

48  
201



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
"ZARAGOZA"**

**ESTABLECIMIENTO DE UNA METODOLOGIA  
PARA LA  
REVALIDACION DE TECNICAS ANALITICAS  
DE  
PRODUCTOS FARMACEUTICOS.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A N :**

**LETICIA VALENCIA HERRERA  
SILVIA ESCUTIA HUERTA**



México, D. F.

1992



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**CONTENIDO**

INTRODUCCION.....	5
I. FUNDAMENTACION DEL TEMA.....	6
II. GENERALIDADES.....	9
2. Validación de Métodos Analíticos.....	13
2.1. Definiciones.....	16
2.2. Políticas y Bases de la Validación.....	23
2.3. Protocolos de Validación.....	26
2.4. Documentación de la Validación.....	28
2.5. Justificación de la Revalidación.....	30
2.6. Calibración y Calificación.....	31
2.7. Espectrofotometría Ultravioleta visible.....	33
2.8. Cromatografía.....	43
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	49
IV. OBJETIVO.....	50
V. HIPOTESIS.....	51
VI. MATERIAL Y METODOS.....	52
VII. RESULTADOS.....	74
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS.....	89
IX. CONCLUSIONES.....	92
X. BIBLIOGRAFIA.....	94
XI. ANEXOS.....	100

## INDICE DE CUADROS

CUADRO 1.	PROCESO DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS..	14
CUADRO 2.	DIAGRAMA DE UN ESPECTROFOTOMETRO.....	37
CUADRO 3.	CLASIFICACION DE LA CROMATOGRAFIA.....	46
CUADRO 4.	COMPONENTES PRINCIPALES DE UN C.L.A.R.....	48
CUADRO 5.	METODOLOGIA PROPUESTA PARA LA REVALIDACION DE TECNICAS ANALITICAS.....	55

## INDICE DE TABLAS

TABLA I.	PLAN GENERAL DE VALIDACION .....	57
TABLA II.	GENERALIDADES DE LOS PRODUCTOS REVALIDADOS...	63
TABLA III.	EXACTITUD Y PRECISION DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA, CAPSULAS DE 5 mg (MEXICO).....	64
TABLA IV.	REPRODUCIBILIDAD DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA CAPSULAS DE 5 MG (MEXICO).....	65
TABLA V.	EXACTITUD Y PRECISION DEL TARTRATO DE KETANSERINA TABLETAS DE 40 MG (MEXICO).....	67
TABLA VI.	REPRODUCIBILIDAD DEL TARTRATO DE KETANSERINA TABLETAS DE 40 mg (MEXICO).....	68
TABLA VII.	EXACTITUD Y PRECISION DEL TARTRATO DE KETANSERINA TABLETAS DE 40 mg Y DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA CAPSULAS DE 5 mg DE LA CASA MATRIZ (BELGICA).....	70
TABLA VIII.	RESULTADOS OBTENIDOS DE OTRAS TECNICAS REVALIDADAS EN MEXICO.....	72

TABLA IX.	COMPARACION DE METODOS CON RESPECTO A LA LINEARIDAD Y LA EXACTITUD DEL TARTRATO DE KETANSERINA TABLETAS DE 40 mg.....	74
TABLA X.	COMPARACION DE LOS METODOS CON RESPECTO A LA LINEARIDAD Y LA EXACTITUD DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA EN CAPSULAS DE 5 mg.....	75
TABLA XI.	COMPARACION DE METODOS DEL HALOPERIDOL, TABLETAS DE 5 mg.....	76
TABLA XII.	COMPARACION DE METODOS DE DOMPERIDONE, TABLETAS DE 10 mg.....	77
TABLA XIII.	COMPARACION DE METODOS DEL KETOCONAZOL, TABLETAS DE 200 mg.....	78
TABLA XIV.	COMPARACION DE METODOS DEL ASTEMIZOL, TABLETAS DE 10 mg.....	79
TABLA XV.	COMPARACION DE METODOS DEL MEBENDAZOL, TABLETAS DE 100 mg.....	80
TABLA XVI.	COMPARACION DE METODOS POR EXACTITUD DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA.....	81
TABLA XVII.	COMPARACION DE METODOS POR EXACTITUD DEL TARTRATO DE KETANSERINA.....	84

## INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1. CAMPARACION DE LA LINEARIDAD DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA.....	66
GRAFICA 2. COMPARACION DE LA LINEARIDAD DEL TARTRATO DE KETANSERINA.....	69
GRAFICA 3. GRAFICA CONTROL DE ESTANDARES DEL TARTRATO DE KETANSERINA.....	83
GRAFICA 4. GRAFICA CONTROL DE ESTANDARES DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA.....	86
GRAFICA 5. GRAFICAS DE ABSORBANCIA DEL TARTRATO DE KETANSERINA Y DE SU PLACEBO.....	87
GRAFICA 6. GRAFICAS DE ABSORBANCIA DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA Y DE SU PLACEBO.....	88

## INTRODUCCION

Actualmente uno de los principales objetivos de la Industria Farmacéutica es asegurar un adecuado control de la calidad tanto de la materia prima, producto en proceso, como del producto terminado.

El contar con técnicas analíticas confiables juega un papel importante en la Industria Farmacéutica, ya que a través de ésto se asegura el cumplimiento de dicho objetivo, además de que permite verificar que el medicamento, al ser administrado cumpla con las funciones terapéuticas deseadas.

La etapa de validación comprende una serie de pruebas sistemáticas por las cuales queda establecido de manera clara y objetiva, que el método de estudio reúne los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

El objetivo de este trabajo fue revalidar técnicas analíticas de diversos principios activos en diferentes formas farmacéuticas, comparando los resultados de la metodología propuesta con los obtenidos en la validación de la casa matriz (Bélgica).

Las técnicas analíticas evaluadas fueron 21 en diferentes formas farmacéuticas, las cuales fueron analizadas por métodos espectrofotométricos y por cromatografía de líquidos de alta resolución.

## I.FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

El incremento de nuevos productos que tienen que ver con la salud, requieren métodos analíticos confiables, es decir, que muestren de una manera eficaz la calidad de dichos productos. Por esta razón la Industria Farmacéutica, y en concreto el laboratorio de control de calidad, está especialmente interesado en la validación de los métodos analíticos usados en el análisis de productos en proceso y terminado (32).

Las Buenas Prácticas de Manufactura y las validaciones son dos conceptos inseparables y esenciales para obtener una garantía de calidad (3).

La validación de un método analítico puede definirse como: un proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

Una gran parte de la industria farmacéutica del país proviene del extranjero, por lo cual sus productos farmacéuticos y por ende las técnicas analíticas han sido desarrolladas y validadas en sus casas matrices; todo este desarrollo se ha generado con equipo, reactivos y analistas de su país de origen. Sin embargo, no solo las firmas extranjeras están preocupadas en validar sus técnicas, sino también las empresas nacionales que hacen uso de técnicas descritas en documentos oficiales (Farmacopeas o

algún otro tipo de monografía ), tienen a bien considerar la necesidad de validarlas en sus condiciones de trabajo para poder considerar que todas estas técnicas e información que de ellas se obtiene, son confiables.

Para que lo anterior sea palpable es necesario que todo esto sea corroborado por el laboratorio de control de calidad, ya que por definición de validación "El Método debe satisfacer los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas", y se hace necesario tomar en cuenta las condiciones propias o reales con las que se labora dentro del laboratorio, es decir, hay que tomar en cuenta: equipo, reactivos y analistas, ya que estos factores son fuente de variabilidad importantes que deben ser evaluados para contar con un análisis experimental y estadísticamente confiable (26,27).

Para el caso de la empresa donde se realizó este trabajo y tomando en cuenta que las técnicas analíticas que se utilizan han sido validadas en su casa matriz o bien están publicadas en documentos oficiales, como lo es la United States Pharmacopeia, la British Pharmacopeia, etc., se plantea realizar una revalidación de las mismas con respecto a la filial, ya que es una necesidad del laboratorio de control de calidad el contar con técnicas analíticas confiables debidamente documentadas.

Por otro lado, hablar de la validación de métodos analíticos sin ubicarse dentro de un contexto encaminado hacia un propósito de mejoramiento definido, resulta algo carente de significado, convirtiendo además, a la validación solo en otro gasto para cumplir con los requisitos gubernamentales.

Es por esta razón que se planteó retomar las validaciones ya realizadas a productos que no sufrieron modificaciones críticas en su fabricación, y control entre la casa matriz y su filial en México.

## II. GENERALIDADES

El principal objetivo en una planta farmacéutica es obtener productos que cumplan con los requisitos de calidad al costo más bajo posible. Es por esto que las validaciones son esenciales para la obtención de este objetivo. En los últimos años la validación de métodos analíticos ha adquirido gran importancia en la Industria Farmacéutica, por ello es necesario realizar comentarios tomando como base sus antecedentes, los aspectos regulatorios actuales, su aplicación y los recursos necesarios para llevarla a cabo.

En la década de los 40's se comienza a hacer referencia de algunos parámetros importantes de la validación de métodos analíticos y en la de los 60's fue introducida a nuestro país (48).

En la actualidad se han desarrollado, una serie de procedimientos que permiten validar al método, como un aspecto importante de la filosofía del sistema de calidad de una empresa: "ASEGURAR LA CALIDAD DE UN PRODUCTO" (32).

Tomando como idea este principio, se puede establecer que la validación de métodos analíticos es un proceso documentado que permite demostrar que éste cumple con su propósito.

Ante una diversidad de técnicas extractivas, separativas, instrumentales, etc. se puede hablar de una

cantidad ilimitada de metodologías al alcance del analista, para resolver el problema de medición analítica, aparte de los métodos oficiales existentes. Pero uno de los problemas al que se enfrenta éste, es establecer su confiabilidad ya que existen una serie de procedimientos que permiten demostrar la confiabilidad de un método. Varios autores, instituciones y grupos de trabajo han planteado ciertos requisitos, en función del propósito de el método, que en ocasiones llega a confundir al analista. Debido a esto, en varios foros se han manejado lineamientos mínimos para la validación de técnicas analíticas.

Existen tres razones por las cuales la Industria Farmacéutica está preocupada por validar:

A. Normas Legales y Reglamentaciones Oficiales.

Las autoridades correspondientes están exigiendo que todos los procesos y técnicas analíticas sean validadas.

El concepto de validación también está contemplado dentro de las Prácticas Adecuadas de Manufactura.

Un avance importante como base regulatoria se puede encontrar en la USP XXII y en la Ley General de Salud, ésta última menciona que el control aplicado a cualquier preparado farmacéutico debe de comprobarse y validar cualquier técnica empleada para este fin. Con esta regulación las autoridades sanitarias y del sector salud exigen la validación de métodos analíticos.

#### B. La Garantía de Calidad.

Las Prácticas Adecuadas de Laboratorio (PAL'S) y las validaciones son dos conceptos inseparables, esenciales para obtener una garantía de calidad. Se debe entender que la validación es una extensión de los conceptos de garantías de la calidad. La validación permite hacer: " El trabajo bien desde el principio y una sola vez ". Sin métodos analíticos validados es imposible producir productos de calidad de una manera constante. Como se puede observar, el término validación hace su aparición como un movimiento más de la actividad de calidad.

#### C) La Reducción de Costos.

La experiencia y el sentido común indican que un proceso y un método analítico validado, ocasiona menos rechazos, pérdidas, etc.

Aunque el cumplimiento de las disposiciones legales es importante, la primera razón para validar es garantizar la calidad a un costo reducido.

Para llevar a cabo este proceso se necesita contar con recursos físicos y principalmente humanos, debido a que son pocas las instituciones que preparan al egresado en estas áreas, la empresa debe capacitar a su personal para el desarrollo de esta actividad. Entre las habilidades de los analistas, que debe tomar en cuenta la empresa para capacitar a su personal, en el área de la validación

se puede mencionar: la experiencia en el área de análisis, conocimientos estadísticos que le permiten interpretar la información generada en el proceso de validación, sentido común en la toma de decisiones en base a la interpretación estadística; así como capacidad administrativa para organizar, planear, programar y documentar esta actividad (34,35).

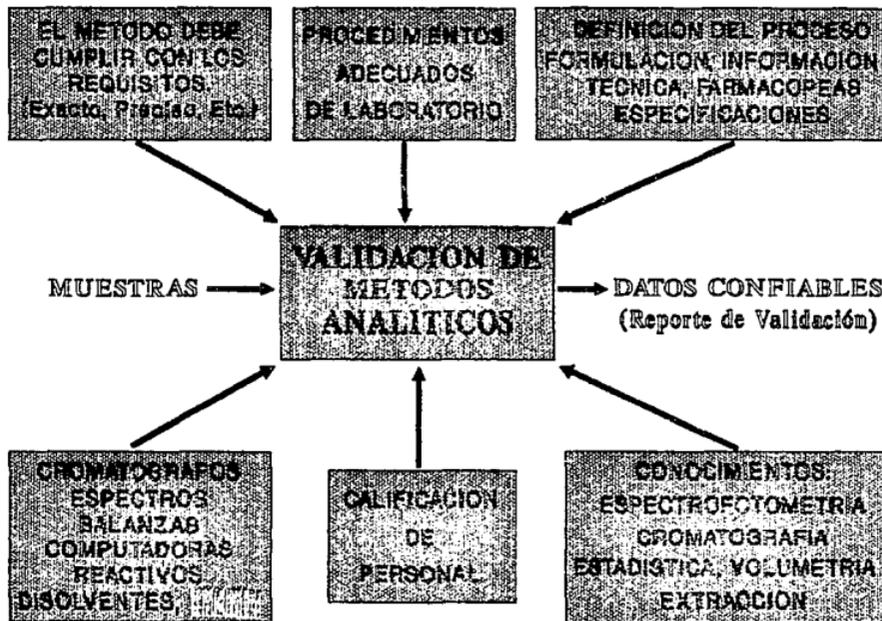
## 2. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

El proceso de validación de un método en particular, está basado en principios científicos, estableciendo que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas (4).

La forma de validación de un método analítico dependerá de su futura aplicación, es decir, si éste va a ser utilizado en control de calidad, en estabilidad o biodisponibilidad. En todos los casos se debe contar con métodos estadísticos que evalúen los parámetros analizados para que de esta forma se diga si el método es confiable (36).

En el cuadro No. 1 se describe un proceso general de validación de métodos analíticos.

## PROCESO DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS



CUADRO 1

Las etapas más importantes antes de realizar la validación de métodos analíticos , que deben ser consideradas son las siguientes:

- a) Etapa de Diseño.
- b) Etapa de Desarrollo.

Al término de la etapa de validación se debe reunir la documentación siguiente:

- Procedimiento de validación.
- Criterios de Aceptabilidad.
- Reporte de validación.

Además, para lograr un mejor entendimiento de la validación de los métodos analíticos, es conveniente seguir un esquema de conceptualización paso a paso. Es por esto, que para continuar es necesario primero definir ciertos conceptos.

2.1. DEFINICIONES (3,4,28,29).

Validación. Es el método científico que proporciona evidencia documentada para demostrar la confiabilidad de reproducibilidad y efectividad de cualquier operación.

Linealidad. La linealidad de un sistema o método es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado. Los resultados analíticos pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida.

Rango. El rango de un método analítico es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), el cual se ha demostrado que es preciso, exacto y lineal utilizando el método descrito.

Exactitud. La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia por analizar.

**Precisión.** La precisión, es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica a diferentes muestras, tomadas de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación. La precisión es una medida del rango de reproducibilidad y / ó repetibilidad del método analítico bajo las condiciones de operación.

**Repetibilidad.** Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes analizadas por un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas.

**Reproducibilidad.** Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/ó diferentes laboratorios utilizando el mismo y/ó diferentes equipos.

**Revalidación.** La revalidación de un método, es la repetición de un protocolo de validación original o de cualquier parte específica de él. Esto se realizará cuando exista un cambio crítico en el procedimiento.

**Límite de detección.** Es la mínima concentración detectada de una sustancia en una muestra pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

**Límite de cuantificación.** Es la mínima concentración de la sustancia en una muestra, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo condiciones de operación establecidas.

**Especificidad.** Es la medida del grado de interferencia en el análisis de mezclas complejas. Además, es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

**Tolerancia.** Es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes, reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaques (soportes, fase estacionaria, etc.), condiciones ambientales, etc. (4)

**Técnica Analítica.** Es el procedimiento por el cual se lleva a cabo la realización de los

análisis que pueden ser químicos, físicoquímicos, microbiológicos y/o biológicos.

Método Analítico. En general, los métodos analíticos que se llevan a cabo pueden comprender identificación, determinación de impurezas y valoración cuantitativa. Estos Métodos pueden dividirse por su origen en 4 grupos:

1. Métodos Analíticos Farmacopéicos. Son aquellos que aparecen en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos o métodos consignados en las Farmacopeas de otros países.

2. Métodos Analíticos Oficiales. Son aquellos que aparecen en textos como A.O.A.C., Codex, etc.

3. Métodos Analíticos No Oficiales. Son aquellos que aparecen en la literatura técnica, algunas veces como métodos tentativos propuestos para su inclusión en Farmacopeas y demás textos Oficiales.

4. Métodos Analíticos Internos generados por el laboratorio para materias primas, productos intermedios y terminados. Cuando no existan métodos analíticos correspondientes a las categorías descritas en los puntos 1 - 3, o bien cuando por alguna razón particular estos no puedan utilizarse, o bien se hayan obtenido

resultados dudosos, el laboratorio podrá desarrollar métodos propios.

Además, por la aplicación que se le dé al método se pueden dividir en tres categorías:

A . Métodos Analíticos para cuantificar los componentes principales de sustancias a granel o ingredientes activos ( incluyendo conservadores ), en productos farmacéuticos terminados.

B. Métodos Analíticos para determinar impurezas en sustancias a granel o compuestos de degradación y sustancias relacionadas en productos farmacéuticos terminados que incluyen:

- Análisis Cuantitativo
- Pruebas Límite

C. Métodos Analíticos para determinar características físicas por ejemplo:

Disolución, liberación del activo, etc.

Capacidad del método. Se expresa en este caso en términos de parámetros analítico:

Linealidad, exactitud, precisión, etc.

Principio activo. Es toda sustancia natural o sintética que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no

se presenta en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un vehículo.

Excipiente. Es toda sustancia que se incluya en la formulación de medicamentos y que actúe como vehículo, conservador o modificador de algunas de sus características para favorecer su eficacia, seguridad, estabilidad, apariencia,

Placebo. Es una mezcla de excipientes contenidos en el producto farmacéutico, con excepción del principio activo a cuantificar.

Producto Terminado. Es el medicamento en la forma dosificada que se encuentra listo para su distribución y/o venta.

Lote. Es la cantidad específica de cualquier material que haya sido elaborado bajo las mismas condiciones de operación y durante un periodo determinado.

Calibración. Es la verificación, manejo y mantenimiento de todos los equipos de medidas susceptibles de desajuste, para asegurar lecturas o datos exactos confiables; los cuales hacen que permanezcan en perfectas condiciones de operación y proveer resultados reproducibles. Además, ayuda a cumplir las Buenas Prácticas de Laboratorio y Manufactura.

**Error.** Es aquel que dá lugar a medidas incorrectas  
El error puede ser constante y proporcional o relativo.

El error puede ser también de dos tipos:

- 1) Error sistemático o Determinado, el cual incluye a los errores instrumentales, de método, de operación y los errores personales.
- 2) Error Aleatorio o Indeterminado. Es aquel que permanece aún cuando se ha eliminado el error sistemático y por lo tanto da lugar a medidas imprecisas. Estos se revelan por las pequeñas diferencias en mediciones pasivas efectuadas por el mismo analista en condiciones prácticamente idénticas, y es imposible predecirlos o estimarlos.

Se debe tomar en cuenta que las variaciones pueden generar datos falsos y que no implica por ende que el método no cumpla con los criterios de validación

## 2.2. POLITICAS Y BASES DE LA VALIDACION.

### Políticas.

- Establecimiento del Proceso de Validación. El proceso de validación debe ser establecido a través de un plan detallado de validación documentado ( avalado ) por la evaluación de resultados y concluido con el dictamen de la validación. Además el método analítico a validar debe estar optimizado y documentado (32).
- Criterios de Aceptación. Los criterios de aceptación deben ser establecidos antes del inicio del proceso de validación.
- Estándares de referencia. Se debe contar con estándares de referencia disponibles para la validación.
- Formulación. Si la formulación de un producto es idéntica a la de otro producto y la única diferencia que tiene es la dosificación ( del principio activo ), los resultados de la validación pueden ser transferidos al otro producto.
- Métodos de Análisis Cuantitativos. Los métodos para la determinación de contenido deben incluir el procedimiento para la determinación de de productos relacionados y productos de

degradación. Estos últimos deben también ser validados.

- Métodos Analíticos que no requieren ser validados.

a) Métodos de análisis aplicados a materias primas tomados de monografías oficiales ( Farmacopeas, A.O.A.C. etc.).

b) Métodos de Análisis para los que la prueba se realiza directa con un instrumento que requiere de preparación muy simple de la muestra de prueba, por ejemplo:pH, viscosidad, ángulo de reposo, conductividad, etc (4,34).

#### Bases de la Validación.

- El método de análisis a validar debe estar optimizado y documentado.
- Los instrumentos involucrados en la validación deben cuantitativamente corresponder a lo requerido tanto como sea posible.
- Los instrumentos para el análisis deben estar calibrados y poseer procedimientos Estandar de Operación de manejo.
- Debe contarse con Estándares de Referencia.
- El tipo de error debe ser identificado previamente al inicio de la validación y

establecer los controles para evitarlo.

- Especificar la clase y la categoría del método analítico.
- De acuerdo a la categoría del método de análisis establecer los criterios de evaluación.
- Para métodos de análisis no Oficiales tanto para materia prima como producto a granel, producto terminado y productos en estudio de estabilidad se deben realizar los criterios de evaluación que apliquen a cada caso.
- Los formatos de descarga de datos deben estar diseñados y aprobados antes del inicio de la validación.
- En caso de revalidación del método analítico los criterios a evaluar dependen de la causa de la revalidación.

### 2.3. PROTOCOLOS DE VALIDACION.

El desarrollo de un protocolo de Validación constituye el primer paso en cualquier proceso de validación. La importancia de este primer paso es absoluta. Si no se sabe para donde se va, no se sabrá cuando se ha llegado a la meta. "No se puede validar sobre la marcha". Es absolutamente esencial establecer por adelantado el programa definiendo que es lo que se va a hacer, cómo se van a manejar los datos y cuáles son los resultados esperados (48).

Los protocolos pueden tener muchas formas diferentes, pero todos deben contener esencialmente la misma información:

- Objetivo
- Propósito
- Alcance
- Materiales
- Características pertinentes del Método
- Procedimiento real a seguir durante la Validación
- Descripción completa de cualquier prueba requerida
- Criterios de Aceptación
- Formatos de Reporte

El protocolo es simplemente el diseño experimental a seguirse para probar la hipótesis. El protocolo debe especificar el número de replicaciones, considerando las suficientes para demostrar la reproducibilidad. La validación debe enfocarse a aquellas variables que puedan afectar las especificaciones del producto y las características de calidad.

Es muy deseable que los protocolos se desarrollen con una base multidisciplinaria de tal manera que representen diferentes perspectivas, expectativas y temores, todos enfocados hacia la realización del objetivo final, el cual debe operar bajo control.

#### 2.4. DOCUMENTACION DE LA VALIDACION.

El ensayo de validación no es solamente realizar una serie de experimentos, se debe armar o recopilar toda la documentación generada por el proceso de validación para demostrar que el sistema ha sido validado.

Una frase dice: "Ningún trabajo está terminado hasta que el papeleo está completo". Esto también se aplica al proceso de validación y aunque parezca increíble, frecuentemente algunas compañías no han podido completar una validación en toda la extensión de la palabra, a pesar de haber terminado la mayoría de las fases de la validación, por no haber completado la documentación del trabajo en forma de un reporte de validación.

La documentación de la validación debe incluir el protocolo de validación, todos y cada uno de los procedimientos a los cuales se hace referencia, procedimientos estándares de operación, reportes de calibración, resultados obtenidos y recolectados durante la validación, resúmenes de datos resultantes usados para evaluaciones estadísticas; todos los resultados de evaluación realizados por control de calidad, finalmente una revisión y certificación firmada

por cada uno de los responsables avalando que todos los criterios de aceptación se han cumplido y con todo esto se puede decir que la validación se ha completado.

La documentación de la validación puede ser usada para recrear la validación original en el futuro y determinar si han sucedido algunos cambios con el tiempo, y ser usado como base para programas de revalidación (26,27).

## 2.5. JUSTIFICACION DE LA REVALIDACION

La Industria Farmacéutica envuelve personal y condiciones dinámicas y ambos tienen el potencial de desviarnos de un estado validado en ausencia de otros factores de control. Los ajustes de instrumentos de medida pueden cambiar, los procedimientos se modifican y las personas tienden a volverse complacientes, por lo que surge la necesidad de establecer programas rutinarios de verificación o cotejos diseñados para medir algunos de los parámetros críticos identificados. Cuando un cambio es necesario, se debe evaluar su impacto sobre la validación original y se debe tomar una decisión en este caso. Por lo que se debe revalidar cada vez que haya un cambio mayor como por ejemplo: cambios en materias primas.

Al igual que con las validaciones originales las revalidaciones deben estar amparadas con reportes de validación (31).

## 2.6. CALIBRACION Y CALIFICACION.

Validar significa controlar las variables, variable importantísima es la exactitud del equipo, del instrumento y/o aparato de medición, esta se controla con la calibración. Algunos aparatos de laboratorio que necesitan ser calibrados son:

Balanzas Analíticas , Espectrofotómetros,  
Cromatógrafos, Potenciómetros.

Todos los anteriores son instrumentos que tienen una gran significancia en la validación de métodos de análisis. Por lo cual se requiere que antes de la validación se cuente con Instrumentos Calibrados y también que se tenga un programa de calibración y calificación.

Otra variable a considerar es el personal, éste es la causa de muchos problemas, debido a que un método validado para funcionar adecuadamente requiere que el personal (analistas) sigan los procedimientos, monografías, haga su trabajo concientemente, no modifique el sistema, etc.

Por ello, la calificación del analista mediante entrenamiento y experiencia es absolutamente esencial para el éxito del programa de validación en su totalidad.

Un analista no capacitado puede invalidar el trabajo realizado al calificar a los otros componentes.

Por otra parte, dado que las técnicas analíticas revalidadas utilizaban métodos espectrofotométricos y por cromatografía de líquidos de alta resolución, a continuación se presenta una breve explicación de dichos métodos de cuantificación (4,34,35).

## 2.7. ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA VISIBLE

La radiación en las regiones ultravioleta-visible es de suficiente energía para causar transiciones electrónicas. Los espectros visible-ultravioleta se conocen con el nombre de espectros electrónicos. Las transiciones electrónicas que se llevan a cabo en estos espectros, elevan la energía molecular desde el correspondiente estado fundamental hasta uno de los varios estados excitados. Cada transición electrónica va asociada con muchas transiciones de vibración por lo que el espectro está formado por bandas de absorción relativamente anchas. Dichas bandas son idealmente apropiadas para mediciones cuantitativas precisas. Es decir entre más anchas sean las bandas la cuantificación será más precisa (38).

El análisis espectrofotométrico cuantitativo se basa en la relación entre la cantidad de la luz absorbida y la cantidad de sustancia absorbente. Esto condujo a la Ley de Beer, la cual se representa en la siguiente ecuación:

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \dots\dots\dots (1)$$

donde:

A= Absorbancia

e= Constante de absortividad molar

b= longitud de trayectoria llamada  
también absortividad, cm

$$\frac{P_0}{P} = \text{Transmitancia}$$

La ecuación indica que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de especies absorbentes cuando la longitud de la trayectoria luminosa es fija, y directamente proporcional a la trayectoria luminosa cuando la concentración es fija.

La Ley de Beer se aplica a una solución que contiene más de una clase de substancia absorbente, siempre que no haya interacción entre las distintas especies.

Limitaciones de la Ley de Beer.

Esta Ley describe bien el comportamiento de absorción de soluciones diluidas solamente. En este sentido, es una Ley limitativa. A concentraciones mayores de 0.005 M la Ley ya no es confiable, puesto que el grado de interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este

fenómeno causa desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración.

Las desviaciones de la ley de Beer pueden ser de 2 tipos : químicas e instrumentales.

Desviaciones químicas se presentan frecuentemente como consecuencia de asociación, disociación o reacción de la substancia absorbente con el disolvente.

Las desviaciones Instrumentales.

Un estricto cumplimiento de la Ley de Beer solamente es llevado cuando se emplea radiación monocromática, ya que se ha observado que hay desviaciones cuando se utiliza radiación policromática y existe variación en la constante de absorptividad, esto es debido a que la radiación policromática abarca una región del espectro en la que la substancia absorbente exhibe grandes absorbancias como una función de la longitud de onda.

Por otra parte, los errores instrumentales incluyen variaciones en la fuente de poder, la respuesta de los detectores, la posición de las celdas y los errores personales asociados con la lectura de las escalas. Aunque estos errores pueden disminuirse al máximo o eliminarse por

medio de procedimientos de calibración, siempre existe un pequeño porcentaje acumulativo del 0.2 - 1 %.

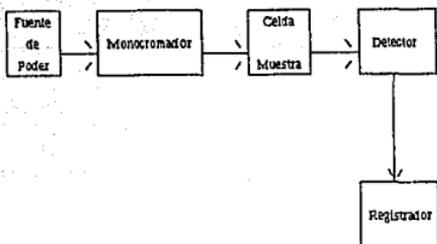
Intervalos de Longitud de Onda que tienen interés en Espectrofotometría.

REGIONES	INTERVALOS DE LONGITUD DE ONDA
Ultravioleta Lejano	100 - 200 nm
Ultravioleta	200 - 400 nm
Visible	400 - 750 nm
Infrarrojo Cercano	750 - 4000 nm
Infrarrojo	4000 - 25000 nm

Componentes de los Instrumentos para la medición de la absorbancia.

- 1) Una fuente estable de energía radiante que puede variar de intensidad.
- 2) Un orificio que permite el empleo de una región restringida de longitudes de onda.
- 3) Recipientes transparentes para muestra y disolvente.
- 4) Un detector de radiación o transducción que convierte la energía radiante en señal medible ( generalmente eléctrica ).
- 5) Un indicador de señal.

En el cuadro número 2 se muestra el diagrama de un espectrofotómetro para las regiones ultravioleta y visible.



Cuadro 2

Un espectrofotómetro tiene un monocromador de prisma ó retículo que permite el uso de una estrecha banda de radiación que puede modificarse continuamente en su longitud de onda. Los espectrofotómetros se clasifican además basándose en la región de longitud de onda para la que han sido diseñados, como por ejemplo: instrumentos infrarrojos, visibles, ultravioleta o de rayos X.

El diseño básico de los espectrofotómetros es semejante para todas las regiones ópticas del espectro electromagnético. Los componentes individuales varían de acuerdo con la región en que se efectúan las mediciones.

#### Fuentes de Radiación.

Las fuentes de radiación deben cumplir con las siguientes características:

- 1) La señal emitida ( $P_0$ ) debe ser continua y estable.
- 2) Debe emitir una señal detectable en toda la región en estudio.
- 3) La intensidad de la luz emitida debe ser uniforme en toda la región. Como esto es difícil de obtener, es necesario el empleo de diafragmas para que la radiación sea homogénea.

Estas características tienen por objeto regular las señales del detector a través de toda la región.

Para la región de ultravioleta se emplean tubos de descarga de hidrógeno o deuterio y para la visible focos con filamento de tungsteno.

#### Monocromadores.

Los monocromadores tienen por objeto descomponer la radiación policromática en sus componentes, permitiendo así el paso de un haz monocromador cuya longitud de onda corresponda a la región en estudio.

Las ventajas que presenta la luz monocromada son:

- 1) La Ley de Beer está basada en las radiaciones monocromadas.
- 2) La sensibilidad de las medidas aumenta.
- 3) Las interferencias disminuyen.

La unidad del monocromador consiste en lentes de enfoque , diafragma de entrada , monocromador y diafragma de salida.

Los selectores de longitud de onda pueden ser:

a. Filtros.

Vidrios coloridos. Se emplean en los fotómetros de filtro.

La amplitud de la banda efectiva varía de filtro a filtro, generalmente cubre una región entre 20 y 50 nm.

Filtros de interferencia. Son cristales dieléctricos transparentes (fluoruro de calcio o magnesio) prensados entre 2 películas metálicas semitransparentes que se encuentran adheridas a dos placas de vidrio ( producen un aspecto de emparedado ). La capa dieléctrica determina la longitud de onda de la radiación transmitida, por lo que su espesor debe ser controlado perfectamente.

#### b. Prisms.

La radiación que pasa a través de un diafragma que colinda con una lente o un espejo y se dispersa por medio de un prisma. La región del espectro en estudio se enfoca por rotación de la luz dispersa o por un sistema de espejos a un diafragma de salida.

La amplitud de la banda efectiva de un prisma disminuye al aumentar el espesor de la base del mismo. Para mantener el tamaño del prisma constante y conservar la mínima amplitud de la banda, generalmente se emplea un prisma de Littrow, el cual se obtiene dividiendo el prisma en dos partes iguales por el eje vertical.

Para la región ultravioleta se emplea un prisma de cuarzo o de sílice fundido, el cual produce una amplitud de banda de 1.5 nm por milímetros de abertura del diafragma en el ámbito del espectro correspondiente a 250 nm; por lo tanto, para obtener una amplitud fija es necesario disminuir continuamente la salida a medida que aumenta la longitud de onda.

Para el espectro visible son más efectivos los prismas de vidrio. Estos no se pueden emplear en la región ultravioleta, ya que el vidrio absorbe radiación en este ámbito.

c. Celdas.

El recipiente que se utiliza para colocar la muestra ya sea en forma líquida o gaseosa, recibe el nombre de celda ó cubeta. Estas son de diferentes materiales según la región del espectro en estudio.

Para la región ultravioleta las celdas son de cuarzo o sílice fundido; también pueden emplearse en la región visible. Las de vidrio no se emplean en ultravioleta, ya que éste absorbe luz en dicha región del espectro visible, además de las de vidrio y de cuarzo, actualmente se fabrican celdas de plástico.

La longitud más común de las celdas es de 1 cm, aunque también existen de 0.1, 2, 5 y 10 cm. Es importante que la celda esté perfectamente limpia y no debe tocarse con los dedos la parte donde atraviesa la luz, pues las huellas de grasa alteran los resultados.

d. Detectores.

Los fotones correspondientes a las radiaciones ultravioleta - visible tienen la suficiente

energía para emitir electrones cuando chocan contra superficies tratadas con compuestos específicos , que actúan como cátodo. La radiación también puede producir un paso de corriente a través de semiconductores. En ambos casos se genera una corriente eléctrica que es directamente proporcional al poder radiante de la luz emitida al detector (38,47).

## 2.8. CROMATOGRAFIA.

### Definición.

La cromatografía es un método físico de separación en la cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases; una de ellas es un lecho estacionario, mientras la otra se mueve por polaridad a través de este lecho ( fase móvil ). Los procesos cromatográficos tienen lugar como resultado de repetidas adsorciones y desorciones durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo de la fase estacionaria, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes de la muestra.

### Historia.

La cromatografía como técnica de separación es atribuida a Tswett, quien en 1903 describe su trabajo realizado sobre una columna de carbonato de calcio para separar los pigmentos de hojas verdes. La cromatografía fue concebida como término, para describir las zonas de color que aparecían sobre la columna de tiza al exponer en ella, los extractos de las hojas verdes luego de ser lavada con un disolvente puro. Dicho término

describe fielmente lo que en ese momento observó Tswett, y que tiene como significado en raíces griegas "Escritura en color", técnica que en la actualidad no queda restringida a la separación de sustancias coloreadas.

Posterior a su descubrimiento, la cromatografía inicia un período relativamente largo durante el cual no tuvo desarrollo alguno. Siendo hasta 1938 cuando Izmailov y Schraiber describen por primera vez a la cromatografía en capa fina.

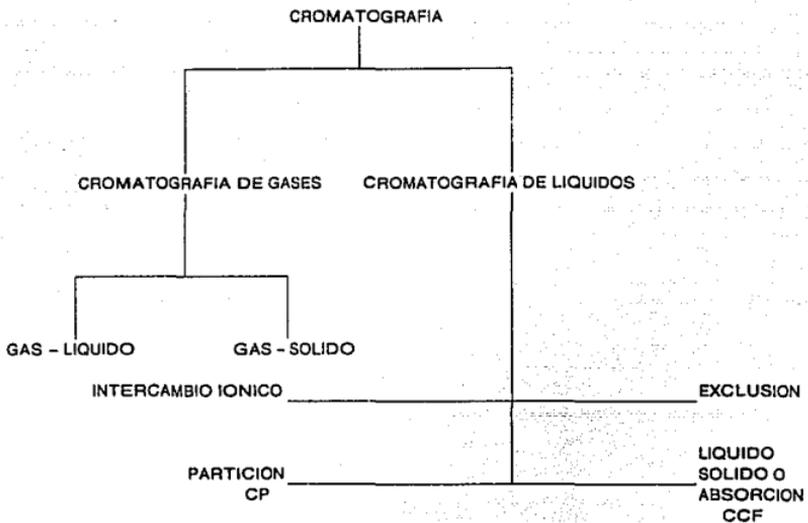
El trabajo desarrollado por Martín y Synge en 1941, fue un ejemplo de innovación, al introducir la cromatografía de reparto y sugerir la posibilidad de utilizar un gas como fase móvil, idea que sería consumada más adelante por el mismo Martín y James a principios de 1952.

Entre 1952 y finales de los 60's la cromatografía de gases, obtuvo una amplia sofisticación en sus técnicas analíticas, desarrollando así una gran ventaja sobre la cromatografía de líquidos, que era realizada en columnas de vidrio de amplios diámetros bajo condiciones esencialmente atmosféricas, lo que hacía los tiempos de análisis largos y tediosos. A finales de los 60's y gracias a los avances desarrollados en el campo de la instrumentación y al entusiasmo mostrado

por los científicos de la época, se logró la creación de la Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC), técnica que en la actualidad se ha preferido llamar Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

A continuación en el cuadro No. 3 se puede observar una sencilla clasificación de la cromatografía:

### Clasificación de la Cromatografía.



Cuadro 3

En este trabajo tan solo se define de manera breve la técnica por Cromatografía de Líquidos que se utilizó en el estudio.

#### Cromatografía Líquido - Sólido.

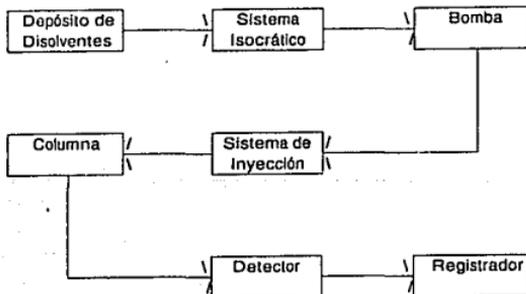
Esta técnica comúnmente llamada cromatografía de adsorción depende de la interacción específica del soluto con la superficie de la fase estacionaria compuesta de un adsorbente finamente dividido ( sílica gel, alúmina o carbón vegetal, etc.), en la que tanto las moléculas del soluto, como las de la fase móvil compiten por los sitios activos del adsorbente.

Para esta técnica, se considera que el parámetro de mayor importancia y que gobierna la separación de las moléculas de un compuesto, es la interacción soluto adsorbente que se genera en el interior de la columna. Dicha interacción, disminuye cuando la adsorción relativa de la fase móvil aumenta, provocando así una elución más rápida de la muestra a través de la columna.

La adsorción es una propiedad característica de ciertos grupos funcionales de los compuestos orgánicos, siendo muy útil en la separación de algunas sustancias de baja polaridad.

**Equipo.**

En la determinación analítica mediante la Cromatografía de Líquidos se han desarrollado una serie de instrumentos que se consideran como típicos para el uso de las distintas técnicas analíticas estudiadas. A continuación en el cuadro 4 se muestra un esquema de los componentes principales de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (5,44):

**CUADRO 4**

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, involucra la utilización de técnicas analíticas confiables las cuales son generadas por las compañías originadoras o por documentos oficiales, bien sea para empresas extranjeras o nacionales; sin embargo evaluar su grado de confiabilidad en las condiciones reales de cada laboratorio se hace preponderante, es decir, utilizando sus propios reactivos, equipos y analistas seguido de un razonamiento estadístico, lógico y veraz que permita evaluar su precisión, exactitud y linealidad, parámetros que constituyen la guía de validación de métodos analíticos.

Esto conduce a tener métodos analíticos confiables debidamente documentados, además de una reducción de tiempos.

#### IV. OBJETIVO.

Establecer un sistema confiable de revalidación para técnicas analíticas ya validadas para productos farmacéuticos evaluando la linealidad del sistema, precisión y exactitud de las diferentes técnicas analíticas de las siguientes formas farmacéuticas:

Sólidas: Tabletas

Tabletas recubiertas

Cápsulas

Líquidas: Suspensiones

Inyectables

Por otro lado, se realizará una comparación de los resultados obtenidos de la revalidación con la validación realizada por la casa matriz ( Bélgica ).

## V. HIPOTESIS.

Se tienen técnicas analíticas desarrolladas y validadas, algunas de casas matrices de empresas extranjeras o bien de documentos oficiales como Farmacopeas, sin embargo se realizan bajo condiciones externas de trabajo. Si dichas técnicas se revalidan bajo condiciones reales de análisis tales como personal, equipo y reactivos; y además cumplen los criterios de linealidad, exactitud y precisión entonces se podrán considerar confiables para cada laboratorio, que en particular lo trabaje.

## VI. MATERIAL Y METODOS.

### Material.

	Marca	Capacidad
Vasos de precipitado	Pyrex	100 y 250 ml
Matraces erlenmeyer	Pyrex	125 y 250 ml
Matraces volumétricos	Pyrex	10, 25, 50, 100, 200 ml 250, 500 y 1000 ml
Pipetas volumétricas	Pyrex	1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 y 50 ml
Pipetas graduadas	Pyrex	1, 5 y 10 ml
Probetas	Pyrex	25, 50 y 100 ml
Embudos de separación Tubos (viales)	Pyrex	125 ml
Embudos de filtración	Pyrex	5 cm de diámetro
Soporte Universal		
Porta embudos		
Espatulas de diferentes tamaños		
Microjeringas		10 mcl
Perillas de succión		
Papel Filtro Whatman		No. 40, 41 y 42

Embudo de Filtración	Millipore 250 ml
Matraz Kitasato	1000 ml
	Millipore
Membranas p/filtración	HA 0.45 micras y FG 0.5 micras Millipore
Porta filtro	
Jeringas de plástico	10 ml
Termómetro	- 10 a 110 C
Papel pH	escala 1-14

**Equipo.**

Balanza Analítica. Marca BECKEL, Modelo S-2000, sensibilidad 0.0001 g.

Espectrofotómetro UV-Visible Beckman DU70

Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución JASCO S800

Parrillas de agitación y calentamiento CORNING STIRRER

HOT PLATE.

Termo Balanza BRAINWEGH MB 301

Ultrasonic COLE PARMER 8850

Cronómetro

Equipo de filtración Millipore

**Reactivos.**

	<b>Grado.</b>
<b>Alcohol isopropílico</b>	<b>Analítico</b>
<b>Metanol</b>	<b>Analítico y Cromatográfico</b>
<b>Cloroformo</b>	<b>Analítico y Cromatográfico</b>
<b>Acetonitrilo</b>	<b>Cromatográfico</b>
<b>Eter Etilico</b>	<b>Analítico</b>
<b>Diisopropilamina</b>	<b>Cromatográfico</b>
<b>Dibutilftalato</b>	<b>Analítico</b>
<b>Acetato de Amonio</b>	<b>Analítico</b>
<b>Acido Sulfúrico</b>	<b>Analítico</b>
<b>Acido Clorhídrico</b>	<b>Analítico</b>

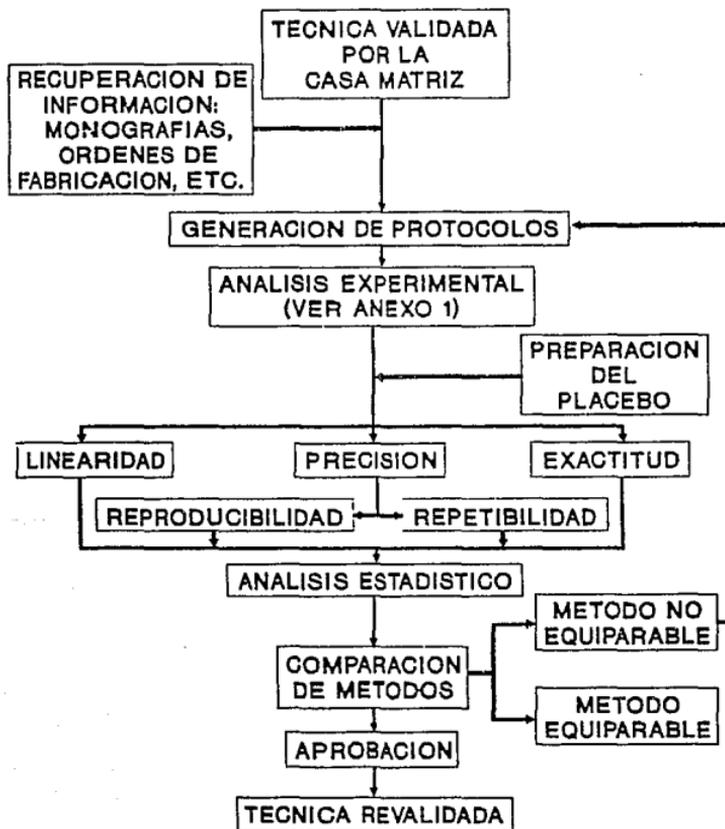
**Métodos.****Método de muestreo.**

Las muestras analizadas fueron tomadas al azar de productos aprobados del museo de muestras de retención.

**Método experimental.**

En el cuadro No. 5 se describe la secuencia del trabajo que se realizó para la revalidación de las Técnicas Analíticas.

## Metodología Propuesta para la Revalidación de Técnicas Analíticas



CUADRO 5

Dado que en el presente trabajo se manejó la revalidación de diferentes Técnicas Analíticas de cuantificación de principios activos, en distintas formas farmacéuticas usadas en el laboratorio de Control de Calidad, la metodología para cada una de ellas es muy particular, por lo que aquí sólo se presentará un esquema general de cada uno de los parámetros para la Revalidación ( ver Tabla I).

# TABLA I

## PLAN GENERAL DE VALIDACION

PARAMETRO ANALITICO EVALUADO	NIVELES DE CONCENTRACION	NUMERO DE MUESTRAS	NUMERO DE ANALISTAS
LINEARIDAD	25,50,75, 100,125 %	5 x 3*	1
PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	100 %	6 x 2**	2
EXACTITUD	95 - 105 %	10	5

NOTA\* = CINCO MUESTRAS POR TRIPLICADO POR CONCENTRACION.

NOTA\*\* = SEIS MUESTRAS POR DUPLICADO POR ANALISTA, EN DOS DIAS DIFERENTES.

F A = PRODUCTO ACTIVO.

F T = PRODUCTO TERMINADO.

**LINEARIDAD.**

Preparación de las soluciones del principio activo.

Se pesaron en forma cuantitativa  $X^*$  mg del estandar de referencia y se trataron según lo especificaba la monografía correspondiente. A partir de esta solución stock (A) se prepararon las diluciones para el estudio, con una concentración de 25,50,75,100 y 125% y aforando cada matraz con el disolvente especificado en cada monografía.

Cada concentración se preparó por triplicado. La solución estandar de referencia se preparó por duplicado a partir de una solución stock, en el caso de métodos cromatográficos se prepararon dos soluciones independientes.

**Determinación.**

La cuantificación del principio activo se llevó a cabo según lo indicado en la monografía correspondiente.

\* X : Son los miligramos necesarios, que al tomar alícuotas de la solución A se llevan a las concentraciones de 25,50,75, 100 y 125%.

**PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).**

Este parámetro se evaluó utilizando Producto Terminado.

**Forma****Farmacéutica****Cantidad**

Tabletas	No menos de 20 tabletas del mismo lote.
Cápsulas	No menos de 20 cápsulas del mismo lote.
Inyectables	20 ampolletas de cada inyectable, mismo lote.
Cremas	6 tubos de cada crema del mismo lote.
Suspensiones	3 frascos de cada suspensión del mismo lote.

**Preparación de la solución muestra.**

Se pesó con exactitud lo establecido para la forma farmacéutica analizada y se determinó el peso promedio (para la forma farmacéutica que aplicó) en mg. Se pesó o tomó una alicuota con lo equivalente al 100% del peso total del producto terminado. Realizando después un tratamiento y análisis requerido según lo especificó la monografía correspondiente.

Se prepararon seis soluciones muestra independientes por duplicado cada una de ellas, a partir de la última dilución.

#### Preparación de la solución estandar.

Se pesó con exactitud lo equivalente al 100% del principio activo, contenido en el producto terminado y se realizó la preparación como lo indicaba la monografía correspondiente.

Se prepararon dos soluciones estandar a partir de la última dilución, en el caso de métodos cromatográficos se prepararon dos estándares de pesadas independientes e inyectados por triplicado, o hasta obtener una desviación estandar menor al 1%.

#### Determinación

Se determinó la concentración de las soluciones muestra y estandar, como lo indicaba la monografía correspondiente.

Se repitió este procedimiento con dos análisis en dos días diferentes, usando el mismo lote de producto terminado.

**EXACTITUD Y PRECISION**

Se prepararon 10 muestras de concentración conocida de principio activo más placebo con un rango del 95 - 105%, por el Jefe de Control de Calidad o responsable de la validación.

Dos muestras de concentración diferente fueron entregadas a cada uno de cinco químicos analistas, los cuales desconocían la concentración teórica.

Los químicos llevaron a cabo el análisis de la muestra de acuerdo a la monografía correspondiente, realizándolo por duplicado a partir de la última dilución, siguiendo el procedimiento como se indicó en el apartado de reproducibilidad.

Los resultados se compararon contra la media obtenida de los dos estándares, preparados también por el mismo analista, se comparó la concentración experimental con la teórica.

En México, la guía de validación propone que la exactitud y la repetibilidad debe realizarse con 10 muestras al 100%, se decidió comparar la metodología de evaluación en Bélgica ( casa matriz ) y en México, de tal forma que a través del coeficiente de variación , se pueda observar si existen diferencias significativas entre ambas.

Por otra parte, en la tabla II se encuentran brevemente descritos los productos evaluados para la realización del presente trabajo.

**TABLA II**  
**GENERALIDADES DE PRODUCTOS REVALIDADOS**

PRINCIPIO ACTIVO	FAMILIA QUIMICA	FORMA FARMACEUTICA	ACCION FARMACOLOGICA
HCL FLUNARIZINA	PIPERAZINA	CAPSULAS 5 mg.	ACTIVA LA CIRCULACION SANGUINEA
TARTRATO DE KETANSERINA	QUINAZOLINODIONA	TABLETAS 40 mg.	CICATRIZANTE
HCL LOPERAMIDA	PIPERIDINAS	GRACEAS 2 mg.	ANTIDIARREICO
MEBENDAZOL	BENZIMIDAZOL	TABLETAS 100 mg. SUSPENSION 20 mg/ml	ANTIparasitario
FENFLURIDOL	PIPERIDINAS	TABLETAS 20 mg.	NEUROLEPTICO
HALOPERIDOL	PIPERIDINAS	SOLUCION INYECTABLE 5 mg/ml TABLETAS DE 10 mg.	NEUROLEPTICO
ETOMIDATE	IMIDAZOL	SOLUCION INYECTABLE 2 mg/ml	HIPNOTICO
HCL LEVAMIZOL	IMIDAZOL	TABLETA DE 50 mg.	ANTHELMINTICO
DROPERIDOL	BENZIMIDAZOL	SOLUCION INYECTABLE 2.5 mg/ml	NEUROLEPTICO
CINARIZINA	PIPERAZINA	TABLETAS DE 75 mg.	OXIGENADOR CEREBRAL
OXATOMIDE	BENZIMIDAZOL	TABLETAS DE 30 mg.	ANTIALERGICO
CISAPRIDE	PIPERIDINAS	TABLETAS DE 10 mg. TABLETAS DE 5 mg.	COORDINADOR DE LA MOTILIDAD
NITRATO DE MICONAZOL	IMIDAZOL	CREMA AL 2%	ANTIMICOTICO
ASTEMIZOL	BENZIMIDAZOL	TABLETAS DE 10 mg.	ANTIHISTAMINICO
KETOCONAZOL	PIPERAZINA	TABLETAS DE 200 mg.	ANTIMICOTICO
DOMPERIDONE	BENZIMIDAZOL	TABLETAS DE 10 mg.	ESTIMULADOR DEL MOVIMIENTO PERISTALTICO

## VII. RESULTADOS

## MEXICO

U <sub>i</sub>	X <sub>i</sub>	U <sub>i</sub> - X <sub>i</sub>	X <sub>i</sub> %	(X <sub>i</sub> % - X <sub>i</sub> %) <sup>2</sup>
100.00	101.79	- 1.79	101.1790	2.1001
105.08	105.67	- 0.59	100.5615	0.0487
97.46	96.30	1.16	98.8098	2.3441
102.54	100.21	2.33	97.7277	6.8283
103.39	106.60	- 3.21	103.1047	7.6393
96.61	98.43	- 1.82	101.8839	2.3810
95.76	96.75	- 0.99	101.0338	0.4803
101.00	99.06	1.94	98.0792	5.1149
95.76	96.32	- 0.56	100.5848	0.0595
101.69	101.52	0.17	99.8328	0.2580
-	-	-	-	-
X= 99.93	X=100.26	X=-0.336	X=100.341	X= 2.7254 27.2543

TABLA III. Resultados obtenidos de Exactitud y Precisión del Clorhidrato de Flunarizina, cápsulas de 5mg.

NUMERO DE DETERMINACIONES: 10

PORCIENTO DE RECOBRO: 100.3408%

PRECISION : 1.7402

NOTA. Cada una de las abreviaturas de la tabla se encuentran definidas en el Anexo 3.

## REPRODUCIBILIDAD

D I A

1 2

A N A L I S T A	$\bar{X}$ = 102.2667	102.35	102.00	$\bar{X}$ = 101.9833
	= 0.1835	102.20	102.20	= 0.2994
	CV = 0.1794	102.55	102.10	CV = 0.2936
		102.20	102.20	
		102.00	101.40	
		102.30	102.00	
		613.60	611.90	1225.50
		102.30	102.35	$\bar{X}$ = 102.1417
		101.90	102.20	= 0.3056
		101.60	102.25	CV = 0.2992
	102.00	102.45		
	101.65	102.00		
	102.85	101.60		
	612.30	612.85	1225.15	
	1225.90	1224.75	2450.655	

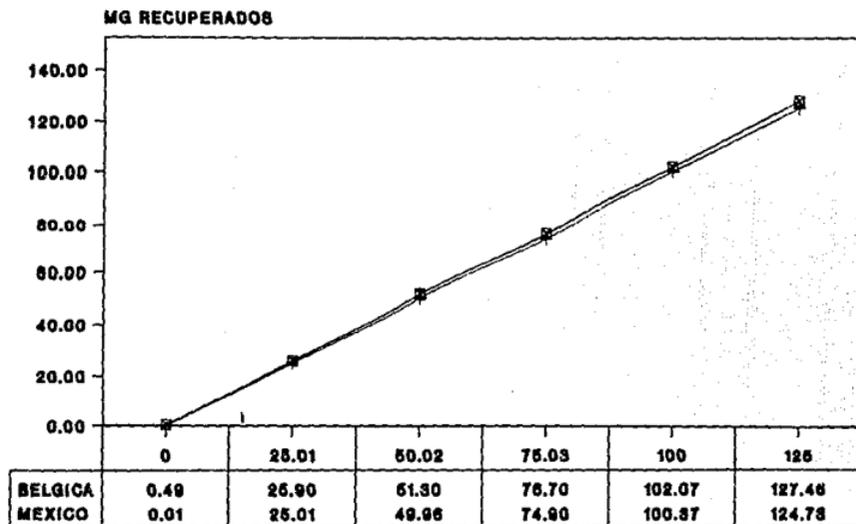
T A B L A D E A N A D E V A

FUENTE	g.l.	S.C.	M.C.	F.C.	F.T.	AREA DE ACEPTACION
Ai	1	0.0051	0.0051	0.0242	161.4	Fcal. Ai < F 0.95 No existe efecto por Ai
Dj	1	0.0551	0.0551	0.2611	161.4	Fcal. Dj < F 0.95 No existe efecto por Dj
Ai-Dj	1	0.2110	0.2110	1.9414	4.35	Fcal. Ai-Dj < F 0.95 No existe efecto por interacción Ai-Dj
E(ij)k	20	2.1737	0.1087	-----	-----	

TABLA IV. Resultados obtenidos de Reproducibilidad del Clorhidrato de Flunarizina, cápsulas de 5mg.

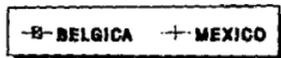
NOTA. El significado de cada uno de los parámetros de la tabla, se encuentra en el Anexo 4.

# COMPARACION LINEARIDAD HCL FLUNARIZINA BELGICA - MEXICO



**MG ADICIONADOS**

$m = 1.01871$   
 $b = 0.49524$   
 $r = 0.99969$   
**C.V. = 0.76688**



$m = 0.99959$   
 $b = 0.01073$   
 $r = 0.99994$   
**C.V. = 0.59027**

**GRAFICA 1**

## EXACTITUD Y PRECISION

U <sub>i</sub>	X <sub>i</sub>	U <sub>i</sub> - X <sub>i</sub>	X <sub>i</sub> %	(X <sub>i</sub> % - X̄%) <sup>2</sup>
98.00	96.317	1.683	98.2826	1.6950
99.50	101.007	- 1.507	101.5146	3.7249
100.50	101.500	- 1.000	100.9950	1.9894
101.00	100.950	0.050	99.9505	0.1339
104.00	101.828	2.172	97.9115	2.7990
105.50	104.912	0.588	99.4426	0.0201
101.50	101.071	0.429	99.5773	0.0001
96.00	95.566	0.434	99.5479	0.0013
98.03	97.881	0.149	99.8480	0.0694
101.84	100.593	1.247	98.7755	0.6545
-	-	-	-	-
X=100.59	X=100.16	X=0.4245	X= 99.584	X= 1.1088 11.0877

TABLA V. Resultados obtenidos de Exactitud y Precisión del Tartrato de Ketanserina, tabletas de 40 mg.

NUMERO DE DETERMINACIONES: 10

PORCIENTO DE RECOBRO: 99.5846%

PRECISION : 1.1099

## REPRODUCIBILIDAD

D I A

1 2

A N A L I S T A	$\bar{x}$ = 95.8017	1	95.84	95.22	$\bar{x}$ = 95.7567
	= 0.1440		95.62	96.51	= 0.5003
	CV = 0.1503		95.81	95.49	CV = 0.5225
			96.03	96.23	
			95.67	95.61	
			95.84	95.48	
			574.81		1149.35
			574.54		
	$\bar{x}$ = 95.3183	2	95.01	96.38	$\bar{x}$ = 95.6925
	= 0.2850		95.71	95.52	= 0.3769
CV = 0.2990	95.49		95.26	CV = 0.3939	
	95.49		95.67		
	95.16		95.57		
	95.05		95.74		
		571.91		1146.065	
		574.16			
		1146.72		2295.415	
		1148.69			

T A B L A D E A N A D E V A

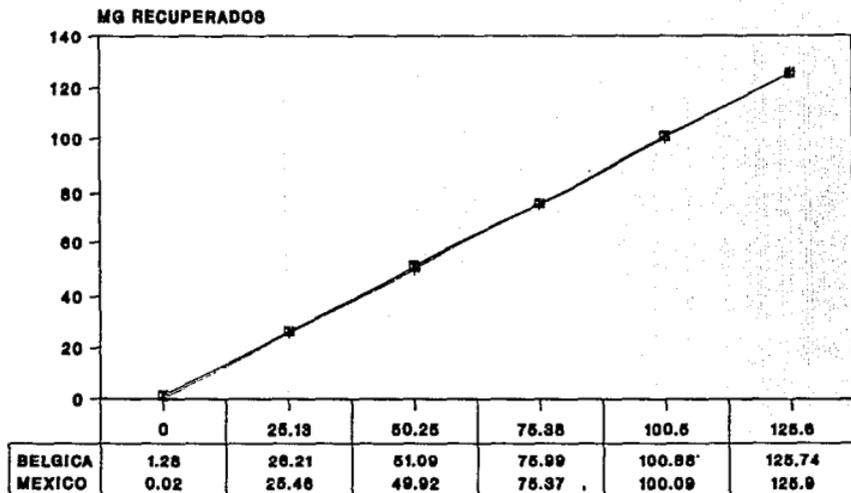
FUENTE	g.l.	S.C.	M.C.	F.C.	F.T.	AREA DE ACEPTACION
Ai	1	0.4497	0.4497	1.7073	161.4	Fcal.Ai < F 0.95 No existe efecto por Ai
Dj	1	0.1626	0.1626	0.6173	161.4	Fcal.Dj < F 0.95 No existe efecto por Dj
Ai-Dj	1	0.2634	0.2634	2.1315	4.35	Fcal. Ai-Dj < F 0.95 No existe efecto por interacción Ai - Dj
E(ij)k	20	2.4715	0.1236	-----	-----	

TABLA VI. Resultados obtenidos de Reproducibilidad

del Tartrato de Ketanserina, tabletas de 40 mg.

NOTA. Ver significado de los parámetros de la tabla en Anexo 4.

# COMPARACION LINEARIDAD T. KETANSERINA BELGICA - MEXICO



MG ADICIONADOS

$m = 0.99071$   
 $b = 1.31190$   
 $r = 0.99976$   
 C.V. = 0.56135

-■- BELGICA    + - MEXICO

$m = 0.99943$   
 $b = 0.02043$   
 $r = 0.99994$   
 C.V. = 0.94397

GRAFICA 2

## BELGICA

TARTRATO DE KETANSERINA EN TABLETAS DE 40 mg		CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA EN CAPSULAS DE 5 mg	
No. Muestra	% Recobro	No. Muestra	% Recobro
1	100.546	1	99.7
2	99.604	2	99.8
3	101.077	3	98.1
4	98.404	4	98.8
5	98.407	5	99.1
6	101.208	6	99.5
7	100.144	7	101.0
8	99.820	8	99.7
9	99.643	9	102.3
10	99.640	10	99.5
No. DE DETERMINACIONES : 10		No. DE DETERMINACIONES : 10	
% DE RECOBRO: 99.819		% DE RECOBRO: 99.8	
PRECISION: 0.959 (C.V.)		PRECISION: 1.2 (C.V.)	

**TABLA VII. Resultados de la Validación enviados por la casa matriz ( BELGICA ), de Exactitud y Precisión.**

A continuación se presentan los resultados obtenidos experimentalmente, de otros principios activos, cuyas técnicas fueron revalidadas y se les realizó el mismo tratamiento estadístico, de los cuales se reportan : exactitud, linealidad y precisión.

PRODUCTO		PARAMETROS EVALUADOS		
		Linealidad	Exactitud	Precisi6n
1. HCl Loperamida Grageas 2 mg	m = 0.9993	-	X= 101.2141	s= 1.5308
	b = 0.0223			
	r = 0.9999			
	CV = 0.5680			
2. Mebendazol Susp. 20 mg/ml	m = 0.9997	-	X= 100.8214	s= 0.9821
	b = 0.0083			
	r = 0.9999			
	CV = 0.8090			
3. Penfluridol tab. 20 mg	m = 0.9996	-	X= 101.0026	s= 0.8414
	b = 0.0133			
	r = 0.9999			
	CV = 0.2963			
4. Haloperidol sol. iny. 5 mg/ml	m = 0.9993	-	X= 99.9700	s= 0.7485
	b = 0.0278			
	r = 0.9999			
	CV = 0.5797			
5. Etomidate sol. iny. 2 mg/ml	m = 0.9995	-	X= 100.5175	s= 0.6999
	b = 0.0109			
	r = 0.9999			
	CV = 0.2709			
6. HCl Levamisol tab. 50 mg	m = 0.9994	-	X= 100.7766	s= 0.6038
	b = 0.0187			
	r = 0.9999			
	CV = 0.9485			

TABLE VIII. Resultados de otras técnicas Revalidadas  
( MEXICO ).



Linealidad	Exactitud
<p>Comparación de los métodos a través de la pendiente.</p> <p>t = 2.1098 0.975 t cal = 0.7604 gl = 17</p> <p>Regla Decisión:</p> <p>-2.1098 &lt; 0.7604 &lt; 2.1098</p> <p>La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos tienen pendientes equiparables.</p>	<p>Comparación de los métodos a través de las medias.</p> <p>t = 12.706 0.975 g.l. t cal = 2.9348 gl = 1</p> <p>Regla de Decisión:</p> <p>-12.706 &lt; 2.9348 &lt; 12.706</p> <p>La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a exactitud.</p>
Precisión	
<p>Comparación de los métodos a través de las desviaciones estandar.</p> <p>F cal = 1.0381 F = 4.03 0.975 gl = 9/9</p> <p>Regla de decisión:</p> <p>-4.03 &lt; 1.0381 &lt; 4.03</p> <p>La F calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.</p>	

TABLA IX. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto al Tartrato de Ketanserina, tab. de 40 mg.

Linealidad	Exactitud
<p>Comparación de los métodos a través de la pendiente.</p> <p><math>t = 2.1098</math>  <math>0.975</math>  <math>t = 1.0804</math>  <math>cal</math>  <math>gl = 17</math></p> <p>Regla Decisión:</p> <p><math>-2.1098 &lt; 1.0804 &lt; 2.1098</math></p> <p>La <math>t</math> calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos tienen pendientes equiparables.</p>	<p>Comparación de los métodos a través de las medias.</p> <p><math>t = 12.706</math>  <math>0.975</math>  <math>t = 0.8308</math>  <math>cal</math>  <math>gl = 1</math></p> <p>Regla de Decisión:</p> <p><math>-12.706 &lt; 0.8308 &lt; 12.706</math></p> <p>La <math>t</math> calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a exactitud.</p>
Precisión	
<p>Comparación de los métodos a través de las desviaciones estandar.</p> <p><math>F = 2.1029</math>  <math>cal</math>  <math>F = 4.03</math>  <math>0.975</math>  <math>gl = 9/9</math></p> <p>Regla de decisión:</p> <p><math>-4.03 &lt; 2.1029 &lt; 4.03</math></p> <p>La <math>F</math> calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.</p>	

TABLA X. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto al Clorhidrato de Flunarizina, cápsulas de 5mg.

PARAMETROS EVALUADOS MEXICO   BELGICA		COMPARACION DE METODOS
Linearidad		Linearidad
m= 0.9997 a= 0.0093 r= 0.9999 CV= 0.7885 s= 0.7895 2 s= 0.6233 n=15.0000	-----	----- Exactitud
Exactitud		Nivel de significancia 95%
- X=99.8043 s= 1.5942 2 s= 2.5416  n=10.0000	101.8565 1.6218  2.6302  10.0000	t = 12.706 0.975 t = 2.9348 cal  gl = 1  Regla de decisión: -12.706 < 2.9348 < 12.706  La t calculada no tiene efecto significativo, por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a exactitud.
Precisión		Precisión
s= 1.5900	1.6200	F = 1.0381 cal. F = 4.03 0.975  gl = 9/9  Regla de decisión: -4.03 < 1.0381 < 4.03  La F calculada no tiene efecto significativo, por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.

TABLA XI. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto a Haloperidol, tabletas de 5 mg.

PARAMETROS EVALUADOS MEXICO   BELGICA		COMPARACION DE METODOS
Linealidad		Linealidad
m= 0.9998 a= 0.0039 r= 0.9999 CV= 1.0800 s= 1.0846 2 s= 1.1764 n=15.0000	-----	----- Exactitud
Exactitud		Nivel de significancia 95%
- X=100.1938 s= 1.3625 2 s= 1.8565 n= 10.0000	99.9150 1.6160 2.6115 8.0000	t = 12.706 0.975 t = 0.4132 cal gl = 1 Regla de decisión: -12.706 < 0.4132 < 12.706 La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto exactitud.
Precisión		Precisión
s= 1.3625   1.6200		F = 1.4136 cal. F = 4.2 0.975 gl = 7/9 Regla de decisión: -4.2 < 1.4136 < 4.2 La F calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.

TABLA XII. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto a Domperidone, tabletas de 10 mg.

PARAMETROS EVALUADOS MEXICO		BELGICA	COMPARACION DE METODOS	
Linealidad			Linealidad	
m= 0.9993		-----	-----	
a= 0.0255			Exactitud	
r= 0.9999			-----	
CV= 0.7592			Nivel de significancia 95%	
s= 0.7580			t	= 12.706
2			0.975	
s= 0.5746			t	= 1.2006
n=15.0000			cal	
Exactitud			gl	= 1
-			Regla de decisión:	
X=99.9190	99.4632		-12.706 < 1.2006 < 12.706	
s= 0.7612	0.9858		La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto exactitud.	
2				
s= 0.5784	0.9710			
n=10.0000	10.0000			
Precisión			Precisión	
s= 0.7612	0.9900		F	= 1.6916
			cal.	
			F	= 4.03
			0.975	
			gl	= 9/9
			Regla de decisión:	
			-4.03 < 1.6916 < 4.03	
			La F calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.	

TABLA XIII. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto a Ketoconazol, tabletas de 200 mg.

PARAMETROS EVALUADOS MEXICO		BELGICA	COMPARACION DE METODOS	
Linealidad			Linealidad	
m= 0.9996		-----	-----	
a= 0.0135			Exactitud	
r= 0.9999			Nivel de significancia 95%	
CV= 0.8867			t	= 12.706
s= 0.8862			0.975	
2			t	= 0.5324
s= 0.7854			cal	
n=15.0000			gl	= 1
Exactitud			Regla de decisión:	
-			-12.706 < 0.5324 < 12.706	
X=100.2210	100.4907		La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto exactitud.	
s= 0.7963	1.4146			
2				
S= 0.6341	2.0012			
n= 10.0000	10.0000			
Precisión			Precisión	
s= 0.8107	1.4100		F	= 3.0245
			cal.	
			F	= 4.03
			0.975	
			gl	= 9/9
			Regla de decisión:	
			-4.03 < 3.0245 < 4.03	
			La F calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto a precisión.	

TABLA XIV. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto a Astemizol, tabletas de 10 mg.

PARAMETROS EVALUADOS MEXICO		BELGICA	COMPARACION DE METODOS	
Linealidad			Linealidad	
m= 0.9967		-----	-----	
a= 0.0666			Exactitud	
r= 0.9999			Nivel de significancia 95%	
CV= 0.3837			t = 12.706	
s= 0.3828			t <sub>0.975</sub> = 1.8625	
2			cal	
s= 0.1465			gl = 1	
n=15.0000			Regla de decisión:	
Exactitud			-12.706 < 1.8625 < 12.706	
-			La t calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos son equiparables en cuanto exactitud.	
X=99.7149	98.2760			
s= 1.3482	2.1600			
2				
s= 1.8177	4.6600			
n=10.0000	10.0000			
Precisión			Precisión	
s= 1.3482	2.1600		F = 2.5714	
			cal.	
			F = 4.03	
			t <sub>0.975</sub>	
			gl = 9/9	
			Regla de decisión:	
			-4.03 < 2.5714 < 4.03	
			La F calculada no tiene efecto significativo por lo tanto, los métodos equiparables en cuanto a precisión.	

TABLA XV. Resultados de la Comparación de Métodos, con respecto a Mebendazol, tabletas de 100 mg.

MEXICO	BELGICA
102.35	99.7
102.20	99.8
102.55	98.1
102.00	98.8
102.20	99.1
102.30	99.5
	101.0
	99.7
	102.3
	99.5
S = 0.1835	S = 1.1664
2	1
2	2
S = 0.0337	S = 1.3606
2	1
n = 6	n = 10
2	1
CV = 0.1794	CV = 1.20
2	1

TABLA XVI. Resultados de la Comparación de Métodos por Exactitud del Clorhidrato de Flunarizina.

HIPOTESIS A CONTRASTAR

$$H_0: CV = CV$$

$$1 \quad 2$$

$$H_a: CV = CV$$

$$1 \quad 2$$

## ESTADIGRAFO DE CONTRASTE

$$t_{cal} = 8.4068$$

$$S_p = 0.94037$$

$$g_l = 1$$

## DECISION ESTADISTICA

$$t_{0.975} = 12.706$$

$$- 12.706 \mu 8.40686 \mu 12.706$$

POR LO TANTO LOS METODOS SON EQUIPARABLES

EN CUANTO A EXACTITUD.

NOTA: PARA ANALIZAR TRATAMIENTO ESTADISTICO VER ANEXO 6.

# RESULTADOS OBTENIDOS DE LA EVALUACION DE DIFERENTES ANALISTAS A TRAVES DE GRAFICAS DE CONTROL DE ESTANDARES

## GRAFICA DE CONTROL DE ESTANDARES

**ESTANDAR: HCI FLUNARIZINA**

**No.DE LOTE: 89TS14-2 No.DE ANALISIS: 68889MAMZ**

**CONCENTRACION: 100.0398%**

DESV. ST.: 0.0342050

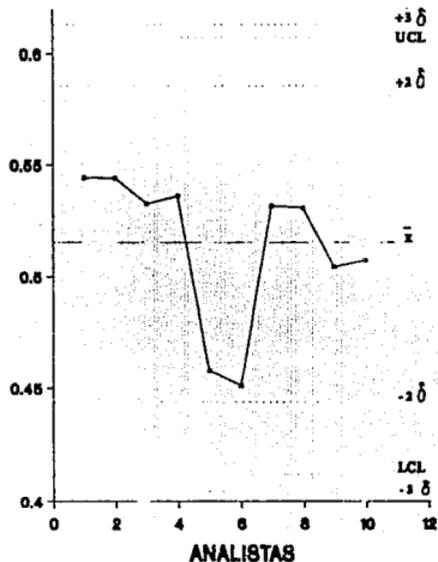
+2 sigma: 0.682620

-2 sigma: 0.446800

UCL: 0.611691

LCL: 0.416828

ANALISTA	ABSORBANCIA	CONCENTRACION
1. HMLP	0.5442	103.30
2. HMLP	0.5441	103.30
3. LMMM	0.5330	99.18
4. LMMM	0.5364	99.18
5. JRFA	0.4680	100.10
6. JRFA	0.4510	100.10
7. LVH	0.5320	99.19
8. LVH	0.5311	99.19
9. SEH	0.5046	100.00
10. SEH	0.5077	100.00
	X = 0.51421	X = 100.354



GRAFICA 3

MEXICO	BELGICA
95.84	100.546
95.62	99.604
95.81	101.077
96.03	98.404
95.67	98.407
95.84	101.208
	100.144
	99.820
	99.643
	99.640
S = 0.1440	S = 0.957
2	1
2	2
S = 0.0207	S = 0.916
2	1
n = 6	n = 10
2	1
CV = 0.1503	CV = 0.959
2	1

TABLA XVII. Resultados de la Comparación de Métodos por Exactitud del Tartrato de Ketanserina.

HIPOTESIS A CONTRASTAR

$$H_0: CV = CV$$

$$1 \quad 2$$

$$H_a: CV = CV$$

$$1 \quad 2$$

## ESTADIGRAFO DE CONTRASTE

$$t_{\text{cal}} = 2.0306$$

$$S_p = 0.7712$$

$$g_1 = 1$$

$$t_{0.975} = 12.706$$

## DECISION ESTADISTICA

$$- 12.706 \mu 2.0306 \mu 12.706$$

POR LO TANTO LOS METODOS SON EQUIPARABLES  
EN CUANTO A EXACTITUD.

NOTA: PARA ANALIZAR TRATAMIENTO ESTADISTICO VER ANEXO 6.

## CONTROL DE ESTANDARES

**ESTANDAR: TARTRATO DE KETANSERINA**

**No. DE LOTE: 4731 No. DE ANALISIS: 96989MAMZ**

**CONCENTRACION: 99.7836%**

DESV. ST.: 0.0160206

+2 sigma: 0.455371

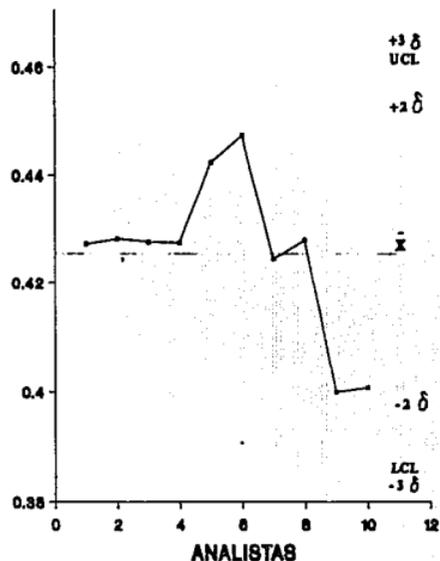
-2 sigma: 0.395289

UCL: 0.468093

LCL: 0.382687

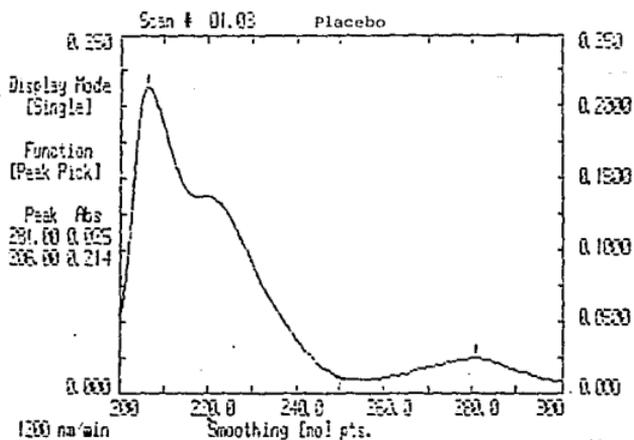
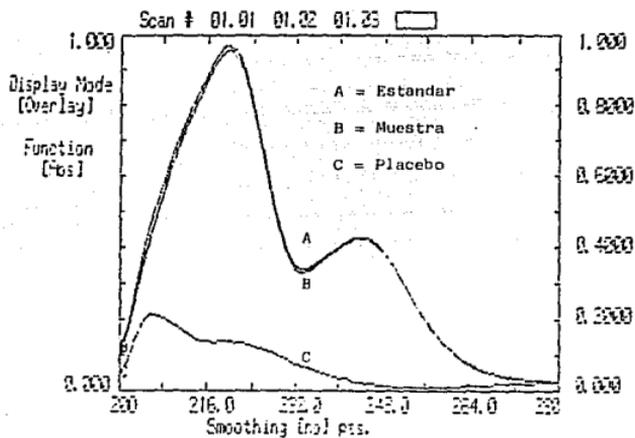
ANALISTA	ABSORBANCIA	CONCENTRACION
1. HMLP	0.4273	100.30
2. HMLP	0.4282	100.30
3. LVH	0.4276	100.80
4. LVH	0.4276	100.80
5. LMMM	0.4423	99.78
6. LMMM	0.4470	99.78
7. SEH	0.4246	100.10
8. SEH	0.4280	100.10
9. MLCR	0.4000	99.78
10. MLCR	0.4008	99.78
	X = 0.42633	X = 100.162

## GRAFICA DE CONTROL DE ESTANDARES



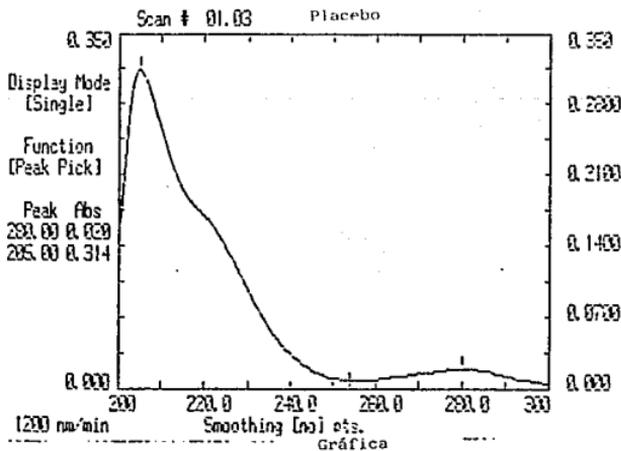
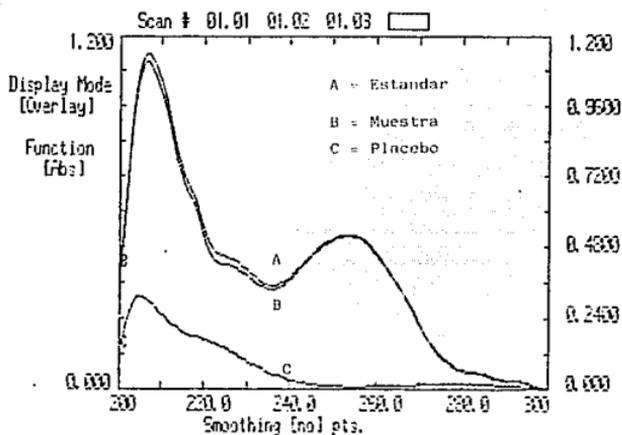
**GRAFICA 4**

# GRAFICAS DE ABSORBANCIA DEL TARTRATO DE KETANSERINA



Gráfica

## GRAFICAS DE ABSORBANCIA DEL CLORHIDRATO DE FLUNARIZINA



## DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente trabajo se manejaron experimentalmente 21 productos en las siguientes formas farmacéuticas: sólidos, líquidos y semisólidos ( como se puede apreciar en la tabla II ), sin embargo, para los fines de éste, se tomaron dos productos para realizar el análisis estadístico de la revalidación, debido a que los resultados de validación ( realizados por la casa matriz), son confidenciales y no se proporcionaron los datos de linealidad de los productos restantes, por lo que éstos solo se realizó la comparación de los parámetros de exactitud y precisión.

Con respecto a la parte experimental, se debe tomar en cuenta que, para evitar errores sistemáticos, el material de vidrio tiene que estar calibrado y evitar el error de alicuota.

Además, algo que es significativo en las pruebas realizadas y que se comentará en primer término es el efecto de la variable analista, esto se pudo comprobar mediante gráficas de control de estándares (ver gráfica 3 y 4). Se oservó que ésta variable a veces tenía más del 50 % de efecto sobre el éxito del análisis; otra observación que se encontró fue que no es lo mismo pesar un un principio activo que otro, por lo cual, se debe conocer

a la molécula con la que se está trabajando, ya que esto influirá radicalmente en el análisis realizado, aunque se tengan controladas las demás variables involucradas.

Pasando a la prueba de exactitud, fué de gran utilidad la realización de las gráficas de control de estándares, ya que como se utilizó un ciego, es decir, los cinco analistas involucrados desconocían la concentración de cada muestra, por lo que cuando existían variaciones significativas; es decir, porcentos de recobro muy alejados del porcentaje real, se podía detectar donde posiblemente estaba la fuente de error. Como se puede observar en las tablas III, IV y VIII los % de recobro son muy cercanos al 100 %, aun con la variable de los 5 analistas, obteniéndose un coeficiente de variación menor al 2 %, por lo que esta dentro de los criterios de aceptación establecidos ( ver anexo 2 ), al igual que los resultados obtenidos en Bélgica ( Tabla VII ).

Por otro lado, en los resultados que se encuentran en las tablas IV y VI con respecto al parámetro de reproducibilidad demostró que no existe interacción entre analistas, ni entre el día, resultando ser técnicas analíticas reproducibles.

Observando las gráficas 1 y 2 con respecto a la linealidad fueron satisfactorios, ya que todas sus variables se encontraron dentro de los criterios de aceptación establecidos.

Como una medida de comprobación, la especificidad se evaluó de manera indirecta, ya que en alguna parte del análisis se realizaron barridos en un rango del espectro que contenía la longitud de onda máxima en la que absorbe el principio activo, comparando el mismo con el de la muestra del estandar ( ver grafica 5 y 6).

Por último, al realizar la comparación estadística de la revalidación y la validación ( realizada por la casa matriz), se encontró que existe equiparabilidad tanto en la linealidad, exactitud y precisión. Por lo que se puede afirmar que con la evaluación de estos tres parámetros se considera que los métodos han sido validados.

## CONCLUSIONES

Al realizar la validación de las técnicas analíticas de los 21 productos, en diferentes formas farmacéuticas, se encontró que las técnicas son confiables, además de realizarse de una manera rápida y sencilla.

Con respecto a la comparación estadística de las dos validaciones se encontró que son equiparables en cuanto a precisión, exactitud y linealidad por lo que:

- 1) Se estableció que para técnicas analíticas que ya habían sido validadas en la casa matriz y que no presenten cambios críticos al utilizarse en la filial, se consideraran validadas si al determinar los parámetros de linealidad, exactitud y precisión, estos cumplen los criterios de aceptación establecidos.
- 2) Así mismo se estableció que para técnicas analíticas desarrolladas en la filial y para técnicas que presenten cambios críticos, es necesario evaluar todos los parámetros que marcan los documentos oficiales.

Por último, se puede concluir que se cumplió el objetivo planteado, ya que se comprobó que la metodología establecida en un inicio, para la revalidación de las Técnicas Analíticas, ya validadas, es confiable.

## X. BIBLIOGRAFIA

1. British Standards Institution. Precision of Test Methods  
BS 54997 Part 1: 1974.
2. Box, G.E.P. and Hunter W. "Statics for Experimenters".  
John Wiley & Sons, Inc. N.Y. 1978.
3. Colegio Nacional de Q. F. B. México A. C.  
Requisitos Mínimos para la Validación de Métodos  
Analíticos. 1992.
4. Comité de Redacción de Guías Generales de Validación.  
"Proyecto de Norma Técnica que establece las Guías  
Generales de Validación". pp.16.
5. Conlon, R.D. "Introducción a la Cromatografía Líquida  
Práctica". Ed. Perkin Elmer, 1980.
6. Detapharm Information Services, Guideline for  
Submitting Sample Division of Interpharm Press".  
Inc. 1989.
7. Formulation Report Janssen, Bélgica 1988, ( Tartrato de  
Ketanserina Tabletetas 40 mg) ANR-AA 88-5 (880518) R-49945.
8. Formulation Report Janssen, Bélgica 1978, ( Haloperidol  
Tabletetas 5 mg.), No. 537-2 (780224) R-1625.
9. Formulation Report Janssen Belgica 1980, ( Ketoconazol  
Tabletetas 200 mg), No. 646-1 (800205) R-43512.
10. Formulation Report Janssen, Belgica 1989, ( Astemizol  
Tabletetas 10 mg. ) No. 89-8 (890201) R-43512.
11. Formulation Report Janssen, Bélgica 1984, ( Domperidone  
Tabletetas 10 mg.) No. 700-1 (840626).

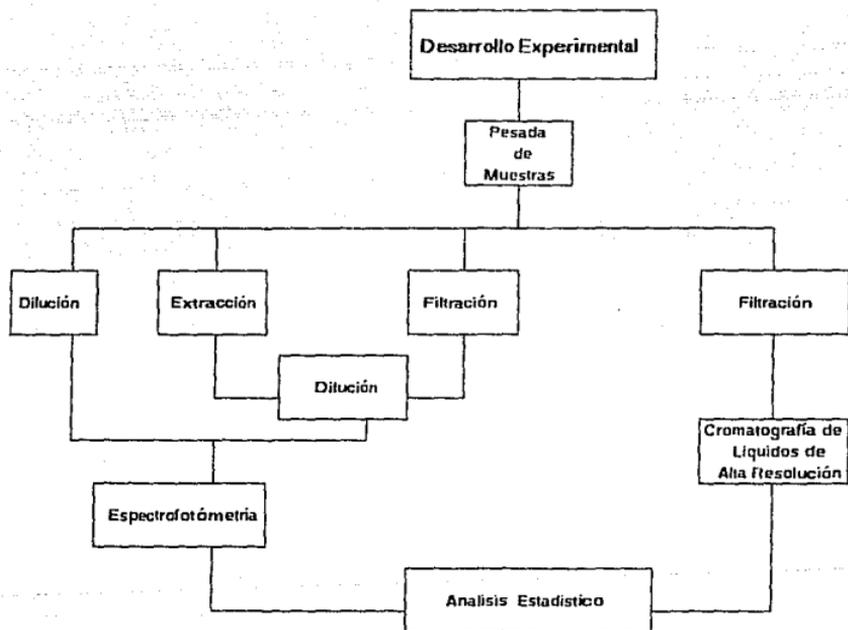
12. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( Flunarizina cápsulas 5 mg. ) No. 89-47 (890602) R-14950.
13. Formulation Report Janssen Bélgica 1977, ( Cinarizina cápsulas 150 mg), No. 624 (770427) R-516.
14. Formulation Report Janssen Bélgica 1977, ( Cinarizina Tabletas 75 mg.) No. 624 (770427) R-516.
15. Formulation Report Janssen Bélgica 1979, ( Mebendazol Suspensión 20 mg/ml) No. 674 (790115) R-17635.
16. Formulation Report Janssen Bélgica 1986, ( Penfluridol Tabletas 20 mg. ) No. 716-1 (860908).
17. Formulation Report Janssen Bélgica 1987, ( Haloperidol sol. Iny. 5 mg/ml ) No. 644-2 (871130) R-1625.
18. Formulation Report Janssen Bélgica 1990, ( Etomidate sol. Iny. 2 mg/ml) No. 90-4 (900215) R-16659.
19. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( HCl Levamisol Tabletas 50 mg) No. 89-64 (890929) R-12564.
20. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( Droperidol sol. Iny. 2.5 mg/ml ), NO. ANR-AA-89-11 (890207).
21. Formulation Report Janssen Bélgica 1985, ( Oxatamide Tabletas 30 mg ) No. 615-2 (850117).
22. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( Cisapride Tabletas 5 mg ) No. 89-44 (890427) R-51619.
23. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( Cisapride Tabletas 10 mg ), No. 89-43 (890427) R-51619.
24. Formulation Report Janssen Bélgica 1983, ( Haloperidol Tabletas 10 mg) No. 696-1 (890426) R-1625.

25. Formulation Report Janssen Bélgica 1989, ( Mebendazol  
Tabletas 100 mg ) No. 88-66 (890109).
26. Fontani, F. et al. "Criterio de Validación del Método de  
Análisis". Boll. Chim. Farm. Vol. 126 Núm. 2 Feb. 1987. pp.  
66-74
27. Guerra, J. " Validation of Analytical Methods by FDA  
Laboratoris ". Pharmaceutical Technology, Vol, (4) 1986;  
pp. 74-84.
28. Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico  
CIPAM. Monografía Técnica 2. México, 1984.
29. Guía de Procedimientos Adecuados de Manufactura  
Farmacéutica CIPAM". Segunda Edición. 1986.
30. Guidelines for the Analytical Validation of HPLC  
Methods Pharmacopeial Forum. Mar-Apr. 1983. pp. 2789-  
2797.
31. Janssen Farmacéutica S. A. de C. V. " Validation of  
Classical Methods of Analysis for Finished Product".  
International Pharmaceutical Quality Control. ADI 88-3  
(880427) pp. 11.
32. Kieffer, R. Por qué Validar ? S.A.F. y BI; Vol. 25; No.  
67; 1985.
33. Loftus, B. T. and Nash, R. A. " Pharmaceutical Process  
Validation". Ed. Marcel Dekker. New York. 1984. pp. 286.
34. Memorias del Taller de Validación. Canifarma. 1990
35. Memorias del I Taller de Validación. Asociación Farmacéutica  
Mexicana. 1989.

36. Pasteelnick, L. et al. "Analytical Methods Validation. Pharmaceutical Process Validation". Ed. Marcel Dekker. Inc. Vol. 23; Cap. 9. pp. 251 - 277. 39.
37. Pharmacopeial Forum. (1225)." Validation of Compendial Assays Guidelines". The States Pharmacopeial Convention Inc. 19.
38. Skoog, D.A. y West, D.M. " Análisis Instrumental ". Ed. Interamericana. México; 1982; pp. 718.
39. Sneinin, E. B. " Laboratory Evaluation of Proposet NDA Analytical Methodology Pharmaceutical" Technology. 1986. pp. 83 - 95.
40. Spiegel, R. "Estadística". McGraw - Hill. Inc. México; 1975.
41. Stability Report Janssen (HCl Loperamida grageas 2mg), No. S-139 (810715) R-18553.
42. Stability Report Janssen ( Nitrato de Miconazol crema 2% ) No. ST-LC-83-19 (830809) R-14889.
43. Taylor, J. "Validation of Analytical Methods". Analytical Chemistry. May 1983; pp. 600 A - 608 A.
44. The Perkin Elmer Corporation Chromatography Division. "Principios de la Cromatografía". ( MS-150 ) Norwalk. USA; 1981.
45. USP XXII. Validation of Compendial Methods ( 1225 ). pp. 1710-1712.
46. Vanderwielen, A. J. et al. " Guidelines for Assay Validation". Pharmaceutical Technology. 1982. pp. 66-76.

47. Watty, B.M. "Química Analítica". Ed. Alhambra Mexicana. México. 1982; pp. 640.
48. Jiménez, V.E. "Un Acercamiento a la Validación de los Métodos Analíticos". PHARMA NEWS. VOL.1 (5). NOV. 90.

## ANEXO I



## ANEXO 2

## CRITERIOS DE ACEPTACION

LINEARIDAD:  $CV < 1.0\%$ ,  $r = 0.99$ ,  $m \text{ aprox.} = 1$ ,  $b \text{ aprox.} = 0$

PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO : % RECOBRO CV

Soluciones, tabletas y cápsulas 98 - 102 < 2%

Suspensiones y semisólidos 97 - 103 < 3%

Métodos por Cromatografía de

Líquidos de Alta Resolución 98 - 102 < 2%

## REPRODUCIBILIDAD

CV < 3% (Precisión total)

Métodos por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución:

CV < 2%

## ANEXO 3

## FORMULAS PARA EVALUAR LA EXACTITUD DE LOS METODOS ANALITICOS

Conforme a la tabla que se encuentra en el apartado de resultados, se presenta a continuación el significado de cada una de las siglas:

$u_i$  = cantidad de principio activo teórico, en mg.

$X_i$  = cantidad de principio activo experimental, en mg.

$u_i - X_i$  = exactitud.

$$\bar{X} \% = \frac{X_i}{u_i} \times 100$$

$$\bar{X} \% = \frac{X_i}{n}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i \% - \bar{X} \%)^2}{n - 1}}$$

$\bar{X} \%$  = Recobro

s = Precisión

n = número de determinaciones.

## ANEXO 4

FORMULAS PARA EVALUAR LA PRECISION DE LOS METODOS  
ANALITICOS

## REPRODUCIBILIDAD

Se siguió un modelo de análisis de varianza para dos factores aleatorios, el cual se muestra a continuación:

$$Y_{ijk} = A_i + D_j + A - D_{ij} + E_{(ij)k}$$

Simbología:

- $Y_{ijk}$  = Porcentaje cuantificado por el  $i$ -ésimo analista en el  $j$ -ésimo día de la  $k$ -ésima repetición.
- $A_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo analista sobre el porcentaje cuantificado.
- $D_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo día sobre el porcentaje cuantificado.
- $K$  = Repeticiones.
- $A - D_{ij}$  = Efecto debido a la interacción analista - día.
- $E_{ijk}$  = Error experimental.

## INFERENCIAS:

## a) Efecto por día (D)&gt;

Si  $F_{\text{cal D}} < F_{0.95}$  con gl D/ gl AD

Entonces no existe efecto por día.

## b) Efecto por aAnalista (A)&gt;

Si  $F_{\text{cal A}} < F_{0.95}$  con gl A/ gl AD .

Entonces no existe efecto por analista.

## c) Efecto por la interacción analista- día (AD)

Si  $F_{\text{cal AD}} < F_{0.95}$  con gl AD/ gl Error

Entonces no existe efecto por la interacción analista día.

Los tres criterios anteriores deben cumplirse para poder asegurar que un método analítico es reproducible.

La tabla siguiente muestra el análisis de varianza de la reproducibilidad de un método:

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA (ANADEVA)

Fuente de Variación	G.L.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F calculada
ANALISTA A i	a-1	$\begin{array}{r} 2 \quad 2 \\ Y \quad Y... \\ i.. \\ \hline bc \quad abc \end{array}$	$\frac{SC}{A} / a-1$	$\frac{MC}{A} / \frac{MC}{AD}$
DIA D j	b-1	$\begin{array}{r} 2 \quad 2 \\ Y \quad Y... \\ .j. \\ \hline ac \quad abc \end{array}$	$\frac{SC}{D} / b-1$	$\frac{MC}{D} / \frac{MC}{AD}$
ANALISTA-DIA A - D i - j	(a-1) (b-1)	$\begin{array}{r} 2 \quad 2 \\ Y \quad Y... \\ ij. \\ \hline c \quad bc \\ \\ 2 \quad 2 \\ Y \quad Y... \\ .j. \\ \hline ac \quad + \quad abc \end{array}$	$\frac{SC}{AD} / \frac{(a-1)}{(b-1)}$	$\frac{MC}{AD} / \frac{MC}{error}$
ERROR EXPERIMENTAL E (ij) k	ab (c-1)	$\begin{array}{r} 2 \\ Y \quad - \quad Y \\ ijk \quad ij. \\ \hline c \end{array}$	$\frac{SC}{E} / ab / (c-1)$	-----

## ANEXO 5

## FORMULAS PARA CALCULAR LA LINEARIDAD

$$y = mx + b$$

$$m = \frac{n * \sum xy - \sum x \sum y}{n * \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{\sum y - m * \sum x}{n}$$

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100$$

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

donde:

m = pendiente

b = ordenada al origen

x = cantidad adicionada

y = cantidad recuperada

CV = Coeficiente de variación

r = Coeficiente de correlación

n = número de determinaciones

s = Desviación estandar de los porcentajes de recobro

$\bar{x}$  = Media de los porcentajes de recobro

## ANEXO 6

## FORMULAS PARA EVALUAR LA COMPARACION DE METODOS ANALITICOS

## A. Comparación de la Precisión (repetibilidad).

- Hipótesis a Contrastar.

$$H_0: F = F$$

$$1 \quad 2$$

$$H_a: F = F$$

$$1 \quad 2$$

- Estadígrafo de contraste.

$$F_{cal} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

$$gl = \frac{n_1 - 1}{n_2 - 1}$$

- Decisión Estadística.

$$F < 0.025 \quad \text{cal} < F < 0.975$$

Si esto se cumple los métodos pueden considerarse equiparables en cuanto a repetibilidad.

## B. Comparación a través de Exactitud.

## - Hipótesis a Contrastar

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

## - Estadígrafo de Contraste

$$t_{\text{cal}} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 2) s_2^2}{(n_1 + n_2) - 2}}$$

$$gl = \frac{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}{\frac{s_1^2}{n_1 + 1} + \frac{s_2^2}{n_2 + 1}}$$

- Decisión Estadística.

$$t_{0.025} < t_{cal} < t_{0.975}$$

Si lo anterior se cumple, se dice que los Métodos son equiparables en cuanto a Exactitud.

C. Comparación de la Linearidad a través de la Pendiente.

- Hipótesis a Contrastar.

$$H_0: B_1 = B_2$$

$$H_a: B_1 \neq B_2$$

- Estadígrafo de Contraste.

$$t_{cal} = \frac{B_1 - B_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

$$= \frac{B_1 - B_2}{\sqrt{\frac{\frac{\sum y_1^2}{n_1} - \frac{(\sum y_1)^2}{n_1}}{n_1 - 2} + \frac{\frac{\sum y_2^2}{n_2} - \frac{(\sum y_2)^2}{n_2}}{n_2 - 2}}}$$

$$gl = (n_1 - 2) + (n_2 - 2)$$

- Decisión Estadística.

$$t_{0.025} < t_{cal} < t_{0.975}$$

Si esto se cumple, se dice que los Métodos tienen Pendientes equiparables.