



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS  
IMPLEMENTADO PARA EL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE  
CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL EN UNA SOLUCIÓN INYECTABLE.

T E S I S

*QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE*

**QUÍMICO FARMACÉUTICO  
BIÓLOGO**

P R E S E N T A

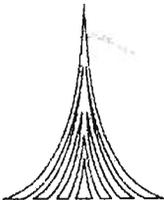
*MOISES FRANCO VIGIL*

DIRECTOR DE TESIS: Q.F.B. MARCIANA ESTRADA GONZÁLEZ

ASESOR DE TESIS: Q. MA. TERESA MENDOZA MATA

MEXICO, D. F.

2005



m 342807



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

CARRERA QUÍMICA FARMACÉUTICO  
BIOLÓGICA

ASUNTO: SINODALES

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, ha nombrado como Sinodales del Examen Profesional del señor:

FRANCO VIGIL MOISES

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Se les agradece el haber revisado el trabajo escrito intitulado: Protocolo para Validación de Métodos Analíticos Implementado para el Análisis Cromatográfico de Cuantificación de Iopamidol en una Solución Inyectable.

Y asistir en la fecha al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE	Q. MA. TERESA MENDOZA MATA
VOCAL *	Q.F.B. MARCIANA ESTRADA GONZÁLEZ
SECRETARIO	Q.F.B. LETICIA CECILIA JUÁREZ
SUPLENTE	Q.F.B. GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ
SUPLENTE	Q.F.B. GABRIEL ALEJANDRO ROMERO DÍAZ

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
I. MARCO TEÓRICO .....	3
A. Calidad .....	3
B. Generalidades de la validación de métodos analíticos .....	6
C. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución .....	8
D. Iopamidol .....	10
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	13
III. OBJETIVOS .....	14
IV. HIPÓTESIS .....	15
V. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	16
A. Tipo de estudio .....	16
B. Método .....	16
C. Diagrama de flujo .....	17
VI. RESULTADOS.....	18
A. Protocolo para validación de métodos analíticos .....	19
B. Protocolo para validación del método analítico para cuantificación de iopamidol. ....	20
C. Reporte para la validación del método analítico para cuantificación de iopamidol. ....	21
VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	22
VIII. CONCLUSIONES .....	23
IX. REFERENCIAS .....	24

## **RESUMEN**

En este trabajo se muestra el protocolo general de validación de métodos analíticos generado para su uso respectivo en el laboratorio de Control de Calidad de un laboratorio farmacéutico (Bonaplast S.A. de C.V.), en el cual se establecen los lineamientos generales para llevar a cabo el proceso de validación de los métodos analíticos, así como la forma de realizar el reporte, además se presenta la implementación de este protocolo para el análisis cromatográfico de cuantificación de iopamidol en una solución inyectable (Solucont 300).

## INTRODUCCIÓN

En el ámbito internacional hay una incorporación cada vez más estricta de regulación, por ende se vuelve necesario que los laboratorios cuenten con un sistema de calidad que soporte los procesos, equipos y métodos analíticos, que sea capaz de reducir errores en las fases pre-analítica, analítica y post-analítica.<sup>1</sup>

En el sector privado, a pesar de la crisis económica que se vive actualmente, tiene el creciente interés y necesidad de una mejora de calidad, debido a factores como el aumento de competencia y la presión por parte de la Secretaría de Salud para demostrar el nivel de calidad con el que está operando.

La Organización Internacional de Estandarización (ISO), define como calidad a la totalidad de características de un organismo (proceso, producto, persona u organización) que hacen referencia a su capacidad de satisfacer necesidades explícitas.<sup>2</sup>

La meta de una empresa, es conseguir la excelencia mediante un sistema de calidad en todos los niveles de actividad, pudiéndose decir que la calidad es la satisfacción de las expectativas del cliente. Los métodos analíticos son un sistema crítico en el Aseguramiento de Calidad en una empresa farmacéutica, ya que impactan de manera directa en la calidad de un producto.

Bonaplast S.A. de C.V., es un laboratorio farmacéutico que se ha dedicado a la maquila desde el año 1999, y a fabricar medicamentos propios desde el 2004, tanto como para el sector público como al sector salud, por lo anterior es necesario, entre otros aspectos, contar con métodos analíticos validados, para lo cual se requiere implementar un protocolo de validación para métodos analíticos y así garantizar que las validaciones sean realizadas bajo aseguramiento de Calidad.

# I. MARCO TEÓRICO

## A. Calidad

El Control de la Calidad se establece como una estrategia para asegurar el mejoramiento continuo de la calidad, es un programa para asegurar la continua satisfacción de los clientes externos e internos mediante el desarrollo permanente de la calidad del producto y sus servicios, es un concepto que involucra la orientación de la organización a la calidad manifestada en la calidad de sus productos, servicios, desarrollo de su personal y contribución al bienestar general.

La definición de una estrategia, asegura que la organización está haciendo las cosas que debe hacer, para lograr sus objetivos. La definición de su sistema es determinar si está haciendo estas cosas correctamente.

La calidad de los procesos, se mide por el grado de adecuación de éstos a lograr la satisfacción de sus clientes (internos o externos). Esto implica la definición de requerimientos del cliente o consumidor, los métodos de medición y estándares contra que comparar la calidad.

Los individuos, son el componente que refleja finalmente la calidad de la organización y los procesos. Este componente debe poseer calidad de vida para reflejar la calidad en su trabajo.

En relación con el producto (servicio) se debe cumplir con lo siguiente: <sup>2</sup>

- **Diseño:** éste se inicia con la investigación de los requerimientos del consumidor, el grado de satisfacción que le proveen los actuales productos y servicios, y finaliza con una definición de los requerimientos futuros del cliente.
- **Conformidad:** es la medida en la que el proceso sea capaz de reproducir consistentemente los requerimientos del usuario (traducido en una especificación).
- **Desempeño:** se determina mediante encuestas, investigación y visitas a usuarios, permite conocer cuál es el comportamiento real del producto en el servicio y el grado real de satisfacción del consumidor.

Calidad, se define como el cumplimiento de especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso. La calidad de un medicamento está determinada por su identidad, pureza, contenido o potencia y cualesquiera otras propiedades químicas, físicas, biológicas o del proceso de fabricación que influyen en su aptitud para producir el efecto para el cual se destina. <sup>3</sup>

Trabajar bajo aseguramiento de la calidad significa, en la práctica, introducir cinco disciplinas básicas en la organización: <sup>4</sup>

- Decir lo que se hace: se tiene que documentar el compromiso con la calidad, los procesos, actividades y tareas con incidencia en ella y comunicarlos a todo el personal de la empresa. La experiencia demuestra que si no se puede describir claramente el trabajo, difícilmente se puede mejorarlo de forma consistente.
- Hacer lo que se dice: la política y los procedimientos de trabajos no se documentan para que descansen en una repisa y se cubran de polvo, se deben utilizar como referencia día tras día; se debe trabajar tal y como se ha dicho que se hace.
- Registrar lo que se hizo: los registros de los resultados de las distintas operaciones permiten reconstruir la historia de un proceso, producto o servicio, examinar la calidad de ejecución e identificar las causas de los problemas.
- Verificar: el siguiente paso es acudir de forma periódica y sistemática a esos mismos registros para comparar lo que dicen con los objetivos. ¿Se están alcanzando? Y si no, ¿por qué?
- Actuar sobre la diferencia: cuando se detecta un problema, existente o potencial, se debe actuar sobre él. Investigar las causas y registrar el resultado de la investigación. Adoptar medidas para solucionarlo y para evitar que se vuelva a repetir y comprobar la eficacia de las medidas.

La herramienta más conocida de gestión de la calidad es la familia de las ISO 9000, que se ha convertido en un elemento indispensable para las empresas a la hora de alcanzar nuevos mercados y mejorar sus procesos productivos, haciéndolos más rentables y eficaces. La obtención de las ISO supone un prestigio añadido para la empresa. <sup>2</sup>

Se ha destacado, que no existe en la historia de la normalización una norma de tan amplia aceptación, lo que supone hablar un lenguaje común como referencia a la Calidad en un ámbito mundial facilitando las actividades de certificación y el intercambio internacional de productos. En la actualidad, se habla de 250 000 empresas certificadas en el mundo utilizando dicha norma, es decir, utilizando un lenguaje común, que cada día los mercados imponen más. <sup>2</sup>

Existe un conjunto de actividades planeadas y sistematizadas que lleva a cabo una empresa, con el objeto de brindar la confianza, de que un producto o servicio cumple con los requisitos de calidad especificados, a lo que se llama aseguramiento de calidad; éste utiliza herramientas, entre las cuales están. <sup>4</sup>

- Sistema de documentación.
- Sistema de control de cambios.
- Manejo de desviaciones.
- Programa de calibración.
- Capacitación.
- Auditorías.
- Revisión anual de producto.
- Validación.

La calidad de un producto, inicia desde la elección adecuada de materias primas y materiales, diseño apropiado del producto, controles en proceso y las pruebas para el producto a granel y terminado.

Se requiere contar con una cultura y filosofía de trabajo en el cual se consideren los siguientes puntos:<sup>2</sup>

- Un producto se considera adulterado si no se siguen las buenas prácticas de fabricación (BPF) durante su proceso, sin importar la calidad final del mismo.
- La documentación en forma completa, veraz, clara, oportuna y rastreable es la única evidencia histórica que puede demostrar que el producto se fabricó cumpliendo las BPF.
- Cada empresa debe establecer sus propios procedimientos y controles de acuerdo a la naturaleza de sus productos.
- La calidad de los productos debe estar basada en programas que apoyen la operación de manufactura.

En la situación actual, se justifica la validación como una herramienta para optimizar los procesos.

Un protocolo, es un conjunto de instrucciones por escrito cuyo alcance es mayor que el de un procedimiento de operación normalizado (PNO). Los PNO son las instrucciones detalladas por escrito para efectuar procedimientos que se efectúan normalmente en el curso de cualquiera de las actividades relacionadas con la fabricación de productos farmacéuticos. Por otra parte, un protocolo describe los detalles de un estudio integral planificado para investigar el funcionamiento uniforme de un nuevo sistema/equipo, un nuevo procedimiento o la aceptabilidad de un nuevo proceso antes de ejecutarlo. Los protocolos incluyen antecedentes importantes, explican el fundamento lógico y el objetivo del estudio, ofrecen una descripción completa de los procedimientos que habrán de seguirse, fijan los parámetros que habrán de medirse, describen como se analizarán los resultados y facilitan criterios de aceptación determinados con anterioridad para extraer las conclusiones. Los estudios de validación, los estudios de estabilidad y los estudios clínicos son ejemplos de protocolos escritos para la industria farmacéutica. Los protocolos de validación son importantes para asegurar que se recaben pruebas documentadas a fin de demostrar que un equipo, un sistema, un proceso o un método se desempeñan uniformemente en conformidad con el nivel especificado.<sup>5</sup>

## B. Generalidades de la validación de métodos analíticos

### 1. Importancia de la validación de un método analítico

La Validación es un procedimiento para proveer evidencia objetiva respecto de un método analítico, que permita determinar que tiene las características de desempeño que le permitan cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas.<sup>1</sup>

Así, la finalidad de las actividades de validación tienen como base y objetivo la satisfacción de las necesidades del cliente y la adecuación para realizar los ensayos previstos. Por tanto, el laboratorio debe confirmar que puede aplicar correctamente los métodos, sean normalizados o no, previo a su uso en análisis o calibraciones. Del mismo modo, cualquier variación sobre un método ya validado, implica la repetición de dicha confirmación.

Se deduce entonces que la actividad de validación, en cualquier laboratorio, es una actividad programada y a la que se le asignan recursos suficientes para lograr el fin.

### 2. Definiciones<sup>1</sup>

- a. **Adecuabilidad del sistema.** Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera en base de criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados en un método analítico.
- b. **Analito.** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.
- c. **Precisión.** Grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales, cuando el se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.
- d. **Linealidad.** Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo considerado.
- e. **Especificidad.** Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros de la muestra.
- f. **Exactitud.** Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.
- g. **Estabilidad analítica de la muestra.** Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado a condiciones específicas.
- h. **Precisión intermedia.** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

### 3. Parámetros de desempeño <sup>1</sup>

En función de la aplicación analítica de un método, la tabla 1 indica los parámetros de desempeño a estudiar.

Tabla 1. Relación de parámetro de desempeño con la aplicación analítica.

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA/ VALORACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		CONTENIDO/ VALORACIÓN	LÍMITE	
PRECISIÓN/ ADECUABILIDAD DEL SISTEMA	SI	SI	SI	*
LINEALIDAD DEL SISTEMA	SI	SI	NO	NO
ESPECIFICIDAD <sup>1</sup>	SI <sup>3</sup>	SI	SI	SI
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD	SI	SI	NO	NO
LINEALIDAD DEL MÉTODO	SI	SI	NO	NO
PRECISIÓN DEL MÉTODO O PRECISIÓN INTERMEDIA <sup>2</sup>	SI	SI	NO	NO
ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA <sup>2</sup>	*	*	NO	NO
LÍMITE DE DETECCIÓN	NO	NO	SI	NO
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	NO	SI	NO	NO
ROBUSTEZ	*	*	*	NO
TOLERANCIA	*	*	*	NO

\* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método

1. La falta de especificidad de un método analítico, puede ser compensada por otra alternativa analítica de soporte, como por ejemplo cromatografía de capa fina.
2. También es definido como un estudio de tolerancia.
3. Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico o a los otros componentes de la muestra.

## C. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución

### 1. Principios teóricos

El objetivo de la separación analítica puede ser caracterizado por la optimización de las condiciones de elusión, empaque de la columna y la configuración de la columna.

Las variables que constituyen las condiciones de elusión son la composición del eluyente, el perfil de elusión (Isocrático, gradiente lineal, gradiente en etapas), la velocidad de flujo y la temperatura.

Las variables del material de empaque de la columna determinan el modo de separación, la fase enlazada (Bonded Phase), Recubrimiento (End Capping), tamaño de partícula, tamaño de poro, carga o cantidad de carbón y área de superficie. Las variables en la configuración de la columna son la longitud, diámetro interno, y el material de construcción (Acero inoxidable, plástico y polieteretercetona (PEEK)).

Frecuentemente la experimentación es la mejor manera para determinar el conjunto de variables o parámetros óptimos. Sin embargo, modelos teóricos han sido desarrollados para ayudarnos en el desarrollo de la separación.

En el modelo teórico, los factores que afectan la separación se encuentran divididos en factores químicos conocidos como la selectividad ( $\alpha$ ) y el factor de capacidad ( $k'$ ) y los factores físicos conocidos como la eficiencia o número de platos teóricos ( $N$ )<sup>6</sup>:

- Selectividad: la selectividad es una medida del tiempo de retención relativo de dos componentes en una mezcla. La selectividad de la columna es una función del material de empaque de la columna y de las condiciones de elusión.
- Factor de capacidad: es una medida de cómo la molécula de la muestra es retenida por la columna durante una separación isocrática. El factor de capacidad es afectado por el material de empaque de la columna y las condiciones de elusión.
- Eficiencia de la columna: el número de platos teóricos es una medida de la eficiencia del sistema completo de CLAR. Típicamente la contribución del volumen muerto del sistema es relativamente pequeña con respecto a una columna analítica estándar de 300 mm X 3.9 mm. Cuando la longitud y el diámetro interno de la columna se reduce, la contribución del instrumento se convierte significativa. Así que, se emplean columnas de dimensiones pequeñas el instrumento necesita ser optimizado para obtener los resultados esperados.
- La interrelación exacta entre los factores químicos y físicos se encuentra descrita en una serie de ecuaciones. Las ecuaciones pueden ser usadas a lo largo del desarrollo del experimento para obtener una óptima separación.

## 2. Equipo (componentes)

a. **Estructura general de un HPLC.** En la figura 1 se muestra las partes que conforman la estructura analítica de un cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución.<sup>7</sup>

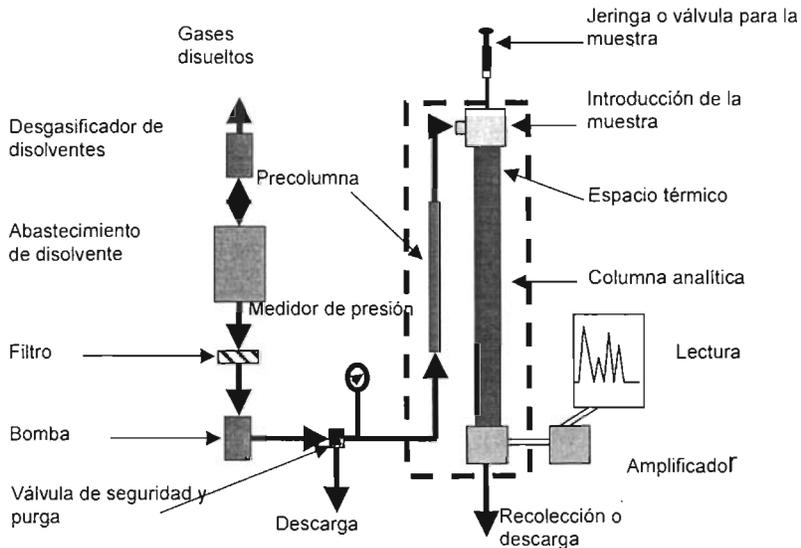


Figura 1. Estructura general de un HPLC.

### b. Accesorios del sistema de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución

- Fase estacionaria: Todos los tipos de cromatografía pueden realizarse en el modo de alta resolución. Un soporte común es el de partículas microporosas de sílice con diámetro de 5 a 10  $\mu\text{m}$ .
- Disolventes: Los disolventes utilizados deben ser muy puros, se puede utilizar un solo disolvente (elección isocrática), se puede cambiar un solo disolvente por otro luego de un tiempo apropiado o se puede cambiar continuamente de composición del disolvente (elección por gradiente).<sup>9</sup>
- Bombas: La calidad de una bomba es determinada por el grado de estabilidad y reproducibilidad del flujo que genera, se trabaja hasta 10 mL/min a presiones hasta de 400 atm. La bomba debe producir presiones estables hasta 400 atm, mantener el flujo libre de pulsaciones, generar intervalos de caudales de flujo (0,1 a 10 mL/min), control y reproducibilidad del flujo de disolvente y los componentes de la bomba deben ser resistentes a la corrosión.<sup>6</sup>
- Válvula de inyección.
- Detector ultravioleta. Es el detector más utilizado, porque muchos solutos absorben dicha radiación y es bastante sensible a ella, el sistema más simple emplea la emisión a 254 nm de una lámpara de mercurio y detección a una sola longitud de onda. También, se utilizan una lámpara de deuterio y un monocromador para

mediciones a longitud de onda variable, el intervalo lineal comprende cinco órdenes de magnitud de concentración de soluto.<sup>10, 11.</sup>

- Celda de flujo de 0,5 cm de camino óptico y 10  $\mu\text{L}$  de capacidad.

#### D. Iopamidol

##### 1. Propiedades físicas y químicas<sup>12</sup>

a. **Nombres.** (S)-N,N'-Bis[2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil] 2,4,6 triiodo -5-isoftalamida; (S)-N,N'-Bis-[2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]-5-[(2-hidroxi-1-oxopropil)amino]-2,4,6-triiodo-1,3-benzenodicarboxamida; iomapidol; B-15000; SQ-13396; iopamiro; iopamiron; isovue; jopamiro; Niopam; solustrast.

b. **Fórmula condensada.**  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_8$ .

c. **Peso Molecular.** 777,09 g/mol.

d. **Fórmula estructural.** La estructura se muestra en la figura 2.

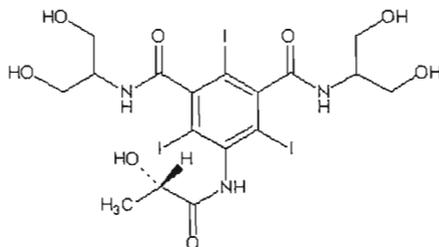


Figura 2. Estructura del Iopamidol.

e. **Solubilidad.** Muy soluble en agua y metanol, prácticamente insoluble en cloroformo.

f. **Apariencia.** Polvo sólido cristalino estable, blanco.

g. **Temperatura de fusión.** Descompone a 300°C.

## 2. Propiedades biológicas <sup>13</sup>

- a. **Indicaciones terapéuticas:** Mielografía, cisternografía y ventriculografía, todas las exploraciones angiográficas y urográficas y para realzar el contraste en la tomografía axial computarizada. Además en la representación de cavidades orgánicas (por ejemplo, artrografía, fistulografía, vesiculografía, colangio-pancreatografía por endoscopia retrógrada).
- b. **Farmacocinética y farmacología en humanos:** El comportamiento farmacocinético del iopamidol es muy semejante al de los demás medios de contraste iónicos y no iónicos de eliminación renal. El medio de contraste, se distribuye en los compartimentos vascular e intersticial del organismo con un tiempo de vida media de unos 10 minutos. Con excepción de la tiroides, no se produce ninguna concentración en los distintos órganos. La acumulación en el tejido tiroideo se observa con todos los medios de contraste yodados y se atribuye a la pequeña cantidad de yoduros administrada junto con el medio de contraste. Iopamidol no penetra a través de la barrera hemato-encefálica intacta. La eliminación renal tiene lugar casi exclusivamente por los glomérulos. Por el hígado, se elimina solamente de 0.2 a 0.6%.
- c. **Contraindicaciones:** Hipertiroidismo manifiesto, durante el embarazo o en presencia de procesos inflamatorios agudos en la cavidad pélvica no deben efectuarse histerosalpingografías.
- d. **Reacciones secundarias y adversas:** Los trastornos subjetivos más frecuentes son cefaleas, náuseas y vómitos. Efectos secundarios de menor importancia son aturdimiento, dolores o intensificación de los ya existentes en la espalda, nuca o extremidades. En casos aislados, puede aparecer confusión mental pasajera, alucinaciones, así como alteraciones no específicas, transitorias.
- e. **Interacciones medicamentosas y de otro género:** Después de haber administrado medios de contraste yodados de eliminación renal, la capacidad del tejido tiroideo para la captación de los isótopos radiactivos empleados en el diagnóstico del tiroides queda reducida hasta 2 semanas y, en casos aislados, incluso más. Las reacciones de hipersensibilidad pueden ser agravadas en pacientes tratados con bloqueadores. La frecuencia de reacciones de efecto retardado (por ejemplo, fiebre, enrojecimiento, síntomas gripales, dolor articular y prurito) en el uso de medios de contraste es más alta en pacientes que reciben interleucina.

#### f. Dosis y vías de administración:

En la tabla 2 se muestra la dosis dependiendo de cada método de exploración y concentración de solucont.

Tabla 2. Dosis por vía de administración de Solucont (iopamidol)

Método de Exploración	Concentración de Solucont (mg de yodo/mL)	Dosis (mL)
Espacio subaracnoideo Mielorradioculografía	300	5-10
Cisternografía y Centriculografía	300	3-10
Aortografía torácica	300-370	50-80
Aortografía abdominal	300-370	50-80
Arteriografía periférica	300-370	30-50
Arteriografía selectiva	300-370	Según el vaso
Flebografía	300	30-50
Arteriografía cerebral	300	5-10
Coronariografía	370	8-15
Ventriculografía	370	40-70
Urografía intravenosa (adultos)	300 370	50-100 30-50
Niños hasta 8 Kg de peso corporal	300 370	3-5 mL/Kg 2-4 mL/Kg
Niños de mas de 8 Kg de peso corporal	300 370	1-2 mL/Kg 1-1.5 mL/Kg
Tomografía Axil Comp. (TAC)	300-370	0.5-2 mL/Kg

#### 3. Presentaciones comerciales.

- Solucont solución inyectable 300 mg de iodo/mL y 370 mg de iodo/mL, frascos con 20, 50, 100, 200 y 500 mL.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una parte importante en la estructura del sistema de calidad son los protocolos, los cuales indican los lineamientos para llevar a cabo un proceso, como es el caso de la validación de métodos analíticos y como en el laboratorio de control de calidad en Bonaplast, S.A. de C.V. no se cuenta con un protocolo para la validación de sus métodos analíticos, se generará uno, el cual se fundamenta en guías internacionales como la guía ICH para validación de métodos analíticos y la guía OMS, con el objeto de cumplir con las disposiciones regulatorias que se establecen en la NOM-059-SSA1-1993, y así se garantice que el proceso de validación para los métodos analíticos de los productos se realice correctamente, asegurando la calidad de éstos.

Además, este protocolo se implementará para el análisis cromatográfico de cuantificación de iopamidol en una solución inyectable, por HPLC, para demostrar la funcionalidad de éste.

### **III. OBJETIVOS**

- Elaborar un protocolo que establezca los pasos necesarios para validar los métodos analíticos de productos en un laboratorio farmacéutico (Bonaplast S.A. de C.V.)
- Establecer los lineamientos generales y criterios de aceptación necesarios para la validación de métodos analíticos.
- Implementar el protocolo de validación de métodos analíticos en la técnica para cuantificación de iopamidol por HPLC en un medio de contraste.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Si se genera un protocolo de validación de los métodos analíticos que se trabajan en el laboratorio farmacéutico (Bonaplast, S.A. de C.V.), éste se podrá aplicar a la cuantificación de iopamidol presente en el Solucont300 por medio de la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución y así se asegurará la calidad del producto.

## V. DISEÑO EXPERIMENTAL.

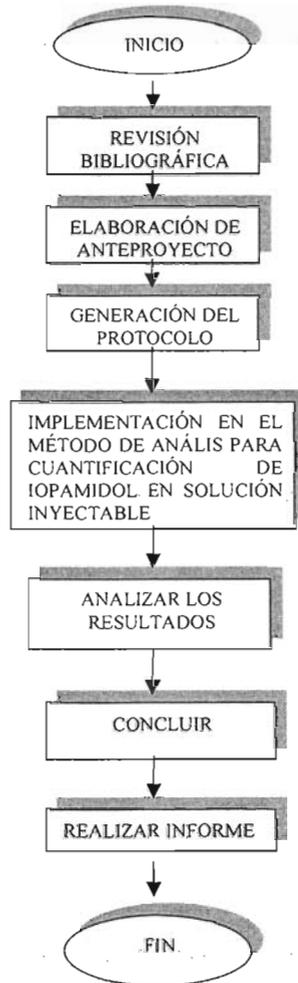
### A. Tipo de estudio.

- Descriptivo: se establece una descripción de los pasos que se requieren para desarrollar e implementar un protocolo de validación de métodos analíticos en Bonaplast S.A. de C.V.
- Experimental: se implementa el protocolo de validación de métodos analíticos en la técnica de cuantificación de iopamidol en una solución inyectable.

### B. Método.

- Se efectúa una revisión de las guías vigentes y bibliografía relacionada a protocolos de validación de Métodos analíticos.
- Se establece un formato en el que se incluye: nombre del establecimiento, paginación, código del protocolo, nombre del protocolo, quien elabora, quien aprueba en el departamento, y aprobación por la Gerencia de Control de Calidad, incluyendo firmas y fechas.
- Carátula: donde se incluye nombre de protocolo.
- Índice: donde se localiza rápidamente cada punto del protocolo.
- Objetivo. Se hace una clara indicación de la utilidad.
- Alcance. se involucra a personal y métodos analíticos a los que aplica.
- Responsabilidades. el deber del personal capacitado, jefe de área y al Gerente de Control de Calidad.
- Se indica el conjunto de conceptos que se utilizan, para homogenizar criterios.
- Se incluye una sección de símbolos y abreviaturas.
- Parámetros de desempeño: una relación de los parámetros de desempeño en relación al tipo de método analítico.
- Procedimiento: pasos para realizar cada parámetro de desempeño, criterios de aceptación, fórmulas para realizar los cálculos.
- Se establece el formato de reporte de los métodos analíticos, incluyendo condiciones de análisis, materiales, equipo, reactivos, procedimiento aplicado al método analítico por cada parámetro aplicable, resultados (en los formatos establecidos), análisis de resultados, conclusiones, referencias y anexar respaldo analítico.
- Se implementa el protocolo en el análisis cromatográfico de cuantificación de iopamidol en una solución inyectable.

### C. Diagrama de flujo



## VI. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos, los cuales se dividen en tres secciones:

- A. Protocolo para validación de métodos analíticos.
- B. Protocolo para validación del método analítico para cuantificación de iopamidol.
- C. Reporte de la validación del método analítico para cuantificación de iopamidol.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A. Protocolo para validación de métodos analíticos.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 1 de 53

<b>Realizó:</b>	<b>Revisó:</b>
Analista Químico	Coordinadora de Control de Calidad
Q.F.B. M. Franco V.	Q.F.B. K. Ampudia S.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

El protocolo siguiente ha sido revisado y es aprobado para su ejecución:

<b>Autorizó:</b>	<b>Autorizó:</b>
Química en Desarrollo	Responsable Sanitario
Q.F.B. L. Pérez I.	Q.F.B. M. Estrada G.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 2 de 53

# PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1º		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 3 de 53

**ÍNDICE**

1.	Objetivos .....	4
2.	Alcance .....	4
3.	Responsabilidades .....	4
4.	Definiciones .....	4
5.	Símbolos y abreviaturas .....	7
6.	Parámetros de desempeño .....	9
7.	Determinaciones, metodología y criterios de aceptación .....	10
8.	Formatos para registro de resultados .....	19
9.	Documentación .....	20
10.	Formato para realizar el reporte de la validación de un método analítico .....	21
11.	Referencias .....	22
12.	Anexos .....	23
13.	Control de cambios .....	52
14.	Control de copias distribuidas .....	52
15.	Hoja de registro de capacitación en el protocolo .....	53

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<i>TÍTULO:</i>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 4 de 53

**1. OBJETIVOS:**

- 1.1. Demostrar mediante un estudio de laboratorio que las características funcionales de un método analítico lo hacen adecuado para la aplicación analítica prevista.
- 1.2. Registrar la información y los datos necesarios para establecer las especificaciones de operatividad de la cuantificación.

**2. ALCANCE:**

- 2.1. Debe efectuarse en los métodos nuevos o con los actualmente utilizados (cuando se hagan cambios del equipo, el procedimiento, las condiciones de laboratorio, etc.). Todo el equipo utilizado habrá de calificarse antes de realizar la validación de un método analítico para los productos de Bonaplast.

**3. RESPONSABILIDADES:**

- 3.1. Es responsabilidad del Químico analista, llevar a cabo este protocolo tal y como está escrito.
- 3.2. Es responsabilidad del Coordinador de Control de Calidad verificar la correcta aplicación de este protocolo
- 3.3. Es responsabilidad del Gerente de Control de Calidad y Responsable Sanitario emitir, revisar y aprobar el presente protocolo y documentos relacionados con la validación de los métodos analíticos.
- 3.4. Es responsabilidad del Gerente de Control de Calidad y Responsable Sanitario documentar cualquier cambio que se genere en las validaciones de acuerdo al procedimiento de cambios.
- 3.5. Es responsabilidad del Gerente de Control de Calidad y Responsable Sanitario de actualizar este protocolo.

**4. DEFINICIONES.**

- 4.1. **Adecuabilidad del sistema.-** Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera a base de criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados en un método analítico.
- 4.2. **Analito.-** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.
- 4.3. **Calibración.-** Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.
- 4.4. **Documentación.-** Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 5 de 53

- 4.5. **Especificaciones.**- Descripción del material, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.
- 4.6. **Especificidad.**- Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.
- 4.7. **Estudio colaborativo.**- Reproducibilidad realizada en distintos laboratorios, por diferentes químicos..
- 4.8. **Exactitud.**- Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.
- 4.9. **Estabilidad analítica de la muestra.**- Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado a condiciones específicas.
- 4.10. **Intervalo.**- Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.
- 4.11. **Límite de cuantificación.**- Concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.
- 4.12. **Límite de detección.**- Concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.
- 4.13. **Linealidad.**- Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.
- 4.14. **Metodología de prueba.**- Procedimiento o grupo de procedimientos, para determinar si un producto o materia prima cumple con las especificaciones establecidas.
- 4.15. **Método analítico.**- Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben de cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.
- 4.16. **Método analítico desarrollado internamente.**- Método desarrollado por el propio laboratorio.
- 4.17. **Método analítico indicativo de estabilidad.**- Método cuantitativo capaz de detectar variaciones en las propiedades del material evaluado, debidas a las condiciones de almacenaje.
- 4.18. **Método analítico oficial.**- Método que aparece en la literatura oficial reconocida.
- 4.19. **Método analítico no oficial.**- Método que no aparece en literatura oficial reconocida.
- 4.20. **Muestra.**- Porción del material a evaluar.
- 4.21. **Muestra analítica.**- Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.
- 4.22. **Muestra adicional.**- Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas de la analito.
- 4.23. **Parámetros de desempeño.**- Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.
- 4.24. **Placebo analítico.**- Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 6 de 53

- 4.25. Placebo adicionado.-** Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.
- 4.26. Precisión.-** Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.
- 4.27. Precisión intermedia.-** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.
- 4.28. Proporcionalidad.-** Relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.
- 4.29. Protocolo de validación.-** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.
- 4.30. Recobro.-** Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico.
- 4.31. Repetibilidad.-** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método.
- 4.32. Reproducibilidad.-** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.
- 4.33. Revalidación.-** Comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño cuando existen cambios en la composición del producto, en el método analítico, o cambios críticos en los procesos de fabricación.
- 4.34. Robustez.-** Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.
- 4.35. Sustancias de referencia.-** Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.
- 4.36. Sustancia de referencia primaria.-** Sustancia que es designada o reconocida por tener la más alta calidad metrológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.
- 4.37. Sustancia de referencia secundaria.-** Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación de una sustancia de referencia primaria, o bien, cuando es certificada mediante un procedimiento científicamente reconocido.
- 4.38. Tolerancia.-** Reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como pueden ser: equipos, columnas. La robustez y la tolerancia son conceptos diferentes, ya que el primero se refiere a la influencia de factores internos del método, mientras que la tolerancia, se refiere a factores externos al método.
- 4.39. Validación del método analítico.-** Proceso por el cual se demuestra por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 7 de 53

## 5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en este protocolo se haga referencia de los siguientes símbolos o abreviaturas, se entenderá:

AS	Authentic Substance.
$b_1$	Pendiente.
$b_{11}$	Pendiente del método 1.
$b_{12}$	Pendiente del método 2.
$b_0$	Ordenada al origen.
$b_{01}$	Ordenada al origen del método 1.
$b_{02}$	Ordenada al origen del método 2.
BP	British Pharmacopoeia.
BPF	Buenas prácticas de fabricación.
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución.
COSUFAR	Comité de Sustancias Farmacéuticas de Referencia.
CV	Coefficiente de variación.
$CV_{y/x}$	Coefficiente de variación de regresión.
$ d $	Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial.
$F_{0.975,gl}$	Valor de la distribución F de Fisher asociado a una confianza del 97.5% y a grados de libertad (gl) establecidos.
$F_{0.05,gl}$	Valor de la distribución F de Fisher asociado a una confianza del 5% y a grados de libertad (gl) establecidos.
$F_{0.025,gl}$	Valor de la distribución F de Fisher asociado a una confianza del 2.5% y a grados de libertad (gl) establecidos.
FCC	Food Chemical Codex.
FDA	Food and Drug Administration.
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
g	Gramos.
gl	Grados de libertad.
$IC(\beta_1)$	Intervalo de confianza para la pendiente poblacional.
$IC(\beta_{11}-\beta_{12})$	Intervalo de confianza para la diferencia de 2 pendientes poblacionales.
$IC(\beta_0)$	Intervalo de confianza para la ordenada al origen poblacional.
$IC(\beta_{01}-\beta_{02})$	Intervalo de confianza para la diferencia de 2 ordenadas al origen poblacionales.
$IC(\mu)$	Intervalo de confianza para la media poblacional.
$IC(\mu_1-\mu_2)$	Intervalo de confianza para la diferencia de 2 medias poblacionales.
$K'$	Factor de capacidad.
LC	Límite de cuantificación.
LD	Límite de detección.
LGS	Ley General de Salud.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 8 de 53

LNSP	Laboratorio Nacional de Salud Pública.
mg	Miligramos.
n	Número de mediciones, recobros, blancos, muestras o determinaciones.
$n_0$	Número de muestras del análisis inicial.
$n_1$	Número de mediciones del método 1.
$n_2$	Número de mediciones del método 2.
N	Número de platos teóricos.
NF	National Formulary.
NIST	National Institute of Standard and Technology.
NOM	Norma Oficial Mexicana.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PNO	Procedimiento Normalizado de Operación.
ppm	Partes por millón.
R	Resolución.
$r^2$	Coefficiente de determinación.
Rr	Retención relativa.
S	Desviación estándar.
$S_b$	Desviación estándar de los blancos.
$S_{b0}$	Desviación estándar de la ordenada al origen.
$S_{b01-b02}$	Desviación estándar para la diferencia de 2 ordenadas al origen.
$S_{b1}$	Desviación estándar de la pendiente.
$S_{b11-b12}$	Desviación estándar para la diferencia de 2 pendientes.
$S^2$	Varianza.
$S^2_1$	Varianza del método 1.
$S^2_2$	Varianza del método 2.
$\sigma^2$	Varianza poblacional.
$\sigma^2_2 / \sigma^2_1$	Razón de 2 varianzas poblacionales.
Sref	Sustancia de referencia.
SSA	Secretaría de Salud.
$S_{y/x}$	Desviación estándar de regresión.
T	Factor de coeio.
$t_{0.975, gl}$	Valor de la distribución t de student asociado a una confianza del 97.5% y a grados de libertad (gl) establecidos.
USP	United States Pharmacopoeia.
USPC	United States Pharmacopoeia Committe.
VMA	Validación de métodos analíticos.
x	Media aritmética de x.
y	Media aritmética de y.
$y_0$	Media aritmética del análisis inicial.
$y_1$	Media aritmética de cada condición de almacenaje.
%	Porcentaje o porciento.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 9 de 53

## 6. Parámetros de desempeño.

En función de la aplicación analítica de un método, la tabla 1 indica los parámetros de desempeño a estudiar.

Tabla 1. Relación de parámetro de desempeño para la aplicación analítica.

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA/ VALORACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		CONTENIDO/ VALORACIÓN	LÍMITE	
PRECISIÓN/ ADECUABILIDAD DEL SISTEMA	SI	SI	SI	*
LINEALIDAD DEL SISTEMA	SI	SI	NO	NO
ESPECIFICIDAD <sup>1</sup>	SI <sup>3</sup>	SI	SI	SI
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD	SI	SI	NO	NO
LINEALIDAD DEL MÉTODO	SI	SI	NO	NO
PRECISIÓN DEL MÉTODO O PRECISIÓN INTERMEDIA <sup>2</sup>	SI	SI	NO	NO
ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA <sup>2</sup>	*	*	NO	NO
LÍMITE DE DETECCIÓN	NO	NO	SI	NO
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	NO	SI	NO	NO
ROBUSTEZ	*	*	*	NO
TOLERANCIA	*	*	*	NO

\* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método

1. La falta de especificidad de un método analítico, puede ser compensada por otra alternativa analítica de soporte, como por ejemplo cromatografía de capa fina.
2. También es definido como un estudio de tolerancia.
3. Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico o a los otros componentes de la muestra.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 10 de 53

## 7. Determinaciones, metodología y criterios de aceptación.

### 7.1. Precisión del Sistema.

**7.1.1. Metodología:** Un analista debe preparar por lo menos un sextuplicado de soluciones a la concentración del analito que represente la concentración de la solución de referencia utilizada, o en ciertos casos, la concentración que representa el 100% de la muestra procedida para su medición; preparadas por dilución o por pesadas independientes. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones.

#### 7.1.2. Criterios de aceptación:

CV	Físico-químicos	Microbiológicos
	$\leq 1.5\%$	$\leq 3\%$

Nota: las fórmulas para realizar los cálculos se encuentran en el anexo 2.

### 7.2. Adecuabilidad del Sistema (Métodos Cromatográficos)

**7.2.1. Metodología:** inyectar por quintuplicado la solución de adecuabilidad. Reportar la respuesta del analito; calcular el CV y para cada inyección informar cuando proceda: (K), R (si procede), Rr (si procede), T y N

#### 7.2.2. Criterios de aceptación:

CV	T	R	K'
$\leq 2\%$	$<2$	$>2$	$>2$

Nota: Las fórmulas se describen en el anexo 3.

La evaluación de la adecuabilidad del sistema se recomienda para todos los métodos analíticos, ya que permite verificar que el sistema de medición funciona apropiadamente, independientemente de las condiciones ambientales. Es conveniente que antes de llevar a cabo la validación del método analítico, se establezcan los criterios apropiados para la operación del sistema de medición, para ser evaluados en la validación y verificados de manera rutinaria al emplear el método analítico. Por ejemplo, en el caso de métodos volumétricos, el volumen de la titulación de blancos y/o de un volumen específico de la solución de referencia; en el caso de métodos fotométricos la lectura de soluciones blanco, entre otros.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 11 de 53

### 7.3. Linealidad del sistema.

**7.3.1. Metodología:** Un analista debe preparar por lo menos por triplicado cinco niveles de concentración (intervalo) de la solución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma solución concentrada) o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución). La concentración central debe ser igual a la que se prepara la solución de referencia en el método o en ciertos casos, la concentración que represente el 100% en la muestra procesada para su medición. El intervalo debe incluir la especificación para el caso de aquellos métodos utilizados para contenido/potencia/valoración.

El intervalo está en función del propósito del método, y por lo general se expresa como % de la concentración de la solución de referencia o en función del contenido del analito en la muestra procesada para su medición.

Para contenido/potencia/valoración se sugiere un mínimo de  $\pm 20\%$ .

Para contenido/valoración de impurezas desde un nivel apropiado hasta un 20% por arriba de la especificación.

Para métodos indicadores de estabilidad desde un nivel apropiado hasta un 120%.

Es crítico que el intervalo no excluya valores de concentración que potencialmente puedan dar lugar al contenido del analito en la muestra.

#### 7.3.2. Criterios de aceptación:

$r^2$	$IC(\beta_1)$
<b>= 0.98</b>	<b>≠ 0</b>

Nota: Las fórmulas se describen en el anexo 4.

Es conveniente trazar la gráfica concentración (x) vs respuesta analítica (y).

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 12 de 53

#### 7.4. Especificidad.

**7.4.1. Metodología:** Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias interferentes, y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Para métodos de identificación: se deben solucionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base a la estructura molecular del analito, precursores, sustancias relacionadas, vías degradativas, entre otros.

Para métodos de contenido/potencias/valoración: se deben analizar placebos del producto, como lo indica el método, muestras de producto y cuando proceda:

- Sustancias relacionadas.
- Precursores.
- Homólogos

y una mezcla del producto con ellos o cualquiera de ellos.

Para métodos de contenido / valoración de impurezas: si se dispone de las impurezas deben adicionar éstas el analito y/o a la muestra analítica en niveles que excluya la especificación. Analizar como lo indica el método. Cuando no se dispone de éstas, la muestra que contiene el analito debe someterse a condiciones que generen su inestabilidad química (luz, calor, humedad, hidrólisis ácido-base y oxidación) y aplicar el método a la muestra resultante.

Para métodos de limite de impurezas: proceder a analizar muestras individuales de la impureza (orgánicas, inorgánicas o solventes residuales), el producto (de pureza aceptable) y la mezcla de estos, como lo indica el método.

Para métodos indicadores de estabilidad: en el caso de contar con los productos de degradación, preparar muestras con placebo adicionado de éstos, el placebo adicionado de analito y de productos de degradación, y analizar con el método.

Si no se cuenta con los posibles productos de degradación se pueden emplear, dependiendo de la naturaleza química del analito y si es posible, las siguientes condiciones para favorecer la inestabilidad del analito en la muestra:

1. Someter el analito, el placebo y la muestra de un horno a 70°-120° C o a 20 ° C por debajo del punto de fusión del analito de 2 a 4 semanas.

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	<i>TÍTULO:</i>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 13 de 53

2. Exponer el analito, placebo y muestra a la luz UV, fluorescente y/o humedad relativa, por un tiempo apropiado.
3. Hacer soluciones del analito, ajustando el pH de 1 a 2 y/o de 10 a 12 y someterlas a 60-80° C por un tiempo apropiado.
4. Para formas farmacéuticas líquidas o semisólidas, adicionar peróxido de hidrógeno para favorecer oxidación del analito.

Estos estudios no se deben llevar a cabo para analitos que según la bibliografía, tengan propiedades reactivas que puedan dar lugar a condiciones inseguras al someter las muestras a las condiciones antes mencionadas.

El tiempo y las condiciones se seleccionan con el fin de degradar al analito a niveles de un 15 a 30 %.

En el caso de métodos no selectivos, como por ejemplo los métodos que utilizan sistemas de medición volumétricos, la especificidad para los componentes de una muestra, es sustentada con los resultados de exactitud y linealidad del método, si el método cumple con los criterios de aceptación.

#### 7.4.2. Criterios de aceptación:

Se debe observar solo lectura del analito.

#### 7.5. Exactitud y Repetibilidad del Método.

**7.5.1. Metodología:** Se debe preparar un placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por sextuplicado, adicionarle la cantidad del analito correspondiente al 100% de este en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones. Determinar la cantidad recuperada del analito.

#### 7.5.2. Criterios de aceptación:

IC(μ)	Cromatográficos y volumétricos	Químicos espectrofotométricos	y Microbiológico
	98 - 102%	97 - 103%	95 - 105%

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 5.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 14 de 53

**7.6. Linealidad del método.**

**7.6.1. Metodología:** Se debe preparar un placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado para cada nivel, adicionarle la cantidad del analito correspondiente al 60%, 80%, 100%, 120% y 140% de este en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones. Determinar la cantidad recuperada del analito.

**7.6.2. Criterios de aceptación:**

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	IC ( $\beta_0$ )
0.98	Incluye 1	Incluye 0

$CV_{Y/X}$	<b>Cromatográficos y Químicos</b>	<b>Microbiológico</b>
	<b>volumétricos y espectrofotométricos</b>	
	$\leq 2\%$	$\leq 3\%$
		$\leq 5\%$

$IC(\mu)$	<b>Cromatográficos y Químicos</b>	<b>Microbiológico</b>
	<b>volumétricos y espectrofotométricos</b>	
	98-102%	95-105%
	97-103%	

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 6.

Es conveniente trazar la gráfica de la cantidad adicionada (x) vs la cantidad recuperada (y).

**7.7. Precisión del Método (Precisión intermedia o Tolerancia interdía/analista).**

**7.7.1. Metodología:** Se debe preparar un placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad del analito correspondiente al 100% de este en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por dos analistas en por dos días diferentes. Utilizar la misma sustancia de referencia y el mismo equipo.

**7.7.2. Criterios de aceptación:**

$CV$	<b>Cromatográficos y Químicos</b>	<b>Microbiológico</b>
	<b>volumétricos y espectrofotométricos</b>	
	$\leq 2\%$	$\leq 3\%$
		$\leq 5\%$

Nota: Las fórmulas se describen en el anexo 7.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 15 de 53

## 7.8. Estabilidad Analítica de la Muestra.

**7.8.1. Metodología:** Se debe preparar un placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica, adicionarle la cantidad del analito correspondiente al 100% de este en la muestra. Fraccionar de acuerdo a las condiciones de almacenaje de interés. Analizar cada una de las muestras por triplicado, por los tiempos de 0, 24 y 48 horas.

### 7.8.2. Criterios de aceptación:

/di/	Cromatográficos volumétricos	y	Químicos espectrofotométricos	y	Microbiológico
	≤ 2%		≤ 3%		≤ 5%

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 8.

## 7.9. Límite de detección.

### 7.9.1. LD con base en señal de ruido.

**7.9.1.1. Metodología:** Aplica a métodos que utilizan instrumentos para medir la respuesta analítica y que presentan una señal de ruido basal. Un analista debe determinar la respuesta de muestras blanco y la respuesta de muestras analíticas en un intervalo de concentraciones que incluya la especificación de la prueba de impurezas límite. Determinar aquella cantidad del analito que genere una respuesta con respecto a la muestra blanco en una proporción de por lo menos 3 a 1, lo que corresponde a la concentración asociada al límite de detección. Este procedimiento se utiliza para verificar el límite de detección estimado por otros procedimientos.

### 7.9.1.2. Criterio de aceptación:

El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas límite.

### 7.9.2. LD con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos.

**7.9.2.1. Metodología:** Aplica tanto a métodos instrumentales como a los no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación de la prueba de impurezas límite; ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar por lo menos cinco blancos. Para la curva de calibración no se incluyen los blancos. Calcular el límite de detección con la siguiente ecuación:

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PAG:</b> 16 de 53

$$LD = \frac{3.3 \times S_b}{b_1}$$

El valor estimado LD debe ser verificado utilizando la metodología de la señal de ruido.

**7.9.2.2. Criterios de aceptación.**

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LD
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

**7.9.3. LD con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión.**

**7.9.3.1. Metodología:** Aplica a métodos instrumentales como a no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación de la prueba de impurezas límite; ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar por lo menos cinco blancos. Calcular el límite de detección con la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{3.3 \times S_{y/x}}{b_1}$$

**7.9.3.2. Criterio de aceptación.**

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LD
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

**7.9.4. LD con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen.**

**7.9.4.1. Metodología:** Aplica a métodos instrumentales como a no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación de la prueba de impurezas límite; ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar por lo menos cinco blancos. Calcular el límite de detección con la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{3.3 \times S_{b_0}}{b_1}$$

**7.9.4.2. Criterio de aceptación.**

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LD
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 9.

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	<i>TÍTULO:</i>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 17 de 53

## 7.10. Limite de cuantificación.

### 7.10.1. LC con base en señal de ruido.

**7.10.1.1. Metodología:** Aplica a métodos que utilizan instrumentos para medir la respuesta analítica y que presentan una señal de ruido basal. Un analista debe determinar la respuesta de muestras blanco y la respuesta de muestras analíticas en un intervalo de concentraciones conocidas del analito, inferiores o que incluya la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas. Determinar aquella cantidad del analito que genere una respuesta con respecto a la muestra blanco en una proporción de por lo menos 10 a 1, lo que corresponde a la concentración asociada al limite de cuantificación. Es necesario verificar que dicha cantidad corresponda al limite de cuantificación, evaluando la exactitud y repetibilidad del valor estimado.

### 7.10.1.2. Criterio de aceptación:

El LC debe ser menor a la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas.

### 7.10.2. LC con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos.

**7.10.2.1. Metodología:** Aplica tanto a métodos instrumentales como a los no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas, ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar por lo menos cinco blancos. Calcular el limite de cuantificación con la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{10 \times S_b}{b_1}$$

Evaluar la exactitud y repetibilidad del valor estimado del limite de cuantificación.

### 7.10.2.2. Criterios de aceptación.

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LC
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 18 de 53

### 7.10.3. LC con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión.

**7.10.3.1. Metodología:** Aplica a métodos instrumentales como a no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación de contenido/valoración de la prueba de impurezas, ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Calcular el límite de cuantificación con la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{10 \times S_{y/x}}{b_1}$$

### 7.10.3.2. Criterio de aceptación.

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LC
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

### 7.10.4. LC con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la ordenada al origen.

**7.10.4.1. Metodología:** Aplica a métodos instrumentales como a no instrumentales. Un analista debe preparar por lo menos tres concentraciones de la sustancia de interés a valores menores o que incluya la especificación de contenido/valoración de la prueba de impurezas, ya sea por dilución o por pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar por lo menos cinco blancos. Calcular el límite de cuantificación con la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{10 \times S_{b_0}}{b_1}$$

### 7.10.4.2. Criterio de aceptación.

$r^2$	IC ( $\beta_1$ )	LC
$\geq 0.98$	$\neq 0$	$\leq$ especificación

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 10.

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª.		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 19 de 53

### 7.11. Robustez.

**7.11.1. Metodología:** Establecer aquellos factores instrumentales (temperatura de columna, presión de la columna, velocidad de flujo, etc.) y/o factores no instrumentales (pH de las fases, volúmenes de solventes orgánicos para una extracción, etc.), relacionados al propio método que se consideren críticos. En cada condición de operación distinta; así como a la condición normal, analizar la misma muestra por triplicado.

#### 7.11.2. Criterios de aceptación.

Método	Cromatográficos y volumétricos	Químicos y espectrofotométricos	Métodos biológicos
/di/	≤ 2%	≤ 3%	≤ 5%

Nota: las fórmulas se describen en el anexo 11.

### 7.12. Tolerancia.

**7.12.1. Metodología:** Se deben establecer aquellos factores ajenos al método (como diferentes equipos, lotes de reactivos, columnas, etcétera) que se puedan presentar al reproducir el método en otras condiciones de uso. Fijar por lo menos por triplicado cada condición.

#### 7.12.2. Criterios de aceptación.

Método	Cromatográficos y volumétricos	Químicos y espectrofotométricos	Métodos biológicos
CV	≤ 2%	≤ 3%	≤ 5%

Nota: las fórmulas para realizar los cálculos se describen en el anexo 12.

## 8. Formatos para registro de resultados.

Los formatos se describen en el anexo 13

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 20 de 53

## 9. Documentación.

Las actividades de la validación deben ser sustentadas por los siguientes documentos:

### A. Protocolo de la validación.

- Título.
- Objetivo.
- Responsabilidades.
- Plan de prueba.
- Criterios de aceptación para cada parámetro.
- Formatos de registro de resultados.

### B. Reporte.

- Título.
- Carátula.
- Índice.
- Registro del producto.
- Parámetros de desempeño a realizar.
- Metodología.
- Resultados.
- Análisis de resultados.
- Conclusiones.
- Referencias.
- Anexos.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 21 de 53

## 10. Formato para realizar el reporte de la validación de un método analítico

El formato para reportar se muestra en el anexo 14.

- 10.1. **Hoja de revisión y autorización del reporte.** Debe indicarse quien realiza, quien revisa y quienes autorizan, firmadas con fecha por cada uno.
- 10.2. **Carátula:** titulo de la validación y entre paréntesis el nombre del producto terminado.
- 10.3. **Índice:** Debe indicarse a partir del registro, la pagina en donde se reporta cada punto.
- 10.4. **Registro SSA del producto terminado.** Nombre del producto, forma farmacéutica, clave SSA, formulas unitarias, método analítico a utilizar, lugar donde se desarrollara la validación y anexar el certificado de análisis de producto terminado (hacer nota en que número de anexo se coloca).
- 10.5. **Indicar los parámetros de desempeño a analizar.** Se debe tomar en cuenta el punto 6 (parámetros de desempeño) y el anexo 1 (matriz de equivalencia de métodos analíticos).
- 10.6. **Metodología.** Indicar condiciones analíticas, material, equipo y reactivos utilizados(se debe anexar certificado de análisis de la materia prima o estándar e indicar el anexo en donde se reporta), para cada parámetro de desempeño indicar peso, diluciones, numero de inyecciones, los parámetros estadísticos que se calculan y en donde se reportan los cálculos e indicar los criterios de aceptación en una tabla; para calcular el % de recobro, se utiliza la media de la adecuabilidad de la columna realizada en ese día.
- 10.7. **Resultados.** Utilizar los formatos indicados en el anexo 13, además de indicar para cada parámetro en que anexo se presenta el respaldo analítico.
- 10.8. **Análisis de resultados.** Vaciar los resultados obtenidos en un formato similar de la siguiente tabla:

	PARAMETRO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	DECISIÓN
SISTEMA				
MÉTODO				

- 10.9. **Conclusiones.** Se formularán conclusiones con respecto a la validez de la valoración para los resultados individuales.
- 10.10. **Referencias.**
- 10.11. **Anexos.**

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 22 de 53

## 11. Referencias.

- Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 7a. ed. México: Secretaria de Salubridad y Asistencia, 2000: 229-231 y 1721-1723.
- United States Pharmacopoeial Convention. USP XXVII. 27<sup>va.</sup> ed. Canada: Mark Printing, 2004: 1007-1009 y 2622-2625.
- Métodos analíticos, Validación. Guías generales de Validación de la DGCIS, SSA (1989).
- Norma Mexicana NMX-CC-9000-IMNC-2000. Sistema de gestión de calidad. Vocabulario y definiciones.
- Norma Mexicana NMX-CC-9001-IMNC-2000. Sistema de gestión de calidad. Requisitos.
- NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
- Guidance for industry Bioanalytical methods Validation for Human Studies. December 1998 FDA.
- Guideline for Industry: Text on Validation of Analytical Procedures. ICH-Q2A, March 1995.
- Review Guidance: Validation of Chromatographic Methods. CDER. November 1994, CMC 3.
- Guidance for industry Analytical procedures and methods Validation. August 2000
- Guideline for submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation. February 1987. FDA.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation Analytical Procedures: Methodology. 6 Nov 1996.
- ICH Guideline on the Validation Analytical Procedures: Methodology; ICHQ2B, November 1996.
- NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos.

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 23 de 53

## 12. Anexos.

<b>NÚMERO</b>	<b>CONTENIDO</b>
1	MATRIZ DE EQUIVALENCIA DE MÉTODOS ANALÍTICOS
2	FÓRMULAS PARA PRECISIÓN DEL SISTEMA
3	FÓRMULAS PARA ADECUABILIDAD DEL SISTEMA.
4	FÓRMULAS PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA.
5	FÓRMULAS PARA EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.
6	FÓRMULAS PARA LINEALIDAD DEL MÉTODO.
7	FÓRMULAS PARA PRECISIÓN DEL MÉTODO (PRECISIÓN INTERMEDIA).
8	FÓRMULAS PARA ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA
9	FÓRMULAS PARA LÍMITE DE DETECCIÓN.
10	FÓRMULAS PARA LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.
11	FÓRMULAS PARA ROBUSTEZ.
12	FÓRMULAS PARA TOLERANCIA
13	FORMATOS PARA REGISTRO DE RESULTADOS
14	FORMATO PARA REPORTE DE VALIDACIÓN PARA UN MÉTODO ANALÍTICO.

**BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 24 de 53

**ANEXO 1. MATRIZ DE EQUIVALENCIA DE MÉTODOS ANALÍTICOS.**

<b>EQUIVALENTE</b>	<b>PROPÓSITO</b>	<b>USO</b>
CONTENIDO O POTENCIA	CUANTIFICA AL ANALITO	Métodos para producto a granel. Métodos para producto terminado. Métodos para materia prima. Métodos indicadores de estabilidad. Métodos para fármacos. Métodos para cuantificar el analito en la prueba de disolución. Valoración. Ensayos de cuantificación. Determinación del principio activo liberado. Sustancias relacionadas. Titulación. Uniformidad de dosis.
LÍMITE	ESTABLECE LA PRESENCIA DEL ANALITO A UN LÍMITE	Métodos límite de impurezas. Métodos límite de residuos. Métodos para determinar el nivel de limpieza. Prueba límite. Sustancias relacionadas.
IDENTIFICACIÓN	IDENTIFICA AL ANALITO	Ensayo de identidad.

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 25 de 53

## ANEXO 2. FÓRMULAS PARA PRECISIÓN DEL SISTEMA.

### A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

### B) Desviación estándar:

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

### C) Coeficiente de variación:

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

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª.		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 26 de 53

### ANEXO 3. FÓRMULAS PARA ADECUABILIDAD DEL SISTEMA.

#### A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

#### B) Desviación estándar:

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

#### C) Coeficiente de variación:

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

Nota: para las fórmulas de factor de capacidad (K'), resolución (R), retención relativa (Rr), factor de coleo (T) y número de platos teóricos (N), referirse a la FEUM 7ª Edición: 229-231.

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª.		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 27 de 53

#### ANEXO 4. FÓRMULAS PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA.

A) Pendiente:

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

B) Ordenada al origen:

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

C) Coeficiente de determinación:

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

D) Intervalo de confianza para la pendiente:

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0,975,n-2} S_{\hat{\beta}_1}$$

$$S_{\hat{\beta}_1} = S_{y \cdot x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y \cdot x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}}$$

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª.		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 28 de 53

## ANEXO 5. FÓRMULAS PARA EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

### A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

### B) Desviación estándar:

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

### C) Coeficiente de variación:

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

### D) Intervalo de confianza para la media poblacional:

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0.975, n-1} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 29 de 53

## ANEXO 6. FÓRMULAS PARA LINEALIDAD DEL MÉTODO.

- Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

### A) Pendiente:

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

### B) Ordenada al origen:

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

### C) Coeficiente de determinación:

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

### D) Intervalo de confianza para la pendiente:

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

$$S_{\delta b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

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

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª.		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 30 de 53

E) Intervalo de confianza para la ordenada al origen:

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0,975,n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

F) Coeficiente de variación de regresión:

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100$$

- Porcentaje de recobro:

A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

B) Desviación estándar:

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

C) Coeficiente de variación:

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

D) Intervalo de confianza para la media poblacional:

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

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 31 de 53

## ANEXO 7. FÓRMULAS PARA PRECISIÓN DEL MÉTODO.

### A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

### B) Desviación estándar:

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

### C) Coeficiente de variación:

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

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 32 de 53

## ANEXO 8. FÓRMULAS PARA LA ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA.

A) Media aritmética del análisis inicial:

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

B) Media aritmética del análisis de cada condición de almacenaje:

$$\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i}$$

C) Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial:

$$|d_i| = \left| \bar{y}_i - \bar{y}_0 \right|$$

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 33 de 53

## ANEXO 9. FÓRMULAS PARA LÍMITE DE DETECCIÓN.

- Curva de calibración basado en la desviación estándar de los blancos.
- Fórmulas para la curva de calibración.

### A) Pendiente:

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

### B) Coeficiente de determinación:

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

### C) Intervalo de confianza para la pendiente:

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

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

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

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

- Fórmula para los blancos.

### A) Desviación estándar de los blancos:

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

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 34 de 53

- Curva de calibración basada en la desviación estándar de regresión:

A) Pendiente:

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

B) Coeficiente de determinación:

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

C) Intervalo de confianza para la pendiente:

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

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

$$S_{b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 35 de 53

- Curva de calibración basado en la desviación estándar de la ordenada al origen.

A) Pendiente:

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

B) Coeficiente de determinación:

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

C) Intervalo de confianza para la pendiente:

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

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

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

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

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 36 de 53

D) Desviación estándar de la ordenada al origen:

$$S_{b0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS

## ANEXO 10. FÓRMULAS PARA LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

- Curva de calibración basado en la desviación estándar de los blancos.

➤ Fórmulas para la curva de calibración.

A) Pendiente:

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

B) Coeficiente de determinación:

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

C) Intervalo de confianza para la pendiente:

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{\delta 1}$$

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

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

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

➤ Fórmula para los blancos.

D) Desviación estándar de los blancos:

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

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 38 de 53

- Curva de calibración basada en la desviación estándar de regresión:

A) Pendiente:

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

E) Coeficiente de determinación:

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

F) Intervalo de confianza para la pendiente:

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

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

$$S_{b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

CÓDIGO: FACAL-6-006-03	TÍTULO:  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	FECHA DE EMISIÓN: OCTUBRE 2003	
EDICIÓN: 1ª		FECHA SIGUIENTE REVISIÓN: OCTUBRE 2006	
SUSTITUYE A: NUEVA		VIGENCIA: 3 AÑOS	PÁG: 39 de 53

- Curva de calibración basado en la desviación estándar de la ordenada al origen.

A) Pendiente:

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

B) Coeficiente de determinación:

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

C) Intervalo de confianza para la pendiente:

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{\hat{\beta}_1}$$

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

$$S_{\hat{\beta}_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

D) Desviación estándar de la ordenada al origen:

$$S_{\hat{\beta}_0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 40 de 53

## ANEXO 11. FÓRMULAS PARA ROBUSTEZ.

A) Media aritmética de la condición normal de operación:

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

B) Media aritmética del análisis de cada condición de operación, diferente a la condición normal.

$$\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i}$$

C) Diferencia absoluta de la media aritmética de la media aritmética de cada condición respecto de la media aritmética de la condición normal.

$$|d_i| = \left| \bar{y}_i - \bar{y}_0 \right|$$

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 41 de 53

## ANEXO 12. FÓRMULAS PARA TOLERANCIA.

### A) Media aritmética:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

### B) Desviación estándar:

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

### C) Coeficiente de variación:

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

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 42 de 53

**ANEXO 13. FORMATOS PARA REGISTRO DE RESULTADOS**

**PRECISIÓN DEL SISTEMA**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

ESTANDAR	
MUESTRA	LECTURA
1	
2	
3	
4	
5	
6	

PROMEDIO	
DESVEST	
% C.V	

**ADECUABILIDAD DEL SISTEMA**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

ESTANDAR	
INYECCIÓN	LECTURA
1	
2	
3	
4	
5	

ADECUABILIDAD	
Tr	
h	
W	
W <sub>5%</sub>	
f <sub>5%</sub>	
N	
T	

PROMEDIO	
DESVEST	
% C.V	

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 43 de 53

**LINEALIDAD DEL SISTEMA**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

CURVA ESTANDAR 1			
CONCENTRACIÓN %	CANTIDAD ADICIONADA (Concentración)	LECTURA	%C.V
60			
60			
60			
80			
80			
80			
100			
100			
100			
120			
120			
120			
140			
140			
140			

$b_1$	$b_0$	$r^2$	$t_{0.975, n-2}$

Intervalo de confianza para la pendiente.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 44 de 53

**ESPECIFICIDAD.**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>LECTURA</b>
Principio activo	
Excipiente 1	
Excipiente n	

**EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

<b>PLACEBO ANALÍTICO</b>	<b>CANTIDAD ADICIONADA ( µg/mL)</b>	<b>CANTIDAD RECUPERADA (µg/mL)</b>	<b>% RECOBRO</b>
1			
2			
3			
4			
5			
6			

<b>PROMEDIO</b>	
<b>DESVEST</b>	
<b>% C.V</b>	

Intervalo de confianza para la media poblacional del porcentaje de recobro.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 45 de 53

**LINEALIDAD DEL MÉTODO.**

- **FECHA DE ANÁLISIS:**
- **ANALISTA:**

<b>CURVA ESTANDAR 1</b>			
CONCENTRACIÓN	CANTIDAD ADICIONADA (µg/mL)	CANTIDAD RECUPERADA(µg/mL)	% RECOBRO
60			
60			
60			
80			
80			
80			
100			
100			
100			
120			
120			
120			
140			
140			
140			

PROMEDIO	
DESVEST	
% CV	

$b_1$	$b_0$	$r$	$r^2$

Intervalo de confianza para la pendiente.

Intervalo de confianza para la ordenada al origen.

Intervalo de confianza para media poblacional del porcentaje de recobro.

$CV_{y/x} =$

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 46 de 53

**PRECISIÓN DEL MÉTODO.**

- FECHAS DE ANÁLISIS:
- ANALISTAS:

Contenido del analito en µg/mL

		ANALISTA	
		1	2
DÍA	1		
	2		

PROMEDIO	
DESVEST	
%CV	

**ESTABILIDAD ANALÍTICA.**

- FECHAS DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

Concentración en µg / mL.

MUESTRA	INICIAL (Y <sub>0</sub> )	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	
		24 h (Y <sub>1</sub> )	48 h (Y <sub>2</sub> )
1			
2			
3			

/d <sub>1</sub> /	
/d <sub>2</sub> /	

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 47 de 53

**LIMITE DE DETECCIÓN**

- **FECHA DE ANÁLISIS:**
- **ANALISTA:**
  
- **Señal de ruido.**

<b>MUESTRA</b>	<b>SEÑAL ANALÍTICA pA*seg</b>
BLANCO O RUIDO	
3*RUIDO	
ANALITO (ppm)	
0.5	
1.0	
1.5	
2.0	
2.5	

LD

- **Curva de calibración basado en la desviación estándar de los blancos.**

<b>MUESTRA</b>	<b>CANTIDAD ADICIONADA (CONCENTRACIÓN)</b>	<b>LECTURA</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

<b>BLANCOS</b>	<b>(LECTURA)</b>
1	
2	
3	
4	
5	

LD        $r^2$

Intervalo de confianza para la pendiente:

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 48 de 53

- **Curva de calibración basado en la desviación estándar de regresión.**

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (CONCENTRACIÓN)	LECTURA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

LD	$r^2$

Intervalo de confianza para la pendiente:

- **Curva de calibración basado en la desviación estándar de la ordenada al origen.**

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (CONCENTRACIÓN)	LECTURA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

LD	$r^2$

Intervalo de confianza para la pendiente:

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 49 de 53

### LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:
  
- Señal de ruido.

MUESTRA	SEÑAL ANALÍTICA pA*seg
PLACEBO ANALITICO (BLANCO O RUIDO)	
10*RUIDO	
ANALITO (ppm)	
5	
10	
15	
20	
25	

LC

- Curva de calibración basado en la desviación estándar de los blancos.

MUESTRA	Cantidad adicionada (concentración)	LECTURA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

PLACEBO ANALÍTICO (BLANCOS)	(LECTURA)
1	
2	
3	
4	
5	

LC        $r^2$

Intervalo de confianza para la pendiente:

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 50 de 53

- **Curva de calibración basado en la desviación estándar de regresión.**

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (CONCENTRACIÓN)	LECTURA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

<b>LC</b>	<b>r<sup>2</sup></b>

Intervalo de confianza para la pendiente:

- **Curva de calibración basado en la desviación estándar de la ordenada al origen.**

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (CONCENTRACIÓN)	LECTURA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

<b>LC</b>	<b>r<sup>2</sup></b>

Intervalo de confianza para la pendiente:

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-006-03	<b>TÍTULO:</b>  <i>PROTOCOLO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> OCTUBRE 2003	
<b>EDICIÓN:</b> 1ª.		<b>FECHA SIGUIENTE REVISIÓN:</b> OCTUBRE 2006	
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		<b>VIGENCIA:</b> 3 AÑOS	<b>PÁG:</b> 51 de 53

**ROBUSTEZ.**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

MUESTRA	FACTOR INSTRUMENTAL		
	VARIANTE 1 NIVEL BAJO	VARIANTE 2 NIVEL NORMAL	VARIANTE 3 NIVEL ALTO
1			
2			
3			

/di/

**TOLERANCIA.**

- FECHA DE ANÁLISIS:
- ANALISTA:

MUESTRA	FACTOR 1	FACTOR 2
1		
2		
3		

% CV





## B. Protocolo para validación del método analítico para cuantificación de iopamidol

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 1 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

<b>Realizó:</b>	<b>Revisó:</b>
Analista Químico	Coordinadora de Control de Calidad
Q.F.B. M. Franco V.	Q.F.B. K. Ampudia S.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

El protocolo para validar el método de cuantificación para iopamidol ha sido revisado y es aprobado para su uso:

<b>Autorizó:</b>	<b>Autorizó:</b>
Química en Desarrollo	Responsable Sanitario
Q.F.B. L. Pérez I.	Q.F.B. M. Estrada G.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª	PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>PÁGINAS:</b>
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		2 de 12

**PROTOCOLO PARA LA  
VALIDACIÓN  
DEL  
MÉTODO ANALÍTICO  
DE  
IOPAMIDOL**

(Solucont 300 y 370: medio de contraste)

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 3 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## ÍNDICE

I. Objetivo .....	4
II. Plan de prueba .....	4
A. Condiciones cromatográficas .....	4
B. Material, equipo y reactivos .....	4
C. Parámetros de estudio .....	6
1. Adecuabilidad de la columna .....	6
2. Precisión del sistema .....	6
3. Linealidad del sistema .....	7
4. Exactitud y repetibilidad .....	7
5. Linealidad del método .....	8
6. Especificidad .....	9
7. Precisión del método .....	9
8. Estabilidad analítica .....	10
III. Cronograma de actividades .....	11
IV. Referencias .....	12

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACEUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 4 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## I. OBJETIVO

Validar el método analítico reportado en la USP 27 para cuantificar iopamidol en un medio de contraste (Solucont300 y 370), por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

## II. PLAN DE PRUEBA

### A. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

1. **Fase móvil:** metanol-agua (10:90), filtrar a través de membrana de nylon de 0.45 µm y sonicar durante 10 minutos.
2. **Columna:** Acclaim® 120, C18 4.6 x 250 mm, con tamaño de partícula de 5 µm (Dionex Bonded Silica Products).
3. **Longitud de onda:** 240 nm.
4. **Flujo:** 1.5 mL/min.
5. **Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución:** HP 1100, número de serie DE92911324.
6. **Volumen de inyección:** 20 µL.

### B. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

#### 1. Material.

- Matraces volumétricos de 10 mL, 100 mL y 1000 mL.
- Pipetas volumétricas de 1mL, 3 mL, 4mL, 5mL, 6mL, 7mL y 10mL
- Vasos de precipitado 150 mL
- Perilla de succión
- Probetas 100 mL y 1000 mL.
- Reservorio para fase móvil 1000 mL
- Unidad de filtración 300 mL.
- Espátula de acero inoxidable.

#### 2. Equipo.

- Balanza analítica: Mettler Toledo, modelo AB 204-S, número de serie 1122321706.
- Baño ultrasónico: modelo 3QTH-174, número de serie 16858.
- Bomba de vacío.
- Campana de extracción.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 5 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**3. Reactivos.**

- Ácido clorhídrico 37 %, G.R. J.T. Baker.
- Agua purificada.
- Iopamidol estándar secundario WP-011203
- Agente complejante.
- Agente estabilizador de pH.
- Metanol grado HPLC. J:T. Baker

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACEUTICA

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b> PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1º		<b>PÁGINAS:</b> 6 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## C. PARÁMETROS DE ESTUDIO.

### 1. Adecuabilidad de la columna

- a. **Metodología:** pesar aproximadamente 60 mg de estándar secundario de iopamidol y depositar en un matraz volumétrico de 100 mL, agregar aproximadamente 50 mL de agua y sonicar durante 10 minutos y llevar al aforo con agua, tomar una alícuota de 10 mL de la solución anterior y depositar en un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con agua.

Se inyecta 6 veces la solución, se calcula CV y T.

Nota: cada día de análisis, antes de usar el equipo deberá realizarse la adecuabilidad de la columna; para validar el método, las diluciones se realizan con el placebo analítico, utilizado para los parámetros del método.

b. **Criterios de aceptación:**

C.V	T
≤ 2%	≤ 2

### 2. Precisión del sistema.

- a. **Metodología:** pesar aproximadamente 60 mg de estándar secundario de iopamidol y proceder conforme al punto 1 a.

Se inyecta 6 veces y se calcula CV de las áreas.

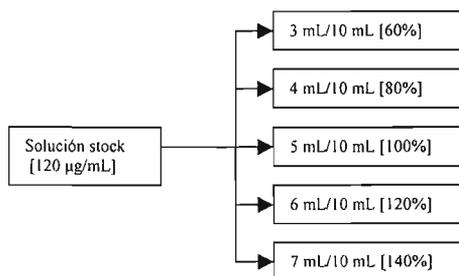
b. **Criterios de aceptación:**

C.V
≤ 1.5%

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª	PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>PÁGINAS:</b> 7 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

### 3. Linealidad del sistema.

- a. **Metodología:** pesar aproximadamente 120 mg de iopamidol y proceder conforme al punto 1 a. Realizar las siguientes diluciones para obtener la curva estándar a partir de la última dilución.



Cada punto de la curva se inyecta por triplicado y se calcula  $r^2$ ,  $IC(\beta_1)$ ,  $IC(\beta_0)$ ,  $IC(\mu)$ ,  $CVy/x$ ,  $CV$ .

- b. **Criterios de aceptación:**

$r^2$	$IC(\beta_1)$
$\geq 0.98$	$\neq 0$

### 4. Exactitud y repetibilidad.

- a. **Metodología.**

- **Preparación de la solución stock del agente complejante:** se pesan 38.0 mg del agente complejante, se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y se sonica durante 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [380 µg/mL]
- **Preparación de la solución stock del agente estabilizador de pH:** se pesan 10 mg del agente estabilizador de pH y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y 10 mL de solución stock de agente complejante, se sonica por 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [100 µg de agente estabilizador de pH/mL] y [38.0 µg de agente complejante/mL]

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b> PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 8 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

- **Preparación del placebo analítico:** Se toma una alícuota de 1 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 1000 mL, y se afora con agua. [0.10 µg de agente estabilizador de pH/mL] y [0.0380 µg de agente complejante /mL]
- **Preparación del placebo adicionado:** se pesan 60.0 mg de estándar secundario de iopamidol y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de solución placebo, se sonica por 10 minutos, y se afora con solución placebo, se toma una alícuota de 10 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL y se lleva al aforo con solución placebo. [0.10 µg de trometamina/mL], [0.0380 µg de edetato de calcio disódico /mL] y [60.0 µg de iopamidol /mL]

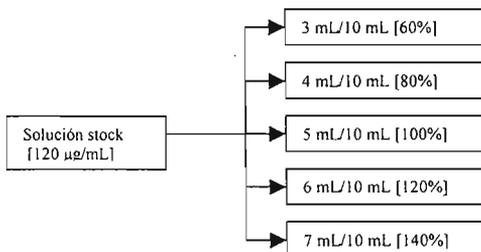
Pesar por sextuplicado el estándar secundario de iopamidol y proceder a hacer las diluciones del punto 4 a para el placebo adicionado. Se inyecta una vez cada solución, se calcula CV y IC(µ).

**b. Criterios de aceptación.**

C.V	IC(µ)
≤ 2%	98-102%

**5. Linealidad del método.**

- a. Metodología:** pesar aproximadamente 120 mg de iopamidol y proceder conforme al punto 4 a; realizar las siguientes diluciones para obtener la curva estándar a partir de la última dilución.



Cada punto de la curva se inyecta por triplicado y se calcula  $r^2$ , IC( $\beta$ ), IC( $\beta_0$ ), IC( $\mu$ ), CVy/x, CV.

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACEUTICA

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>  PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 9 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**b. Criterios de aceptación**

$r^2$	IC( $\beta_1$ )	IC( $\beta_0$ )	CV <sub>VIK</sub>	IC( $\mu$ )	CV
0.98	Incluye 1	Incluye 0	$\leq 2\%$	98-102%	$\leq 2\%$

**6. Especificidad**

**a. Metodología.**

- Preparar cada una solución de cada excipiente del producto terminado (Solucont 300) a la concentración de trabajo.
- **Preparación de la solución de trabajo:** pesar aproximadamente 60 mg de estándar secundario de iopamidol y proceder conforme al punto 4 a.

Cada solución se inyecta y se debe observar solo lectura del iopamidol.

**b. Criterio de aceptación.** Solo lectura del iopamidol.

**7. Precisión del método (Precisión intermedia o tolerancia interdía/analista)**

**a. Metodología.**

- **Preparación de la solución de trabajo:** pesar aproximadamente 60 mg de estándar secundario de iopamidol y proceder conforme al punto 4 a para el placebo adicionado.

Se realiza con dos analistas por dos días, cada punto se inyecta por triplicado y se calcula CV.

**b. Criterio de aceptación.**

C.V
$\leq 2\%$

Nota: Los cálculos se utiliza el respectivo promedio de la adecuabilidad.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª	PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>PÁGINAS:</b> 10 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**8. Estabilidad analítica.**

**a. Metodología:**

- Preparación de la solución de trabajo: pesar aproximadamente 60 mg de estándar secundario de iopamidol y proceder conforme al punto 4 a el placebo adicionado.

El placebo adicionado se divide en tres partes (0 h, 24h y 48h), cada una se inyecta por triplicado y se calcula  $/d_1/$  y  $/d_2/$ .

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACEUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b> PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE JOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 11 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**III. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.**

<b>Parámetro</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	17-Dic-03	06-Ene-04	08-Ene-04	09-Ene-04	10-Ene-04
	<b>Día de análisis</b>				

<b>Número</b>	<b>Parámetro</b>
1	Precisión del sistema.
2	Linealidad del sistema.
3	Exactitud y repetibilidad.
4	Linealidad.
5	Especificidad.
6	Precisión.
7	Estabilidad

*BONAPLAST S.A. DE CV.*  
*DIVISIÓN FARMACEUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-007-03	<b>TÍTULO:</b>	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> DICIEMBRE 2003
<b>EDICIÓN</b> 1ª	PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>PÁGINAS:</b> 12 de 12
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

#### IV. REFERENCIAS

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM. 7ª. ed. México: Secretaria de Salubridad y Asistencia, 2000: 1715,1716, 1721-1723.
2. García AM. Validación de métodos analíticos. México: Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de la Dirección General de Control de Insumos para la Salud, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos, 2002: 1-123.

Nota: Para fines de la empresa, se debe tener los formatos para reportar los resultados y análisis de resultados.

C. Reporte de la validación del método analítico para  
cuantificación de iopamidol.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 1 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

<b>Realizó:</b>	<b>Revisó:</b>
Analista Químico	Coordinadora de Control de Calidad
Q.F.B. M. Franco V.	Q.F.B. K. Ampudia S.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

El reporte de validación siguiente ha sido revisado y es aprobado para su uso:

<b>Autorizó:</b>	<b>Autorizó:</b>
Química en Desarrollo	Responsable Sanitario
Q.F.B. L. Pérez I.	Q.F.B. M. Estrada G.
Firma:	Firma:
Fecha:	Fecha:

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 2 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**VALIDACIÓN**  
**DEL**  
**MÉTODO ANALÍTICO**  
**DE**  
**IOPAMIDOL**

(Solucont 300 y 370: medio de contraste)

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 3 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## ÍNDICE

1.	Registro S.S.A. Solucont 300 y 370 .....	4
2.	Parámetros de desempeño a analizar para la valoración del analito(iopamidol).....	5
3.	Metodología.....	6
3.1	Condiciones cromatográficas .....	6
3.2.	Material, equipo y reactivos utilizados. ....	6
3.3.	Adecuabilidad de la columna (17-DIC-03) .....	7
3.4.	Precisión del sistema .....	7
3.5.	Linealidad del sistema .....	8
3.6.	Adecuabilidad de la columna (06-ENE-04) .....	8
3.7.	Exactitud y repetibilidad del método .....	9
3.8.	Linealidad del método .....	10
3.9.	Especificidad .....	10
3.10.	Adecuabilidad de la columna (08-ENE-04) .....	11
3.11.	Adecuabilidad de la columna (09-ENE-04) .....	11
3.12.	Precisión del método .....	12
3.13.	Adecuabilidad de la columna (10-ENE-04) .....	13
3.14	Estabilidad analítica .....	13
4.	Resultados .....	14
4.1.	Adecuabilidad de la columna (17-DIC-03) .....	14
4.2.	Precisión del sistema .....	14
4.3.	Linealidad del sistema .....	15
4.4.	Adecuabilidad de la columna (06-ENE-04) .....	16
4.5.	Exactitud y repetibilidad del método .....	17
4.6.	Linealidad del método .....	18
4.7.	Especificidad.....	19
4.8.	Adecuabilidad de la columna (08-ENE-04) .....	20
4.9.	Adecuabilidad de la columna (09-ENE-04) .....	20
4.10.	Precisión del método .....	21
4.11.	Adecuabilidad de la columna (10-ENE-04) .....	21
4.12.	Estabilidad analítica.....	22
5.	Análisis de resultados .....	23
6.	Conclusiones .....	24
7.	Simbolos y abreviaturas utilizadas .....	26
8.	Referencias .....	27
9.	Anexos .....	28

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 4 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**1. REGISTRO S.S.A SOLUCONT 300 Y 370**

**Nombre del Producto:** "SOLUCONT 300 Y 370"

**Forma Farmacéutica:** Solución inyectable

**Clave:** 0620R2003 S.S.A

**Fórmulas unitarias:**

		SOLUCONT 300	SOLUCONT 370
Código	Descripción	Cada mL contiene	Cada mL contiene
8600015	Iopamidol	0.612 g	0.755 g
8600014	Agente complejante	0.00039 g	0.00048 g
8600013	Agente estabilizador de pH	0.001 g	0.001 g
	HCl al 37%	C.S.	C.S.
	Agua grado inyectable c.b.p.	1 mL	1 mL

**Método Analítico Utilizado:** CLAR

**Lugar Donde se Desarrolló:** Laboratorio de Control  
de Calidad

Nota: el certificado de calidad del producto terminado se muestra en el Anexo 1.

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 5 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**2. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO A ANALIZAR PARA LA VALORACIÓN DEL  
ANALITO (IOPAMIDOL)**

- Sistema.
  - Adecuabilidad de la columna.
  - Precisión.
  - Linealidad.
  
- Método.
  - Adecuabilidad de la columna.
  - Exactitud y repetibilidad.
  - Linealidad.
  - Especificidad.
  - Precisión.
  - Estabilidad.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 6 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

- 3.1.1. **Fase móvil:** metanol-agua (10:90), filtrar a través de membrana de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  y sonicar durante 10 minutos.
- 3.1.2. **Columna:** Acclaim @ 120, C18 4.6 x 250 mm, con tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$  (Dionex Bonded Sílica Products).
- 3.1.3. **Longitud de onda:** 240 nm.
- 3.1.4. **Flujo:** 1.5 mL/min.
- 3.1.5. **Cromatografo de Líquidos de Alta Resolución** HP 1100, número de serie DE92911324. (Anexo 2)
- 3.1.6. **Volumen de inyección:** 20  $\mu\text{L}$ .

#### 3.2. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS UTILIZADOS:

##### 3.2.1. Material.

- Matrices volumétricos de 10 mL, 100 mL y 1000 mL.
- Pipetas volumétricas de 1mL, 3 mL, 4mL, 5mL, 6mL, 7mL y 10mL.
- Vasos de precipitado 150 mL.
- Perilla de succión.
- Probetas 100 mL y 1000 mL.
- Reservorio para fase móvil 1000 mL.
- Unidad de filtración 300 mL.
- Membranas de nylon 0.45  $\mu\text{m}$ .
- Espátula de acero inoxidable.

##### 3.2.2. Equipo.

- Balanza analítica: Mettler Toledo, modelo AB 204-S, número de serie 1122321706.(Anexo 3)
- Baño ultrasónico: modelo 3QTH-174, número de serie 16858.
- Bomba de vacío.
- Campana de extracción.

##### 3.2.3. Reactivos.

- Ácido clorhídrico 37 %. G.R. J.T. Baker.
- Agua purificada o grado HPLC.
- Agente complejante.
- Agente estabilizador de pH.
- Iopamidol estándar secundario WP-011203. ( Anexo 4)
- Metanol grado HPLC. J.T. Baker.

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA

CÓDIGO: FACAL-6-008-04	TÍTULO:  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	FECHA DE EMISIÓN: FEBRERO 2004
EDICIÓN: 1ª		PÁGINAS: 7 de 28
SUSTITUYE A: NUEVA		

### 3.3. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA (17-DIC-03)

- 3.3.1. **Preparación de la solución de trabajo:** se pesan 60.5 mg de estándar secundario de iopamidol y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y se sonica durante 10 minutos y se lleva al aforo con agua, se toma una alícuota de 10 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL y se lleva al aforo con agua. [60.5 µg/mL]
- 3.3.2. **Procedimiento:** se inyecta 5 veces la solución; los cálculos se realizan con las fórmulas indicadas en la hoja de microsoft excel "adecuabilidad", en el archivo de microsoft excel "iopamidol-validación".
- 3.3.3. **Criterios de aceptación:**

C.V	T
≤ 2%	≤ 2

### 3.4. PRECISIÓN DEL SISTEMA.

- 3.4.1. **Preparación de la solución de trabajo:** se pesan 61.4 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.3.1. [61.4 µg/mL]
- 3.4.2. **Procedimiento:** se inyecta 6 veces y se calcula el coeficiente de variación de las áreas bajo las curvas resultantes; los cálculos se realizan en la hoja de microsoft excel "precisión del sistema", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"
- 3.4.3. **Criterios de aceptación:**

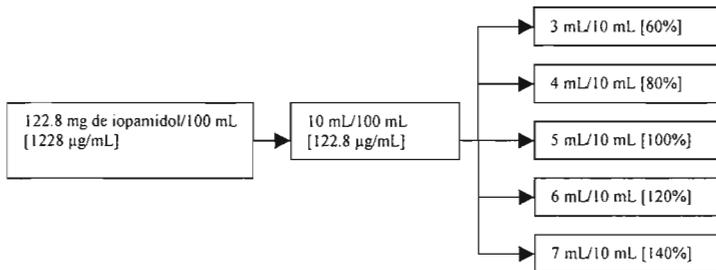
C.V
≤ 1.5%

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 8 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**3.5. LINEALIDAD DEL SISTEMA.**

**3.5.1. Curva estándar.**



**3.5.2. Procedimiento:** cada punto se inyecta por triplicado; los cálculos se realizan en la hoja de microsoft excel "linealidad del sistema", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"

**3.5.3. Criterios de aceptación:**

$r^2$	$IC(\beta_1)$
$\geq 0.98$	$\neq 0$

Nota: Para calcular la cantidad recuperada se utiliza el área promedio de la adecuabilidad 17-DIC-03. (pág. 4)

**3.6. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA (06-ENE-04)**

- 3.6.1. Preparación de la solución stock de agente complejante:** se pesan 38.4 mg de agente complejante, se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y se sonica durante 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [384 µg de agente complejante/mL]
- 3.6.2. Preparación de la solución stock de agente estabilizador de pH:** se pesan 11 mg de agente estabilizador de pH y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y 10 mL de solución stock de agente complejante, se sonica por 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [110 µg de agente estabilizador de pH/mL] y [38.4 µg de agente complejante /mL]
- 3.6.3. Preparación del placebo analítico:** Se toma una alícuota de 1 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 1000 mL, y se afora con agua. [0.11 µg de agente estabilizador de pH/mL] y [0.0384 µg de agente complejante /mL]

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 9 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

- 3.6.4. Preparación del placebo adicionado:** se pesan 60.5 mg de estándar secundario de iopamidol y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de solución placebo, se sonica por 10 minutos, y se afora con solución placebo, se toma una alícuota de 10 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL y se lleva al aforo con solución placebo. [0.11 µg de agente estabilizador de pH/mL], [0.0384 µg de agente complejante disódico /mL] y [60.5 µg de iopamidol /mL]
- 3.6.5. Procedimiento:** se inyecta 5 veces la solución; los cálculos se realizan con las fórmulas indicadas en la hoja de microsoft excel "adecuabilidad en método", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"

<b>C.V</b>	<b>T</b>
≤ 2%	≤ 2

**3.7. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.**

**3.7.1. Preparación de placebos adicionados:**

	<b>STD 1</b>	<b>STD 2</b>	<b>STD 3</b>	<b>STD 4</b>	<b>STD 5</b>	<b>STD 6</b>
Peso (mg)	62.5	62.6	62.4	61.8	62.5	61.5

Para cada placebo adicionado se procede conforme al punto 3.6.4.

	<b>STD 1</b>	<b>STD 2</b>	<b>STD 3</b>	<b>STD 4</b>	<b>STD 5</b>	<b>STD 6</b>
Concentración final [µg /mL],	62.5	62.6	62.4	61.8	62.5	61.5

**3.7.2. Criterios de aceptación.**

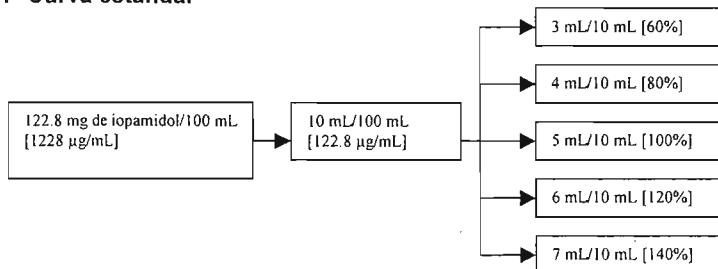
<b>C.V</b>	<b>IC(µ)</b>
≤ 2%	98-102%

Nota: Para calcular la cantidad recuperada se utiliza el área promedio de la adecuabilidad del día 06-ENE-04. (pág. 5)

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 10 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

### 3.8. LINEALIDAD DEL MÉTODO.

#### 3.8.1. Curva estándar



Todos los aforos se realizan con la solución 3.6.3. (pág.5)

**3.8.2. Procedimiento:** cada punto se inyecta por triplicado; los cálculos se realizan en la hoja de microsoft excel "linealidad del sistema", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"

#### 3.8.3. Criterios de aceptación

$r^2$	IC( $\beta_1$ )	IC( $\beta_0$ )	CV <sub>Y/X</sub>	IC( $\mu$ )	CV
0.98	Incluye 1	Incluye 0	≤ 2%	98-102%	≤ 2%

Nota: Para calcular la cantidad recuperada se utiliza el área promedio de la adecuabilidad del día 06-ENE-04. (pág. 5)

### 3.9. ESPECIFICIDAD

**3.9.1. Preparación de la solución stock de agente estabilizador de pH:** se pesan 10 mg de agente estabilizador de pH y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y se sonica durante 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [100 µg de agente estabilizador de pH/mL]

**3.9.2. Preparación de la solución stock de agente complejante:** se pesan 38.4 mg de agente complejante y se depositan en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua y se sonica durante 10 minutos y se lleva al aforo con agua. [384 µg de agente complejante/mL]

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 11 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

- 3.9.3. Preparación de la solución de trabajo de agente estabilizador de pH:** se toma una alícuota de un mililitro de solución stock de agente estabilizador de pH y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua, se sonica por 10 minutos y se afora con agua, se toma una alícuota de 10 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL y lleva al aforo con agua. [0.1 µg de agente estabilizador de pH/mL]
- 3.9.4. Preparación de la solución de trabajo de agente complejante:** se toma una alícuota de un mililitro de solución stock de complejante y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL, se agrega aproximadamente 50 mL de agua, se sonica por 10 minutos y se afora con agua, se toma una alícuota de 1 mL de la solución anterior y se deposita en un matraz volumétrico de 100 mL y se lleva al aforo con agua. [0.0384 µg de agente complejante/mL]
- 3.9.5. Preparación de la solución de iopamidol:** se pesan 61.2 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.3.1. [61.2 µg de iopamidol/mL]
- 3.9.6. Procedimiento:** Cada solución se inyecta; las observaciones se indican en la hoja de microsoft excel "Especificidad", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"
- 3.9.7. Criterios de aceptación**

Lectura
Solo del analito

**3.10. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA (08-ENE-04)**

- 3.10.1. Preparación del placebo adicionado:** se pesan 60.5 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.6.4. [60.5 µg de iopamidol/mL]
- 3.10.2. Procedimiento:** se inyecta 5 veces la solución; los cálculos se realizan con las fórmulas indicadas en la hoja de microsoft excel "adecuabilidad 1", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"
- 3.10.3. Criterio de aceptación**

C.V	T
≤ 2%	≤ 2

**3.11. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA (09-ENE-04)**

- 3.11.1. Preparación del placebo adicionado:** se pesan 61.2 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.6.4. [61.2 µg de iopamidol/mL]

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 12 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**3.11.2. Procedimiento:** se inyecta 5 veces la solución; los cálculos se realizan con las fórmulas indicadas en la hoja de microsoft excel "adecuabilidad 2", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"

**3.11.3. Criterio de aceptación.**

<b>C.V</b>	<b>T</b>
≤ 2%	≤ 2

**3.12. PRECISIÓN DEL MÉTODO (PRECISIÓN INTERMEDIA O TOLERANCIA INTERDÍA/ANALISTA)**

**3.12.2. Pesos del analito:**

	PESO (mg)	
	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	60.9	60.5
DIA 2	61.2	60.3

**3.12.3. Procedimiento:** Cada punto se inyecta por triplicado; los cálculos se realizan en la hoja de microsoft excel "Precisión intermedia del sistema", en el archivo de microsoft excel "validación-iopamidol"

**3.12.4. Criterios de aceptación.**

<b>C.V</b>
≤ 2%

Nota: Para todas las soluciones anteriores se procede a preparar conforme al punto 3.6.4. Los cálculos para el día 1 se realizan con el área promedio de la adecuabilidad del día 08-ENE-04 y para el día dos se utiliza el área promedio de la adecuabilidad del día 09-ENE-04. (pág. 8)

	CONCENTRACIÓN [ µg / mL ]	
	ANALISTA 1	ANALISTA 2
<b>DÍA 1</b>	60.9	60.5
<b>DÍA 2</b>	61.2	60.3

BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 13 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

3.13. **ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA (10-ENE-04)**

3.13.2. **Preparación del placebo adicionado:** se pesan 60.5 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.6.4. [60.5 µg de iopamidol/mL]

3.13.3. **Procedimiento:** se inyecta 5 veces la solución; los cálculos se realizan con las fórmulas indicadas en la hoja de microsoft exel "adecuabilidad 3", en el archivo de microsoft exel "validación-iopamidol"

3.13.4. **Criterio de aceptación.**

<b>C.V</b>	<b>T</b>
≤ 2%	≤ 2

3.14. **ESTABILIDAD ANALÍTICA.**

3.14.2. **Preparación del placebo adicionado:** se pesan 60.4 mg de estándar secundario de iopamidol y se procede conforme al punto 3.6.4. [60.4 µg de iopamidol/mL]

3.14.3. **Procedimiento:** El placebo adicionado se divide en tres partes (0, 24 y 48 horas), cada una se inyecta por triplicado; los cálculos se realizan en la hoja de microsoft exel "Estabilidad analítica", en el archivo de microsoft exel "validación-iopamidol"

3.14.4. **Criterios de aceptación:**

<b> di </b>
2%

Nota: los cálculos para la estabilidad analítica se realizaron con el área promedio de la adecuabilidad de la columna del 10-ENE-04.(pág. 10)

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 14 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA

- FECHA DE ANÁLISIS: 17-DIC-03
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

ESTANDAR IOPAMIDOL	
INYECCIÓN	ÁREA
1	15290704
2	15277360
3	15266944
4	15293864
5	15263800

ADECUABILIDAD	
<b>Tr</b>	4.147
<b>h</b>	148.23
<b>W</b>	2.92
<b>W<sub>5%</sub></b>	2.53
<b>f<sub>5%</sub></b>	1.17
<b>N</b>	3227.17
<b>T</b>	1.081

PROMEDIO	15278534
DESVEST	13563.88
% C.V	0.09

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 5

##### 4.2. PRECISIÓN DEL SISTEMA

- FECHA DE ANÁLISIS: 17-DIC-03
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

ESTANDAR IOPAMIDOL	
INYECCIÓN	ÁREA
1	15731648
2	15706400
3	15696504
4	15676592
5	15705904
6	15704968

PROMEDIO	15703669
DESVEST	17784.64
% C.V	0.11

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 6

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 15 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

#### 4.3. LINEALIDAD DEL SISTEMA

- FECHA DE ANÁLISIS: 17-DIC-03
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

<b>CURVA ESTANDAR 1</b>			
CONCENTRACIÓN %	CANTIDAD ADICIONADA (mg/mL)	ÁREA	%C.V
60	36.84	9422278	
60	36.84	9393242	0.20
60	36.84	9428064	
80	49.12	12497872	
80	49.12	12462640	0.15
80	49.12	12469288	
100	61.40	15703568	
100	61.40	15692392	0.07
100	61.40	15713024	
120	73.68	18746992	
120	73.68	18737872	0.04
120	73.68	18752992	
140	85.96	22050544	
140	85.96	22016720	0.10
140	85.96	22010880	

<b>b<sub>1</sub></b>	<b>b<sub>0</sub></b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>t<sub>0.975,13</sub></b>
157461.96	-72971.4667	0.9999	2.160

$$IC(\beta_1) = 157461.96 \pm 2.160 \cdot 0.0091 = 157461.97, 157461.94$$

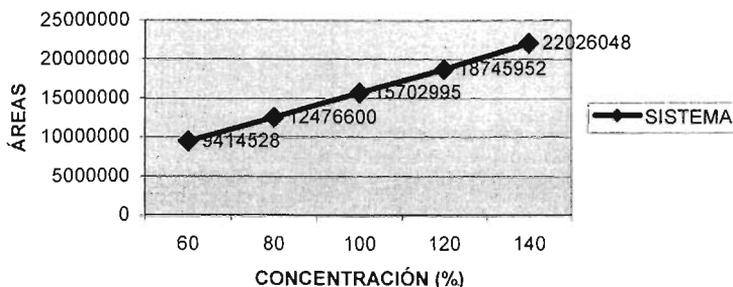
En La gráfica 1 se muestra la Linealidad del sistema

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 7

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 16 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**GRÁFICA 1: LINEALIDAD DEL SISTEMA**



**4.4. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA**

- FECHA DE ANÁLISIS: 06-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

INYECCIÓN	ÁREA
1	14991984
2	14991352
3	14972568
4	14977584
5	14941080

ADECUABILIDAD	
Tr	4.106
h	148.23
W	2.74
W <sub>5%</sub>	2.53
f <sub>5%</sub>	1.16
N	3593.0
T	1.0905

PROMEDIO	14974914
DESVEST	20730.20
% CV	0.14

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 8

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 17 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**4.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.**

- FECHA DE ANÁLISIS: 06-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

PLACEBO ANALÍTICO	CANTIDAD ADICIONADA (µg/mL)	CANTIDAD RECUPERADA (µg/mL)	% RECOBRO
1	62.5	63.5	101.6
2	62.6	63.4	101.3
3	62.4	62.8	100.7
4	61.8	63.4	102.6
5	62.5	63.3	101.3
6	61.5	63.5	103.3

PROMEDIO	101.78
DESVEST	0.95
% C.V	0.94

Intervalo de confianza para la media poblacional.

$$IC(\mu) = 101.78 \pm 2.571 \cdot (0.95 / \text{raiz}(6)) = 95.79, 107.76$$

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 9

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 18 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**4.6. LINEALIDAD DEL MÉTODO.**

- FECHA DE ANÁLISIS: 06-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

<b>CURVA ESTANDAR 1</b>			
CONCENTRACION	CANTIDAD ADICIONADA (µg/mL)	CANTIDAD RECUPERADA(µg/mL)	% RECOBRO
60	36.72	37.03	100.84
60	36.72	36.95	100.61
60	36.72	37.03	100.85
80	48.96	50.19	102.52
80	48.96	50.14	102.42
80	48.96	50.29	102.71
100	61.20	61.93	101.20
100	61.20	61.88	101.11
100	61.20	61.69	100.81
120	73.44	73.12	99.57
120	73.44	75.02	102.15
120	73.44	74.54	101.49
140	85.68	85.62	99.93
140	85.68	86.44	100.88
140	85.68	86.68	101.17

PROMEDIO	101.22
DESVEST	0.91
% CV	0.90

$b_1$	$b_0$	$r$	$r^2$
1.000870695	0.65051265	0.999543087	0.999086382

Intervalos de confianza

$$IC(\beta_1) = 1.001 + 2.160 \cdot 0.008 = 1.0183, 0.9837$$

$$IC(\beta_0) = 0.6505 + 2.160 \cdot 0.534 = 1.804, -0.503$$

$$IC(\mu) = 101.22 + 2.145 \cdot (0.91/\sqrt{15}) = 100.71, 101.72$$

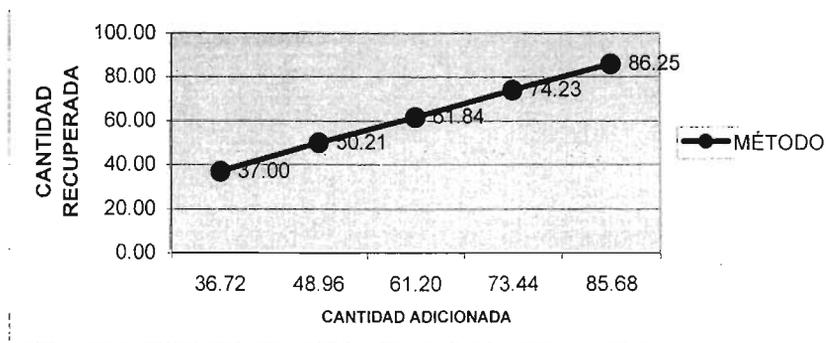
$$CV_{y/x} = 0.909$$

En la gráfica 2 se muestra la Linealidad del método.

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 10

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 19 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**GRÁFICA 2. LINEALIDAD DEL MÉTODO**



#### 4.7. ESPECIFICIDAD.

- FECHA DE ANÁLISIS: 06-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

MATERIA PRIMA	AREA
Iopamidol	15505928
Trometamina	No detectable
Edetato de calcio disódico	No detectable

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 11

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 20 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**4.8. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA**

- FECHA DE ANÁLISIS: 08-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

INYECCIÓN	ÁREA
1	11571136
2	11589880
3	11344712
4	11582920
5	11549936

ADECUABILIDAD	
Tr	4.120
h	148.70
W	2.37
W <sub>5%</sub>	2.31
f <sub>5%</sub>	1.44
N	4835.24
T	0.8021

PROMEDIO	11527717
DESVEST	103418.24
% CV	0.90

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 12

**4.9. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA**

- FECHA DE ANÁLISIS: 09-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

INYECCIÓN	ÁREA
1	11577776
2	11578872
3	11586176
4	11567736
5	11575088

ADECUABILIDAD	
Tr	4.142
h	148.81
W	2.41
W <sub>5%</sub>	2.27
f <sub>5%</sub>	1.12
N	4726.13
T	1.013

PROMEDIO	11577130
DESVEST	6665.19
% CV	0.06

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 13

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 21 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**4.10. PRECISIÓN DEL MÉTODO.**

- FECHA DE ANÁLISIS: 08-ENE-04 Y 09-ENE-04
- ANALISTAS: Q.F.B. L. PÉREZ / Q.F.B. M. FRANCO

Contenido del analito en µg/mL

		ANALISTA	
		1	2
DÍA	1	60.89	59.76
		60.82	59.66
		60.82	59.56
	2	61.16	60.74
		61.31	60.73
		61.27	60.75

PROMEDIO	60.62
DESVEST	0.61
%CV	1.01

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 14

**4.11. ADECUABILIDAD DE LA COLUMNA**

- FECHA DE ANÁLISIS: 10-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

INYECCIÓN	ÁREA
1	11378224
2	11341136
3	11367720
4	11375840
5	11371608

ADECUABILIDAD	
Tr	4.133
h	148.64
W	2.63
W <sub>s</sub> %	2.35
f <sub>s</sub> %	1.46
N	3951.29
T	0.805

PROMEDIO	11366906
DESVEST	14956.42
% CV	0.13

- Los cromatogramas se pueden consultar en el Anexo 15.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1 <sup>a</sup>		<b>PÁGINAS:</b> 22 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

**4.12. ESTABILIDAD ANALÍTICA.**

- FECHA DE ANÁLISIS: 08-ENE-04 al 10-ENE-04
- ANALISTA: Q.F.B. M. FRANCO

Concentración en  $\mu\text{g} / \text{mL}$ .

MUESTRA	INICIAL ( $Y_0$ )	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	
		24 h ( $Y_1$ )	48 h ( $Y_2$ )
1	60.00	60.02	59.60
2	60.02	60.08	59.56
3	60.01	59.99	59.53

/d <sub>1</sub> /	0.02
/d <sub>2</sub> /	0.45

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 23 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## 5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

	PARÁMETRO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	DECISIÓN
<b>SISTEMA</b>	ADECUABILIDAD (17-DIC-03)	$T \leq 2$	1.081	CUMPLE
		$CV \leq 2 \%$	0.09 %	CUMPLE
	PRECISIÓN	$CV \leq 1.5 \%$	0.11 %	CUMPLE
		$r^2 \geq 0.98$	0.9999	CUMPLE
LINEALIDAD	$IC(\beta_1) \neq 0$	157461.97 a 157461.94	CUMPLE	
<b>MÉTODO</b>	ADECUABILIDAD (06-ENE-04)	$T \leq 2$	1.0905	CUMPLE
		$CV \leq 2 \%$	0.14 %	CUMPLE
	EXACTITUD Y REPETIBILIDAD	$IC(\mu) 98 - 102\%$	95.79 a 107.76	CUMPLE
		$CV \leq 2\%$	0.94 %	CUMPLE
	LINEALIDAD	$r^2 \geq 0.98$	0.9991	CUMPLE
		$IC(\beta_1)$ incluye 1	1.0183 a 0.9837	CUMPLE
		$IC(\beta_0)$ incluye 0	1.804 a -0.503	CUMPLE
		$CV_{y/x} \leq 2 \%$	0.909	CUMPLE
		$IC(\mu) 98 - 102\%$	100.71 a 101.72	CUMPLE
		$CV \leq 2 \%$	0.90	CUMPLE
	ESPECIFICIDAD	Solo lectura del analito	Se detecta lectura solo del analito	CUMPLE
	ADECUABILIDAD (08-ENE-04)	$T \leq 2$	0.8021	CUMPLE
		$CV \leq 2\%$	0.90 %	CUMPLE
	ADECUABILIDAD (09-ENE-04)	$T \leq 2$	1.013	CUMPLE
$CV \leq 2\%$		0.06 %	CUMPLE	
PRECISIÓN DEL MÉTODO	$CV \leq 2\%$	1.01 %	CUMPLE	
ADECUABILIDAD (10-ENE-04)	$T \leq 2$	0.805	CUMPLE	
	$CV \leq 2\%$	0.13 %	CUMPLE	
ESTABILIDAD ANALÍTICA	$ di  \leq 2\%$	$ d1  = 0.02$ $ d2  = 0.47$	CUMPLE	

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 24 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## 6. CONCLUSIONES

En la adecuabilidad de la columna del sistema (17-DIC-03) el coeficiente de variación obtenido 0.09% respecto al 2% del criterio de aceptación y factor de coleccionamiento obtenido 1.081 respecto al criterio de aceptación que es de 2, demuestra que no hay una variación significativa, por lo cual cumple con los criterios de aceptación.

En la precisión del sistema se calculó el coeficiente de variación (CV = 0.11%), con el cual se demuestra que no hay variación significativa entre los resultados, ya que es aceptable hasta 1.5% de coeficiente de variación.

En la linealidad del sistema se realizó el análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados a los valores de áreas obtenidas, en el rango de concentraciones de 60% a 140% de la concentración de trabajo del método analítico, el coeficiente de determinación obtenido ( $r^2 = 0.9999$ ), demuestra que existe una relación lineal entre la concentración de iopamidol y el área en el rango de concentración antes mencionado, además de que el intervalo de confianza de la ordenada al origen resultó de 157461.94-157461.97 en el cual no se incluye cero, por lo que cumple con los criterios de aceptación establecidos.

En la adecuabilidad de la columna del método (06-ENE-04) se realizó el cálculo del coeficiente de variación y factor de coleccionamiento, el coeficiente de variación obtenido (CV = 0.14%), demuestra que no hay una variación significativa entre las lecturas resultantes ya que el criterio de aceptación es hasta un 2%, además del factor de coleccionamiento obtenido (T = 1.0905) que es menor a 2, por lo cual cumple con los criterios de aceptación establecidos.

En la exactitud y repetibilidad del método se realizó el cálculo del coeficiente de variación (CV = 0.94) demostrando que no hay una variación significativa entre las lecturas resultantes ya que es aceptable hasta un 2%, además de que en el intervalo de confianza de la media poblacional (95.79-107.76%) se incluye el 100%, por lo que cumple con los criterios de aceptación establecidos.

Para la linealidad del método se realizó el análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados a las cantidades adicionadas Vs cantidades recuperadas, en el rango de concentraciones de 60% a 140% de la concentración de trabajo del método analítico., el coeficiente de determinación obtenido ( $r^2 = 0.9991$ ), demuestra que existe una relación lineal entre las cantidades adicionadas y las cantidades recuperadas, en el rango de concentración utilizado, además de que en el intervalo de confianza de la pendiente (1.0183-0.9837) se incluye 1, el intervalo de confianza de la ordenada al origen (1.804 a -0.503) se incluye 0, el intervalo de confianza de la media poblacional (100.71-101.72%) cuyos valores están dentro del intervalo de 98-102%, el coeficiente de variación de regresión (0.909) y el coeficiente de variación el porcentaje de recobro (0.90), demuestran que no hay una variación significativa entre los valores obtenidos, cumpliendo con los criterios de aceptación establecidos.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 25 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

En la especificidad, se demostró que solo el analito es detectado a las condiciones de trabajo ya que la trometamina y el edetato de calcio disódico no genero lectura alguna.

En la adecuabilidad de la columna (08-ENE-04) se realizó el calculo coeficiente de variación y factor de coleo, el coeficiente de variación obtenido (CV = 0.90%), demuestra que no hay una variación significativa entre las lecturas resultantes ya que el criterio de aceptación es hasta un 2%, además del factor de coleo obtenido (T = 0.8021) el cual es menor a 2, por lo cual cumple con los criterios de aceptación.

En la adecuabilidad de la columna del sistema (09-ENE-04), coeficiente de variación y factor de coleo, el coeficiente de variación obtenido (CV = 0.06%), demuestra que no hay una variación significativa entre las lecturas resultantes ya que es aceptable hasta un 2%, además del factor de coleo obtenido (T = 1.013) el cual es menor a 2, por lo cual cumple con los criterios de aceptación.

En la precisión del método se calculó el coeficiente de variación (CV = 1.01), con el cual se demuestra que no hay variación significativa entre analistas y día análisis, ya que es aceptable hasta un 2%.

Para la adecuabilidad de la columna del sistema (10-ENE-04) se calcularon los mismos factores que las anteriores adecuabilidades, resultando un coeficiente de variación de 0.13%, lo que demuestra que no hay una variación significativa entre las lecturas resultantes ya que es aceptable hasta un 2%, además del factor de coleo obtenido de 0.805 el cual es menor a 2, por lo cual cumple con los criterios de aceptación.

A las muestras sometidas a estabilidad se le determinó la concentración de iopamidol a un intervalo de 0-48 h y dado que la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto al análisis inicial ( $d1/ = 0.02$  y  $d2/ = 0.47$ ) resultaron menores al 2%, por lo que cumplen con los criterios de aceptación establecidos.

Por lo tanto se desprende que el método aquí expuesto es lineal en un rango de concentración de 36 a 84  $\mu\text{g/mL}$ , repetible entre analistas, repetible entre días, exacto y específico para ser utilizado como método de rutina en pruebas de control de calidad.

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 26 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## 7. SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS UTILIZADAS

T	Factor de coleo
CV	Coefficiente de variación
N	Número de platos teóricos
$r^2$	Coefficiente de determinación
IC( $\beta_1$ )	Intervalo de confianza para la pendiente poblacional
t	Tiempo de retención
$f_{5\%}$	Distancia de mitad del pico a pico al 5% de altura
IC( $\mu$ )	Intervalo de confianza para la media poblacional
$w_{5\%}$	Ancho del pico al 5% de altura
h	Altura del pico
W	Ancho del pico en la línea base
IC( $\beta_0$ )	Intervalo de confianza para la ordenada al origen
$CV_{Y/X}$	Coefficiente de variación de la regresión
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
g.l	Grados de libertad
n	Número de mediciones
/di/	Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición con respecto al valor inicial
S.S.A	Secretaría de Salud
$b_1$	Pendiente
$b_0$	Ordenada al origen

*BONAPLAST S.A. DE CV.  
DIVISIÓN FARMACÉUTICA*

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 27 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## 8. REFERENCIAS

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM. 7ª. ed. México: Secretaria de Salubridad y Asistencia, 2000: 1715,1716, 1721-1723.
2. Guía FDA para validación de métodos bioanalíticos.
3. Guía FDA para validación de métodos analíticos.
4. Guías ICH para validación de procedimientos analíticos ICH-Q2A

**BONAPLAST S.A. DE CV.**  
**DIVISIÓN FARMACÉUTICA**

<b>CÓDIGO:</b> FACAL-6-008-04	<b>TÍTULO:</b>  REPORTE DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE IOPAMIDOL	<b>FECHA DE EMISIÓN:</b> FEBRERO 2004
<b>EDICIÓN:</b> 1ª		<b>PÁGINAS:</b> 28 de 28
<b>SUSTITUYE A:</b> NUEVA		

## 9. ANEXOS

Para fines de la empresa, se deberá contar con los siguientes Anexos:

<b>ANEXO #</b>	<b>NOMBRE</b>
1	Certificado de calidad de producto terminado.
2	Calificación del HPLC HP 1100
3	Calibración de la balanza Mettler Toledo AB 204-S
4	Certificado de calidad del iopamidol WP-011203
5	Cromatogramas de la adecuabilidad (17-DIC-03)
6	Cromatogramas de la precisión del sistema
7	Cromatogramas de la linealidad del sistema
8	Cromatogramas de la adecuabilidad (06-ENE-04)
9	Cromatogramas de la exactitud y repetibilidad del método
10	Cromatogramas de la linealidad del método
11	Cromatogramas de la especificidad
12	Cromatogramas de la adecuabilidad (08-ENE-04)
13	Cromatogramas de la adecuabilidad (09-ENE-04)
14	Cromatogramas de la precisión del método
15	Cromatogramas de la adecuabilidad (10-ENE-04)
16	Cromatogramas de la estabilidad analítica

## VII. ANALISIS DE RESULTADOS

Se elabora un protocolo de validación de métodos analíticos, para el departamento de Control de la Calidad, basándose en la guía de validación de métodos analíticos emitida por el colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos, en donde se establecen los lineamientos generales para validación y comparación entre métodos analíticos, cumpliendo también con los requerimientos de un protocolo de validación conforme a la Guía OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Segunda parte: Validación.

Este protocolo, asegura que los métodos que se validen en Bonoplast S.A. de C.V. se hagan correcta y uniformemente, ya que la validación es una parte importante en el aseguramiento de la Calidad del producto final, siendo responsiva directa del departamento de Control de Calidad, evitando así la variación entre los criterios de los Químicos encargados de las validaciones analíticas.

El protocolo consta de objetivos, alcance, responsabilidades, definiciones de términos utilizados, símbolos y abreviaturas, una tabla en donde el Químico debe basarse para indicar los parámetros que corresponden para su método analítico, también se hace una descripción de cómo evaluar los parámetros de validación de métodos analíticos, así como los criterios de aceptación, también, se indica la documentación mínima que debe sustentar la validación, un formato para reportar la validación, indicando los puntos y su orden en el reporte, y además el conjunto de fórmulas necesarias para calcular los parámetros estadísticos de evaluación, aunque se pueden llevar a cabo los cálculos si se utiliza una hoja de cálculo, la cual debe quedar bajo cuidado del Gerente de Control de Calidad y Responsable Sanitario, para cualquier aclaración.

El protocolo para validación del método analítico para cuantificación de iopamidol, ésta realizado basándose en el protocolo para validación de métodos analíticos; ésta implementación se hizo para asegurar que éste fuera funcional, además de llevar a cabo la validación del método analítico para la cuantificación de iopamidol por HPLC en una solución inyectable (solucont300), la cual es una solución radiológica saturada.

En el reporte de la validación del método analítico para cuantificación de iopamidol, se pueden observar los resultados, el análisis de resultados y la conclusión satisfactoria, ya que se cumplieron los parámetros de estudio indicados en el protocolo.

## VIII. CONCLUSIONES

Se elaboró un protocolo para validación de métodos analíticos para el departamento de Control de la Calidad, basado en documentación especializada, cumpliendo con lo indicado en la NOM-059-SSA1-1993, conforme a tener métodos analíticos validados, ya que indica que los fabricantes de medicamentos tienen que determinar que actividades de validación son necesarias para demostrar que se tiene el control de las operaciones, además que para validar un método analítico debe realizarse conforme a un protocolo aprobado.

Se implementó en el análisis cromatográfico para cuantificación de iopamidol en una solución inyectable (solucont300), dando resultados satisfactorios.

La implementación del protocolo para validación de métodos analíticos brinda las siguientes ventajas:

- Tener un punto más del Sistema de Calidad en el laboratorio.
- Tener un procedimiento regulado por un protocolo aprobado.
- Realizar las validaciones de métodos analíticos en una forma preestablecida.
- Asegurar la calidad del producto al utilizar métodos analíticos validados.
- Documentar y dar seguimiento a no conformidades con respecto a la práctica del protocolo general para validación de métodos analíticos.

La validación de los métodos analíticos no abarca toda la calidad, pero es una parte nuclear en el Control de Calidad del producto terminado, aunque como ya se había dicho, la calidad de un producto será mala, aunque el producto cumpla con especificaciones si no se llevaron unas buenas prácticas de fabricación.

El protocolo de validación de métodos analíticos elaborado respalda y asegura la confiabilidad de resultados obtenidos, para brindar servicios que satisfagan las necesidades y cumplan con las expectativas de los clientes, elevando la competitividad y desempeño del departamento de Control de Calidad, reflejándose en un mejor aprovechamiento de recursos, un mayor grado de responsabilidad, y un control de procesos analíticos.

## IX. REFERENCIAS

1. García AM. Validación de métodos analíticos. México: Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de la Dirección General de Control de Insumos para la Salud, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos, 2002: 1-123.
2. Jackson PD. ISO 9000 BS 5750 implemente la calidad de clase mundial. México: Limusa, 1996: 16-54.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
4. Hoyle D. ISO 9000 manual de sistemas de calidad. 3a. ed. España: editorial paraninfo, 1996: 17-45.
5. Chaloner LG. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Segunda parte: Validación. Ginebra: OMS, 1998:3-70.
6. Knox JH. High Performance Liquid Chromatography. United States of America: Wiley Interscience, 1989:79-83.
7. Brown PR. High-Performance Liquid Chromatography. Ana chem 1990; 62: 995a.
8. Raymond PW. Liquid Chromatography for the analyst. United States of America: Marcel Dekker, 1994: Vol. 67: 54-62.
9. Glajach JL, Kirkland JJ. Optimization of selectivity in liquid chromatography. Anal chem 1983; 55: 319a-336a.
10. Novotny M, flurer CF. Dual Microcolumn Immunoaffinity Liquid Chromatography: An Analytical Application to Human Plasma Protein. Anal chem 1993; 65: 817-821.
11. Schoeff MS, Williams RH. Principles of Laboratory Instruments. United States of America: Mosby, 1993:42-54.
12. Budavari S. The Merck Index. 13<sup>va</sup>. ed. United States of America: Inc. Rahway, 1996: 866-867.
13. Rosenstein SE. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 50a. ed. México: Thomson PLM, 2004: 2295-2297.
14. Internacional Organization for Standaration. ISO 9000 los elementos esenciales. Octubre 2003 [citado oct 3]; avalia from URL: <http://www.iso.ch>.
15. Norma Mexicana NMX-CC-9000-IMNC-2000. Sistema de gestión de calidad. Vocabulario y definiciones.
16. Norma Mexicana NMX-CC-9001-IMNC-2000. Sistema de gestión de calidad. Requisitos.
17. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM. 7<sup>a</sup>. ed. México: Secretaria de Salubridad y Asistencia, 2000: 229-231, 1715-1716 y 1721-1723.
18. United States Pharmacopoeial Convention. USP XXVII. 27<sup>va</sup>. ed. Toronto: United States Pharmacopoeial Convention, 2004: 1007-1009 y 2622-2625.

19. Guidance for industry Bioanalytical methods Validation for Human Studies. December 1998 FDA.
20. Guideline for industry: Text on validation of analytical procedures. ICH-Q2A, March 1995.
21. Review Guidance: Validation of chromatographic methods. CDER. November 1994, CMC 3.
22. Guidance for industry: Analytical procedures and methods validation. August 2000
23. Guideline for submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation. February 1987. FDA.
24. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation analytical procedures: Methodology. 6 Nov 1996.
25. ICH Guideline on the validation analytical procedures: Methodology; ICHQ2B, November 1996.
26. Métodos analíticos, Validación. Guías generales de validación de la DGCIS, SSA (1989).
27. Rampazoo P. Standardization and validation of analytical methods in the pharmaceutical industry. Chicago: Ell Farmaco, 1990: vol. 45: 807-815.
28. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Validación de métodos analíticos. España: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, 1989: 1-29.
29. Calpena AC, Escribano EF. Validación de los métodos analíticos. Farm Clin 1991; 7(9):749-758.
30. Anon. Validation of Analytical Procedures. United States of America: International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1993.
31. Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos.
32. Quattrochi OA, Abelaira SL. Introducción al HPLC. Buenos Aires: Artes Gráficas, 1992: 302-28.
33. Willard H. Métodos instrumentales de análisis. México: Editorial Continental, 1990: 128-131.
34. Kenneth AC. Análisis farmacéutico. New York: Reverte, 1981.
35. Dominique P. Análisis químico farmacéutico de medicamentos. México: Editorial UTEHA, 1998: 23-36.
36. Sadroddin G. Theoretical study of system peaks in linear chromatography. Anal chem 1990; 62: 923-932.
37. Armstrong DW. Evaluation of the effect of organic modifier and pH on retention and selectivity in reversed-phase liquid chromatography Separation of Alkaloids on a Cyclodextrin Bonded Phase. Anal chem 1990; 62: 332-338.
38. Green RB. Practical Detectors for Chromatography. Anal chem 1983; 55: 20-31.
39. Jones DG. Analysis of styrene oligomers by particle beam liquid chromatography/ mass spectrometer. Anal chem 1991; 63: 460.
40. Mant CT, Hodges RS. High-Performance Liquid Chromatography of Peptides and Proteins: Separations, Analysis, and Conformation. United States of America: Press, 1991: 106-114.
41. McClure PC. Electron-acceptor and Electron-donor Chromatographic Stationary Phases for the Reversed-Phase Liquid Chromatographic

Separation and Isomer Identification of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxin. Anal chem 1993; 65: 2502-2509.

42. Regnier FE, Riggin A. Quantification of Antibodies to Human Growth Hormone by High-Performance Protein G Affinity Chromatography with Fluorescence Detection. Anal chem 1991; 63: 468-473.
43. Haugland RP. Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals. New Jersey: Molecular Probes Inc, 1985:1085.
44. Dorschel CA, Ekmanis JL., Oberholtzer JE, Warren FV, Bidlingmeyer BA. LC detectors: evaluation and practical implication of linearity. Anal chem 1989; 61: 968a.