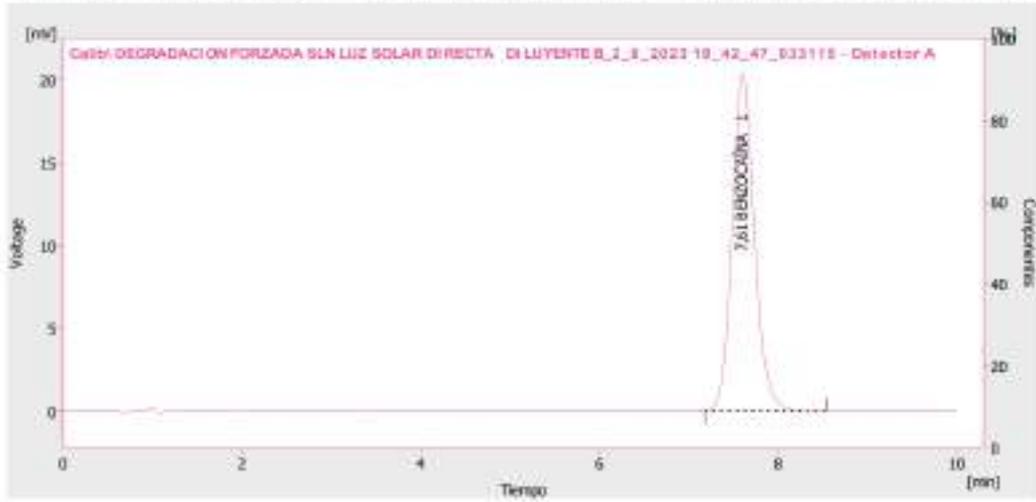
Parada automática	: 15,00 min	Inicio externo	: Sólo inicio, Detado
Cromatograma resta	: (Ninguno)	Alineación	: Sin cambios





I:\BC-romograma C:\Carbi\Detalle\BUCOSEP TABLETAS\Carbi\DEGRADACION FORZADA SLN HCL 0.1 N DILUYENTE B\_2\_8\_2023 18\_09\_21\_026111.prn#7





**ANEXO K: REPORTE DEL TEST DE IDONEIDAD DEL SISTEMA DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE A**

\\B\Cromatograma C:\Clarity\DataFiles\BUCOSEPT TABLETAS\Calib\ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)\_30\_6\_2023 08\_54\_30\_024.prntf7



**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEPT TABLETAS**  
**SELECTIVIDAD**  
**SST-ESTANDAR DILUYENTE A**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo : Calib\ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)\_30\_6\_2023 08\_54\_30\_024  
 Archivo creado : 30/6/2023 18:54:31  
 Origen : Adquisición, la adquisición ha comenzado 30/6/2023 18:54:28  
 Fecha de adquisición : 30/6/2023 19:04:28  
 Original Project : BUCOSEPT TABLETAS  
 Por : YAJAIRA LAMOLA

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)  
 Muestra :

**Método de adquisición:**

VALIDACION BENZOCAINA - #20: 27/6/2023 14:01:48  
 Descripción : VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 26/7/2021 13:06:02 Por : DANIEL LAGUNA  
 Modificado : 27/6/2023 14:01:48 Por : TESTISTAS

**Processing Method:**

VALIDACION BENZOCAINA - #20: 27/6/2023 14:01:48 + manual changes  
 Descripción : VALIDACION BUCOSEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 26/7/2021 13:06:02 Por : DANIEL LAGUNA  
 Modificado : 27/6/2023 14:01:48 Por : TESTISTAS

**Columna:** LICHROSPHER 100 RP-8 5 um  
 Detección : 280 nm  
**Flujo móvil:** ACN:AGUA:SAOLUCION AMORTIGUADORA (20:70:10)  
 Temperatura : 25°C  
**Flujo:** 1.5 mL/min  
 Presión : 3000 PSI  
 Nota :

**Peso automático:** 30.00 min  
 Inicio interno : Sin inicio, bajada  
**Cromatograma resti:** (ninguno)  
 Alineación : Sin cambios

**Tabla de componentes SST**

● - Resultado SST global

Id	Utilidad	Sobrecarga	Componente Nombre	Tiempo de retención
1	●	●	BENZOCAINA	7,443

**Tabla de parámetros SST**

● - Resultado SST para el componente "BENZOCAINA", Calculado por: "USP"

Calculado a partir de la media

X	SST	Cromatograma	Tiempo de retención (min)	Área (m.u.s.)	Altura (mV)	Cavidad	Asimetría (1-2)	Eficiencia (plates)
		Limite inferior						
		Limite superior						
		Limite NRSD	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
		Nombre	7,444	256,69	22,354	0,000	1,036	1007,764
		RSD (%)	0,15	0,14	0,36	0,00	0,79	0,97
		Resultado del parámetro	●	●	●	●	●	●
1	●	Calib\ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)_30_6_2023 08_54_30_024	7,460	256,104	22,264		1,044	1006,248
2	●	Calib\ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)_30_6_2023 05_17_24_0040	7,443	256,600	22,327		1,037	1007,054
3	●	Calib\ESTANDAR 5 BENZOCAINA DILUYENTE A (SELECTIVIDAD)_30_6_2023 08_43_36_023	7,460	256,363	22,271		1,034	1006,278

**ANEXO L: REPORTE DEL TEST DE IDONEIDAD DEL SISTEMA DEL MÉTODO ANALÍTICO BENZOCAÍNA EN DILUYENTE B**

129Cromatograma C:\Cronfy\DATAS\BUCOSEP TABLETAS\CAR\ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD)\_1\_7\_2023 13\_19\_40\_0211.prm06

**LABORATORIO NEOFÁRMACO DEL ECUADOR**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**  
**BUCOSEP TABLETAS**  
**ESTANDAR SELECTIVIDAD**  
**(DILUYENTE B)**

**Información del cromatograma:**

Nombre archivo : Calb(ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))\_1\_7\_2023 Archivo creado : 1/7/2023 13:29:41  
 13\_19\_40\_0211  
 Origen : Adquirida, la adquisición ha comenzado 1/7/2023 13:29:40 Fecha de adquisición : 1/7/2023 13:29:40  
 Original Project : BUCOSEP TABLETAS Por : YAJAIRA LANDA

**Descripción de la muestra:**

Id. de la muestra : ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD)  
 Muestra :

**Método de adquisición :** VALORACION BENZOCAINA - #20; 27/9/2023 14:03:46

**Descripción :** VALORACION BUCCISEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 27/9/2023 14:03:46 Por : TESISTAS

**Processing Method :** VALORACION BENZOCAINA - #20; 27/9/2023 14:03:46 + manual changes

**Descripción :** VALORACION BUCCISEPT TABS BENZOCAINA  
 Creado : 16/7/2021 13:05:02 Por : DANIEL LAGUA  
 Modificado : 27/9/2023 14:03:46 Por : TESISTAS

**Columna :** LICHROSIPHER 100 RP-6 5 um  
 Fase móvil : ACN-A-GUA-SAOLUCION AMORTIGUADORA  
 (25:70:5)  
 Flujo : 1.5 mL/min  
 Presión : 3000 PSI  
 Nota :

**Parada automática :** 10.00 min  
**Cromatograma resalado :** (Ninguno)  
**Inicio externo :** Solo inicio, Nojota  
**Almoción :** Sin cambios

Tablas de parámetros SST  
 ● Resultado SST para el componente "BENZOCAÍNA", Calculado por : "USP"  
 Calculado a partir de la media

X	SST	Cromatograma	Tiempo de retención [min]	Área [m.u.a.]	Altura [m.u.]	Cantidad	Asimetría [-]	Capacidad [-]	Eficiencia [pl teor.]
		Limite inferior							
		Limite superior							
		Limite %RSD	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
		Nombre	7,534	336,335	25,014	0,010	1,060	0,000	-604,934
		RSD [%]	0,33	1,15	1,02	1,15	1,27	0,00	1,38
		Resultado del parámetro	●	●	●	●	●	●	●
	☒	Calb(ESTANDAR 6 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 13_19_40_0211	7,500	336,945	25,052	0,010	1,110	0,000	-605,982
	☒	Calb(ESTANDAR 5 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 13_08_40_0001	7,522	336,240	25,150	0,010	1,085	0,000	-603,633
	☒	Calb(ESTANDAR 4 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 12_57_57_0191	7,513	329,946	19,673	0,009	1,091	0,000	-596,141
	☒	Calb(ESTANDAR 3 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 12_47_06_018104	7,532	340,573	25,239	0,010	1,061	0,000	-606,233
	☒	Calb(ESTANDAR 2 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 12_36_15_0171	7,536	333,099	19,884	0,010	1,079	0,000	-603,624
	☒	Calb(ESTANDAR 1 BENZOCAINA DILUYENTE B (SELECTIVIDAD))_1_7_2023 30_04_17_0001	7,522	337,625	25,082	0,010	1,085	0,000	-607,463

**ANEXO M: EVIDENCIA FOTOGRAFICA PARA DETERMINACION DE CLORURO CETILPIRIDINIO MEDIANTE ANÁLISIS VOLÚMETRICO**



**Fotografía 1.** Inicio de la muestra la capa clorofórmica adquiere un color anaranjado brillante



**Fotografía 2.** Muestra valorada con Lauril sulfato de sodio 0,004M hasta que la capa clorofórmica adquiere el primer color rosa anaranjado con un 6,7ml de volumen consumido.

**ANEXO N:** VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINACIÓN BENZOCAÍNA Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN BUCOSEPT TABLETAS



**Fotografía 3.** Equipo HPLC (cromatografía líquida de alta resolución).



**Fotografía 4.** Preparación las muestras



**Fotografía 5.** Bucosept tabletas de disolución bucal.



**Fotografía 6.** Preparación de los diluyentes Ácido clorhídrico 0,1N(A) y ACN: H<sub>2</sub>O(B)



epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 16 / 01 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> GERMANIA LISSETH ARIAS GUERRERO
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> CIENCIAS
<b>Carrera:</b> BIOQUÍMICA Y FARMACIA
<b>Título a optar:</b> BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

2237-DBRA-UPT-2023

