

25
201



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



FALLA DE ORIGEN

**“ CUANTIFICACION DE TRAZAS DE 12 PRINCIPIOS
ACTIVOS EN EQUIPO DE MANUFACTURA
FARMACEUTICA POR C.L.A.R ”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

ROCIO GUADALUPE GONZALEZ GUERRERO

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE LUIS JURADO BAISSAVAL



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIO



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Cuantificación de Trazas de 12 Principios Activos en
Equipo de Manufactura Farmacéutica por C.L.A.R.

que presenta la pasante: Rocío Guadalupe González Guerrero
con número de cuenta: 7733045-7 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga .

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 10. de Septiembre de 1995

PRESIDENTE	<u>Dr. José Luis Jurado Baizabal</u>
VOCAL	<u>Q.F.B. Delia Reyes Jaramillo</u>
SECRETARIO	<u>M. en C. Ma. Teresa Ramirez Silva</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Elia Granados Enriquez</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Rebollos Barrera</u>

DEDICATORIAS

- A mi mejor maestro y más grande ejemplo: **MI PADRE**
- A mi mejor amiga, compañera y consejera: **MI MADRE**

Y a ambos por sus esfuerzos, apoyo, comprensión y guía

- **A mi Esposo e hija.**
Con todo mi amor a Carlos y Gaby por ser las personas que comparten mi vida, por su confianza y apoyo

- A cada uno de mis hermanos.
Alex , Gely, Lilia, Bety, Laura, Memo y Claudia.
Ya que el vínculo que nos une no sólo es de sangre, sino de cariño, respeto y goce mutuo.

- A mi hermana Lilia.
Por el gran apoyo que me brindó en el transcurso de mi carrera.

- A mi cuñado Juan.
Por la ayuda para la realización de este trabajo.

- A mis amigos.

AGRADECIMIENTOS

- A todas y cada una de las personas que trabajan en la Compañía Productos Sterling de México, S.A. de C.V.

- Mil gracias a Oscar por la confianza que depositó en mi y en mi trabajo y por la infinita paciencia que tuvo durante la realización del mismo y en especial por su amistad.

- A Elba por brindarme su apoyo total para realizar éste trabajo.

- A Clara por su cooperación en la parte experimental.

- A Silvia por apoyar que el presente trabajo se hiciera realidad y por el estímulo brindado.

- A Edgar porque sus estudios realizados fueron de gran ayuda en este proyecto.

- A mi amiga Laura, mil gracias por tú ayuda tan valiosa, que me has dado.

A mis Maestros.

**Con agradecimiento al Dr. José Luis Jurado Baizabal,
por su apoyo y acertada asesoría en la realización de ésta
Tesis.**

A mis Compañeros y amigos.

A mi Honorable Jurado

Dr. José Luis Jurado Baizabal

Q.F.B. Delia Reyes Jaramillo

M. en C. Ma. Teresa Ramírez Silva

Q.F.B. Elia Granados Enríquez

Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera

Éste trabajo se realizó en el Laboratorio de Control Químico de los Laboratorios "Productos Sterling".

ÍNDICE

1.0 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Método de Validación	1
1.2 Métodos de Muestreo	6
1.3 Método Analítico	11
1.4 Descripción de Fármacos	13
2.0 OBJETIVOS	17
3.0 PROCEDIMIENTO	18
3.1 Precisión	18
3.2 Exactitud	25
3.3 Linealidad	33
3.4 Especificidad	33
3.5 Reproducibilidad	34
3.6 Adecuabilidad	34
3.7 Efectividad del método de muestreo	35
3.8 Residuos totales en ppm en equipo de manufactura farmacéutica	36
4.0 RESULTADOS	39
5.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS	44
6.0 CONCLUSIONES	45
7.0 BIBLIOGRAFÍA	47

1.0 INTRODUCCIÓN

En Productos Sterling de México, S.A. de C.V, Industria Farmacéutica, se adoptaron como norma Procedimientos de Limpieza de los equipos en donde se manufacturan productos farmacéuticos, con la finalidad de evitar que queden residuos o trazas del producto anterior; de tal forma que pueden causar un efecto farmacológico indeseado.

Por lo anterior surgió la necesidad de desarrollar técnicas analíticas que pudieran ser sensibles y confiables para cuantificar trazas de principios activos que dieran un indicativo del grado de limpieza del equipo de manufactura después de su uso y aseo.

La validación de métodos analíticos es parte fundamental en el desarrollo de la técnica analítica propuesta, ya que es en ésta secuencia de pruebas y análisis, en donde se define si el método evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para los cuales fue diseñado.

1.1 MÉTODOS DE VALIDACIÓN.

La validación de un Método Analítico se define como el proceso por el cual queda establecido experimentalmente, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas ^(2,8,10). La capacidad se expresa en este caso, en términos de parámetros analíticos, los que generalmente se consideran son la Precisión, Linealidad, Exactitud, Especificidad y Reproducibilidad.

La linealidad del método ⁽¹¹⁾ es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. El intervalo está definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles de concentración superior, medio e inferior del principio activo en el cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

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

La Precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados obtenidos de determinaciones sucesivas de una muestra. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar. La precisión también es una medida del grado de Repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

La Repetibilidad es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, equipo. etc.)

La Reproducibilidad, en cambio representa la misma concordancia entre determinaciones independientes pero realizadas bajo condiciones diferentes (analista, diferente día, mismo o diferente equipo, etc.).

La Especificidad es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

En el presente estudio se anexan las pruebas de Adecuabilidad de Sistemas para Cromatografía de Líquidos. Estas pruebas demuestran la eficiencia de un sistema cromatográfico. (Según carta de calidad no. 191 de la Corporación). Los parámetros a considerar son:

A) *Repetibilidad*.- Uno de los puntos de mayor importancia es la Repetibilidad de los resultados obtenidos en las inyecciones del estándar.

Se inyecta por triplicado la preparación del estándar. Se calcula el porcentaje de desviación estándar relativa. Se ha tratado de mantener el límite en esta desviación de 3.0%.

B) *Simetría* ⁽⁹⁾ .- Se prefiere el método en el cual visualmente los picos correspondientes tienen buena simetría. Se calcula el factor de coleo que indica que tan simétrico es un pico, de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$\text{Factor de coleo} = \frac{W_{0.05}}{2f}$$

donde:

$W_{0.05}$ = anchura del pico a una distancia equivalente al 5.0% de la altura total del pico sobre la línea base.

f = distancia medida desde el extremo de la pared del pico al centro del mismo. Se mide también a la misma distancia equivalente al 5.0% de la altura total del pico.

Su valor debe ser aproximadamente uno.

Lo anterior se presenta en la figura número 1 y anexo número 1,2 y 3.

C) Factor de Resolución

Resolución es un término en el cual se describe que tan bien un componente es separado, empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Factor de Resolución} = \frac{2 (T_2 - T_1)}{W_2 + W_1}$$

T1 y T2 son los tiempos de retención de los picos 1 y 2 y corresponde al tiempo medido desde la inyección de la muestra de la muestra hasta el máximo del pico o distribución cromatográfica.

W1 y W2 es la anchura de los picos sobre la línea base limite por dos diagonales que se marcan sobre las paredes de los picos y que pasan por los correspondientes puntos de inflexión (Fig. 1).

La validación de limpieza o sanitización ^(1,4,5,6) de un equipo es una área complicada de validación debido a la poca existencia de normas establecidas por las Agencias de Gobierno y la Industria para definir específicamente términos y establecer criterios de aceptación. Existen poco estatutos específicos que determinen o establezcan la cantidad de producto residual que es aceptable; sin embargo, se tiene una responsabilidad para asegurar que se usen los mejores métodos posibles para prevenir que queden residuos de compuestos químicos que puedan causar una acción farmacológica no deseada. Consecuentemente la validación de Limpieza o Sanitización exige examinar la efectividad de los métodos antes de adoptarlos.

Para tener más claridad es necesario definir tres términos, Limpieza, Sanitización y Esterilización: el término **Limpieza** ⁽¹⁴⁾ se utiliza aquí como la acción de aspirar o desempolvar para quitar partículas sin el uso de cualquier detergente. **Sanitizar** se refiere a cualquier método donde se usa un líquido o polvo para absorber o solubilizar agentes químicos residuales con objeto de deodorizar y/o desinfectar. Un sanitizante es un agente que reduce el número de microorganismos contaminantes a niveles satisfactorios, de acuerdo a los requerimientos sanitarios. Comúnmente son sustancias que se usan sobre objetos inanimados. Éste término y éstos agentes están frecuentemente relacionados con operaciones de limpieza.

Dentro de los agentes desinfectantes tenemos al cloro y a los compuestos de amonio cuaternario como por ejemplo hipoclorito de

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRAFICO

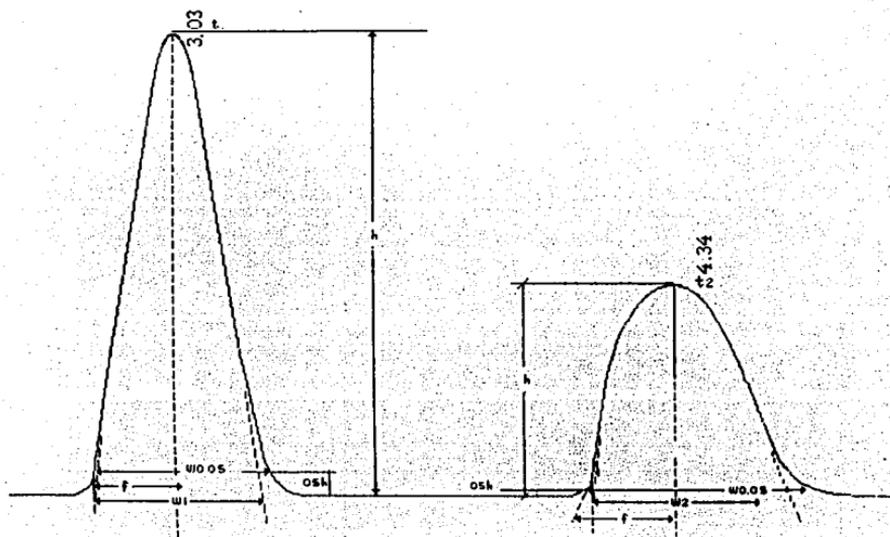


FIGURA 1.

sodio y cloruro de benzalconio. El mecanismo de acción para el primer ejemplo ofrece las siguientes teorías:

1. El cloro se combina con proteínas de la membrana celular destruyendo a las bacterias, ya que forma compuestos N-cloro, los cuales interfieren con el metabolismo celular.
2. La acción del cloro cambia la membrana celular permitiendo la difusión del contenido celular hacia afuera.

La **Esterilización** es un proceso físico o químico que destruye o elimina toda forma de vida especialmente microbiológica.⁽¹⁴⁾

1.2 MÉTODOS DE MUESTREO.

Este trabajo se limita a la limpieza de equipo en áreas no estériles.

El estudio que se presenta en este trabajo se realiza en base a la Carta de Calidad no.213 " Validación de Limpieza " (Políticas Internas de la Compañía Productos Sterling de México, S.A. de C.V.). Dicha carta establece lo siguiente ^(3,4): El equipo usado en la manufactura de productos farmacéuticos debe ser validado para confirmar que no existe riesgo de obtener efecto farmacológico indeseado, por presencia de algún residuo de producto anteriormente elaborado en el mismo equipo. Así mismo se considera como una guía que el límite de materia residual transferido sobre el siguiente producto tenga un máximo de 1.0 ppm.

Como criterio de aceptación ⁽³⁾ se considera que el equipo a muestrear no debe presentar residuos de producto en caso de que presentase, los niveles de aceptación del análisis químico para los niveles de

activos susceptibles de contaminar el próximo producto a manufacturar deberá limitarse a no menos de 0.01% a 1% de la dosis mínima terapéutica, por tanto si se considera como especificación no más de 1.0 ppm como límite permisible se está haciendo más estricto.

En el caso que la metodología analítica ⁽¹⁵⁾ o procedimientos de limpieza no sean capaces de soportar estos niveles la situación es tratada como atípica y una evaluación médica toxicológica específicas debe ser realizada y documentada. Para ciertos ingredientes específicos (por ejemplo penicilinas) con niveles de sensibilidad muy por debajo de los niveles terapéuticos, un estándar más rigurosos debe ser requerido, éstos también requieren equipo e instalaciones exclusivas.

En dicha carta se sugieren los siguientes métodos para confirmar lo anteriormente citado.

- A) Análisis de Disolvente de Enjuague.
- B) Prueba de Tallado de Superficies.
- C) Análisis de Lotes siguientes para residuos.

A) Disolvente de Enjuague.

Se analiza el disolvente de enjuague, estimando en paralelo al disolvente no removido del equipo.

Este método se aplica principalmente para los equipos de manufacturas de productos líquidos y semisólidos, porque en sus procedimientos de limpieza es posible utilizar agua destilada como disolvente de enjuague. En caso de formas sólidas este procedimiento podrá seguirse, si es posible recuperar el disolvente de enjuague.

B) Tallado de Superficies.⁽⁶⁾

Se toman muestras en la superficie del equipo con hisopos, seguidos por una extracción y su posterior análisis.

Esta técnica no refleja correctamente niveles de restantes, si no que indican montos o cantidades *limitadas* de residuos.

Como sólo representa el área muestreada que es relativamente pequeña y no indican las cantidades en todas las superficies que tienen contacto con el producto, es necesario muestrear las zonas críticas del equipo, considerando un área total para extrapolar así los resultados.

Se recomienda éste método para formas farmacéuticas sólidas.

Los ensayos que más adelante se presentarán, se enfocaron para este tipo de muestreo. Son aplicables a equipos en donde se manufacturan tabletas o granulados.

El muestreo con hisopos incluye los siguientes aspectos.

a).- El material de hisopo no puede contener sustancias que interfieran. En el anexo 4 y 5 se muestran las pruebas que se realizaron para comprobar este punto.

b).- El disolvente empleado para mojar el hisopo y en el cual se va extraer el principio activo, tiene que ser tal que maximice la solubilidad del fármaco que se busca.

c).- El área de superficie tallada debe ser conocida. Se considera muestrear siempre una pulgada cuadrada.

d).- Los sitios de muestreo tienen que ser seleccionados para buscar los sitios más críticos o sea aquellos donde la limpieza es más difícil de efectuar, como son por ejemplo sellos, conductos, uniones, etc.

e).- Es necesario comprobar la efectividad de este método^(1,3,4,6), realizando la prueba de Porcentaje de Recobro de la siguiente manera: En una placa de acero inoxidable marcar una pulgada cuadrada, inocular dentro de la pulgada una concentración conocida de principio activo, dejar secar y tallar dicha superficie con el hisopo y extraer en el disolvente indicado según el método, inyectar en un cromatógrafo ya estable bajo ciertas condiciones y comparar la respuesta de ésta contra un estándar. Hacer el cálculo para saber que porcentaje se recuperó de la cantidad que se inoculó. (Anexo 6)

C).- Análisis de Lotes Sigüientes.

Consiste en determinar en un lote productivo el principio activo del producto que se manufacturó antes de este lote.

El método del lote siguiente tiene varios problemas:

-Si la línea de manufactura es destinada a diferentes productos se deberá dar seguimiento a un número excesivo de lotes para cubrir cada posible combinación de la secuencia de lotes manufacturados.

-La utilización de un lote placebo después de cada producto eliminaría el riesgo anteriormente citado, pero esto representa un alto costo y tiempo.

Después de considerar los métodos anteriores y como ya se mencionó, se eligió el método "muestreo con hisopos" (tallado de superficies) para la validación de procedimientos de limpieza para el área de tabletas de la compañía.

Una vez definido el método de muestreo se observa que para cumplir con la especificación citada en el estatuto de política corporativa es necesario evaluar la concentración de producto residual después de la limpieza del equipo, a partir de los resultados obtenidos en el análisis; (En la tabla 3.8, se presenta la concentración máxima permitida de principio activo para algunos equipos). El resultado obtenido en el análisis se multiplica por el área superficial y se divide entre la capacidad de operación de la siguiente forma:

$$\frac{C \times A}{T} = \frac{\text{mg totales}}{\text{Kg lote}}$$

donde:

C = Cantidad Residual (mg / pulg²)

A = Área superficial (pulg²)

T = Tamaño de lote mínimo operado en el equipo (Kg)

Analizando las unidades del resultado mg / Kg = ppm.

Aquí se manifiesta que, para obtener la cantidad residual de producto en partes por millón, será necesario determinar el área superficial total de cada equipo empleado. Situación que puede requerir la inversión de un tiempo considerable.

1.3 MÉTODO ANALÍTICO.

En el estudio aquí presentado en base a los requerimientos específicos de la compañía, es imperativo que las validaciones de limpieza reúnan los siguientes puntos:

- A.- El procedimiento de limpieza debe ser claramente definido y documentado. Se considerará válido cuando se aprueban tres muestreos consecutivos.⁽⁴⁾
- B.- Los operadores deben capacitarse y familiarizarse con el equipo, proceso y agentes de limpieza.
- C.- Los métodos de análisis determinan la validez de los resultados finales. Por tanto este es el punto en el cual nos enfocaremos.

Lo siguiente se tiene que considerar durante el desarrollo del método.

- a) Específico.- El ensayo tiene que ser específico para el fármaco.
- b) Sensible.- Basado en los niveles establecidos de residuos. El método tiene que ser lo suficientemente sensible para determinar correctamente el principio activo en cuestión.
- c) Validación.- Todos los métodos tienen que ser validados de acuerdo a las guías de la corporación.

Ahora bien para iniciar con el desarrollo de las técnicas analíticas para este estudio, se tomaron como base las técnicas de cromatografía de líquidos empleadas en el laboratorio rutinariamente.

Algunas se aplicaron con modificaciones y para otras fue necesario cambiarlas por completo.

Se eligió la "Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución" porque es un método sensible y confiable y confiable que nos permite cuantificar concentraciones muy pequeñas, ayudando así a nuestro propósito.

La cromatografía ^(6,12,13) es un método físico de separación basado en la distribución de la muestra entre dos fases. Una fase es de lecho estacionario de extensa superficie empacada dentro de la columna. Esta es la fase estacionaria. La otra fase consiste en un gas o un líquido que percola sobre la fase estacionaria y alrededor de la misma. Esta fase se le denomina fase móvil. La cromatografía de líquidos es un proceso cromatográfico en la cual la fase móvil es un líquido.

Las características de los principios activos con los que se trabajó se presentan en las tablas A,B y C (págs. 14, 15 y 16). Es necesario saber las propiedades fisicoquímicas de los principios activos, así como también su máximo de absorción para identificar a que longitud de onda presentan un máximo en la región de ultravioleta.

En base a su máximo de absorción es posible elegir a que longitud de onda se ajustará el detector que es un componente del sistema cromatográfico. Tomando en cuenta las propiedades de solubilidad y la estructura química de la molécula se puede plantear la fase móvil, con la cual se va a trabajar así como también se elige el solvente más apropiado en el cual se van a disolver el estándar de referencia y muestras.

Con ayuda de todo lo anterior se elige también el tipo de columna que se empleará, ya que esta es la base de todo el trabajo planeado, la columna es el corazón del sistema cromatográfico ya que es ésta, la que es capaz de separar el principio activo que interesa.

1.4 DESCRIPCIÓN DE FÁRMACOS EN ESTUDIO.

Esta información se presenta en las tablas A, B y C. (Pags. 14, 15 y 16).

TABLA A

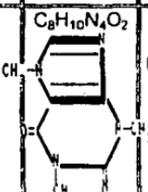
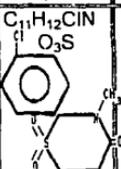
NOMBRE (S)	FORMULA	PEÑO MOLECULAR	DESCRIPCIÓN	SOLUBILIDAD
Acetaminofén (P-acetomi- nofenol)	$C_9H_9NO_2$ 	151.2 U.V. Máx=250nm en metanol	Polvo blanco cristalino inodoro	Fácilmente soluble en etanol y metanol; soluble en acetona, agua caliente y solución de NaOH 1 N; poco soluble en cloroformo.
Acido acetil salicílico	$C_9H_8O_4$ 	180.16 U.V. Máx=265nm	Cristales incolores o polvo blanco, cristalino inodoro o casi inodoro. Es estable en aire seco.	Fácilmente soluble en alcohol soluble en cloroformo y éter; ligeramente soluble en agua.
Ácido nalidixico (Guaranina)	$C_{12}H_{12}N_2O_3$ 	232.24 U.V. Máx=258nm en NaOH 0.1 N	Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento inodoro.	Soluble en cloroformo y en solución de hidróxidos alcalinos; poco soluble en alcohol, ligeramente soluble en éter; casi insoluble en agua.
Cafeína anhidra	$C_8H_{10}N_4O_2$ 	194.2 U.V. Máx=275nm	Polvo blanco cristalino o agujas brillantes; inodoro	Fácilmente soluble en cloroformo; poco soluble en agua y alcohol, ligeramente soluble en éter
Cloromezano- na	$C_{11}H_{12}ClN$ O_3S 	273.7 U.V. Máx=202nm en metanol	Polvo blanco cristalino	Soluble en metanol.

TABLA B

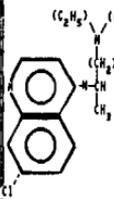
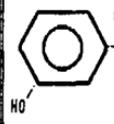
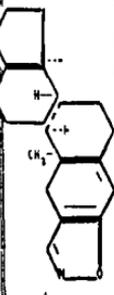
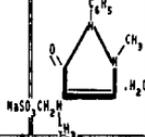
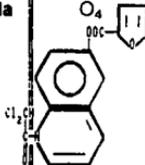
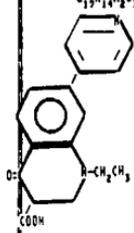
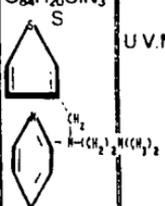
NOMBRE (S)	FORMULA	PESEO MOLECULAR	DESCRIPCIÓN	SOLUBILIDAD
<p>Cloroquina Difosfato</p>	<p>$C_{18}H_{26}ClN_3$</p> 	<p>515.87 U.V. Máx=339nm</p> <p>$\cdot 2(H_2PO_4)$</p>	<p>Polvo blanco cristalino ligeramente amarillo, inodoro, se decolora lentamente expuesto a la luz.</p>	<p>Muy soluble en agua, muy poco soluble en alcohol y casi insoluble en cloroformo y éter.</p>
<p>Fenilefrina Clorhidrato</p>	<p>$C_9H_{13}NO_2HCl$</p> 	<p>206.67 U.V. Máx=213nm</p>	<p>Cristales blancos inodoros y con sabor amargo.</p>	<p>Fácilmente soluble en agua y alcohol.</p>
<p>Danazol</p>	<p>$C_{22}H_{27}NO_2$</p> 	<p>337.47 U.V. Máx=286nm en etanol</p>	<p>Polvo blanco o amarillo pálido.</p>	<p>Soluble en acetona, poco soluble en cloroformo. Ligeramente soluble en benceno, éter y soluciones de hidróxidos alcalinos. Muy ligeramente soluble en alcohol; casi insoluble en agua y hexano.</p>

TABLA C

NOMBRE (S)	FORMULA	PESO MOLECULAR	DESCRIPCIÓN	SOLUBILIDAD
Dipirona	$C_{12}H_{16}O_4N_3$ $SNA \cdot H_2O$ 	351.35 U.V. Máx=250nm	Polvo blanco cristalino o casi blanco; i nodoro, ligeramente amargo.	Fácilmente soluble en agua; ligeramente soluble en alcohol; casi insoluble en eter, acetona, benceno y cloróformo.
Quinfamida	$C_{16}H_{13}Cl_2N$ 	354.19 U.V. Máx=268nm	Polvo blanco inodoro.	Soluble en metanol y cloróformo insoluble en agua.
Rosoxacin	$C_{17}H_{14}N_2O_3$ $C_{17}H_{13}N_2O_3$ 	294.31 U.V. Máx=268nm en NaOH 0.01 N	Polvo blanco inodoro.	Es muy ligeramente soluble en acetona y metanol, es prácticamente insoluble en éter y agua. Soluble en solución de hidróxidos alcalinos y en ácido acético glacial.
Tenfidil clorhidrato (Tenildiamina)	$C_{84}H_{20}ClN_3$ 	297 U V. Máxima=314 nm	Polvo blanco	Soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol.

2.0 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Cuantificar trazas de Doce Principios Activos para Aplicación en el Control de Limpieza de Equipo de Manufactura Farmacéutica.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Establecer una técnica Analítica por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución que permita Cuantificar Trazas de Principios Activos.
2. Evaluar si el Método de Muestreo (Tallado de superficies) es efectivo para lograr el objetivo deseado.
3. Cuantificar Trazas de Doce Principios Activos por una misma Técnica Analítica (HPLC) para Aplicación en el Control de Limpieza de Equipos de Manufactura Farmacéutica en el Área de Tabletas.

3.0 PROCEDIMIENTO

Lo que a continuación se presenta es de acuerdo a las Cartas de Calidad No. 144, 191 y 192 "Validaciones de Ensayos", "Adecuabilidad de Sistema Cromatográfico" y "Validación de Sistemas Analíticos por CLAR" respectivamente. Dichas cartas son políticas internas de la corporación y son similares a los procedimientos de validación de la Asociación Farmacéutica Mexicana y Estadounidense.

Los ensayos que se realizaron para cuantificar trazas en los equipos en donde se manufacturan los productos que contienen los principios activos descritos en las tablas A,B y C (Página 14,15,16).

3.1 PRECISIÓN

a) Preparación de Solución Estándar.

Se realizaron dos ensayos de muestras certificadas de la siguiente manera:

El Analista 1 como el Analista 2 trabajaron de la siguiente manera en días diferentes.

Se prepararon soluciones estándar a tres diferentes concentraciones considerando que el nivel 100% es igual a 1 ppm. Se prepararon soluciones estándar de 0.5 ppm, 1 ppm y 1.5 ppm, para obtener una respuesta con diferencias significativas que fueran más controlables, por tanto se ampliaron los niveles de ensayos para trabajar con concentraciones muy pequeñas .

Las soluciones estándar se prepararon como a continuación se indica.

		Niveles de ensayo				
Estándar = $\frac{50 \text{ mg principio activo}}{100 \text{ ml de disolvente}}$	X	$\frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	X	$\frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	=	0.5 ppm
	X	$\frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	X	$\frac{100 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	=	1 ppm
	X	$\frac{3 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	X	$\frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$	=	1.5 ppm

Todas las diluciones son realizadas con solvente de dilución que es específico para cada principio activo que se trate y provienen de la misma solución patrón.

El Estándar con el que se trabaja es Estándar secundario valorado con una pureza determinada.

b) Preparación de la muestra:

Se preparó una muestra de cada nivel por cada analista. La muestra se prepara pesando por separado una cantidad aproximada de 50 mg de principio activo, se realizan las mismas diluciones como se trabajó en el estándar, solo que a ésta dilución final se le agregan 150 ppm de excipientes para verificar que estos no interfieran en la cuantificación del pico de interés. La cantidad de excipiente debe ser tal que permita observar su respuesta, si es que la hay.

Los excipientes se preparan de la siguiente manera, por ejemplo se tiene la siguiente fórmula para cuantificar Acido Acetil Salicilico que se encuentran en determinadas cantidades.

* Aspirina granular 1118

* Almidón de maíz

* Acdisol

Se preparan 10 gramos de excipientes pesando en parte proporcional según corresponda a la fórmula la cantidad indicada de cada uno de los excipientes (*), se mezclan en una bolsa de plástico para que se incorporen. Se pesan aproximadamente 50 mg de excipiente en un matraz volumétrico de 100 ml, se adiciona solvente de dilución, agitar durante 3 minutos y llevar a la marca del aforo; de éste matraz tomar una alícuota de 10 ml y adicionarlo a la última dilución de la solución muestra (Anexo 7).

Las muestras y estándares se tratan con el disolvente indicado en las tablas (3.1,3.2,3.3,3.4,3.5,3.6 y 3.7) páginas 26-33.

A manera de ejemplo se mostrarán los cálculos para una cuantificación, para las restantes sólo se presentarán los resultados finales.

ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO

Estándares	0.5 ppm	1.0 ppm	1.5 ppm
<i>Analista 1</i>			
Áreas	1232	2764	4241
	1202	2793	4257
	1199	2734	4241
Promedio	1211	2763.67	4246.33
Desviación estándar relativa	1.51%	1.07%	0.2175%
Muestras Áreas	1429	2873	4301
<i>Analista 2</i>			
Areas	1450	3054	4751
	1438	3083	4813
	1437	3158	4737
Promedio	1441.66	3098.33	4767
Desviación estándar relativa	0.50%	1.73%	0.8485%
Muestras Áreas	1520	3256	4702

CANTIDADES ADICIONADAS

Analista 1

$$\begin{array}{l} \frac{50.0 \text{ mg de AAS}}{100 \text{ ml de solvente de dilución}} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \frac{1.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0.500 \text{ ppm} \\ \frac{2.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.000 \text{ ppm} \\ \frac{3.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.500 \text{ ppm} \end{array} \right.$$

Analista 2

$$\begin{array}{l} \frac{50.6 \text{ mg de AAS}}{100 \text{ ml de solvente de dilución}} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \frac{1.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0.506 \text{ ppm} \\ \frac{2.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.012 \text{ ppm} \\ \frac{3.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.518 \text{ ppm} \end{array} \right.$$

AAS= Ácido acetil salicílico

CANTIDADES ENCONTRADAS

Analista 1

$$A_1 = \frac{1429}{1211.0} \times \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0.5900 \text{ ppm}$$

$$B_1 = \frac{2873}{2763.66} \times \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.0395 \text{ ppm}$$

$$C_1 = \frac{4301}{4246.33} \times \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{3 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.5193 \text{ ppm}$$

Analista 2

$$A_2 = \frac{1520}{1441.66} \times \frac{50.6 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0.5334 \text{ ppm}$$

$$B_2 = \frac{3256}{3098.33} \times \frac{50.6 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.0634 \text{ ppm}$$

$$C_2 = \frac{4301}{4767.0} \times \frac{50.6 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{3 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.3696 \text{ ppm}$$

MUESTRA	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	PROMEDIO ENCONTRADO
A ₁	0.500	0.5900	0.5617
A ₂	0.506	0.5334	
B ₁	1.000	1.0395	1.5084
B ₂	1.012	1.0634	
C ₁	1.500	1.5193	1.5084
C ₂	1.518	1.4975	
Desviación Estándar		relativa para nivel A= 7.12%	
Desviación Estándar		relativa para nivel B= 1.60%	
Desviación Estándar		relativa para nivel C= 1.02%	

3.2 EXACTITUD

En base a la lista anterior se calcula el porcentaje de error relativo para cada muestra individual y el promedio de error relativo para cada nivel.

E= error

Promedio de error
para cada nivel

$$EA_1 = \frac{|0.5900 - 0.500|}{0.500} \times 100 = 18$$

$$EA_2 = \frac{|0.5334 - 0.506|}{0.506} \times 100 = 5.41 \quad 11.70\%$$

$$EB_1 = \frac{|1.0395 - 1.00|}{1.0} \times 100 = 3.95$$

$$EB_2 = \frac{|1.0634 - 1.012|}{1.012} \times 100 = 5.07 \quad 4.51\%$$

$$EC_1 = \frac{|1.5193 - 1.50|}{1.50} \times 100 = 1.28$$

$$EC_2 = \frac{|1.4975 - 1.518|}{1.518} \times 100 = 1.35 \quad 1.31\%$$

A continuación se muestran las condiciones cromatográficas en las cuales se trabajó para cuantificar cada uno de los principios activos.

TABLA 3.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE ACETAMINOFÉN Y ACETAMINOFÉN CON CAFEÍNA.

INGREDIENTE ACTIVO	ACETAMINOFÉN	ACETAMINOFÉN Y CAFEÍNA
FASE MÓVIL	Metanol / KH ₂ PO ₄ 0.01M pH 2.3 - 2.8	Metanol / KH ₂ PO ₄ 0.01M pH 2.3 - 2.8
COLUMNA	Merck 50934 Lichrocart 125-4 (15 cm)	Merck 50934 Lichrocart 125-4 (15 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20µl	20µl
DETECTOR	U.V. 280 nm	U.V. 254 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Fase Móvil	Fase Móvil

aufs= Unidades totales de absorbancia.

TABLA 3.2 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE ÁCIDO NALIDÍXICO Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO.

INGREDIENTE ACTIVO	ÁCIDO NALIDÍXICO	ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO
FASE MÓVIL	Acetonitrilo / H ₃ PO ₄ 0.1M	Metanol / KH ₂ PO ₄ 0.01M pH 2.3 - 2.8
COLUMNA	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)	Merck 50934 Lichrocart 125-4 (15 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20µl	20µl
DETECTOR	U.V. 334 nm	U.V. 254 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Hidróxido de sodio 0.01N	Fase Móvil

aufs= Unidades totales de absorbanca.

TABLA 3.3 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO Y CLOROQUINA DIFOSFATO.

INGREDIENTE ACTIVO	CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO	CLOROQUINA DIFOSFATO
FASE MÓVIL	Metanol / KH_2PO_4 0.01M pH 2.3 - 2.8	Metanol / Agua Pic B6 (Ácido hexanosulfónico) con Ácido acético glacial al 2%.
COLUMNA	Merck 50934 Lichrocart 125-4 (15 cm)	Waters C_{18} Bondapack (30 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20 μl	20 μl
DETECTOR	U.V. 254 nm	326 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Fase Móvil	Metanol / Agua con Ácido Acético glacial al 2%

aufs= Unidades totales de absorbancia.

TABLA 3.4 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE DANAZOL Y DAPIRONA.

INGREDIENTE ACTIVO	DANAZOL	DIPIRONA
FASE MÓVIL	Acetonitrilo / Agua	Metanol / Agua
COLUMNA	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20µl	20µl
DETECTOR	U.V. 280 nm	U.V. 254 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Acetonitrilo	Fase Móvil

aufs= Unidades totales de absorbancia.

TABLA 3.5 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE FENILEFRINA CLORHIDRATO Y DIPIRONA CON CLOROMEZANONA.

INGREDIENTE ACTIVO	FENILEFRINA HCl	DIPIRONA Y CLOROMEZANONA
FASE MÓVIL	Acetonitrilo / Agua con Lauril sulfato de sodio 0.1% pH= 3.5	Metanol / Agua
COLUMNA	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20µl	20µl
DETECTOR	U.V. 216 nm	U.V. 240 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Fase Móvil	Fase Móvil

aufs= Unidades totales de absorbancia.

TABLA 3.6 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE QUINFAMIDA Y ROXACIN.

INGREDIENTE ACTIVO	QUINFAMIDA	ROXACIN
FASE MÓVIL	Acetonitrilo / Agua con 15 ml Pic B6 y 10 ml de Ácido Acético glacial.	Metanol / Agua con 15 ml Pic B6 y 10 ml de Ácido Acético glacial.
COLUMNA	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)	Waters C ₁₈ Bondapack (30 cm)
VOLUMEN DE INYECCIÓN	20µl	20µl
DETECTOR	U.V. 262 nm	U.V. 270 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs	0.05 aufs
SOLVENTE DE DILUCIÓN	Metanol / Agua 50 / 50	Metanol / Agua 50 / 50

aufs= Unidades totales de absorbancia.

TABLA 3.7 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE TENFIDIL CLORHIDRATO.

INGREDIENTE ACTIVO	TENFIDIL HCl
FASE MÓVIL	Metanol / Agua con Pic B6 y Ácido acético al 2%.
COLUMNA	Waters C₁₈ Bondapack (30 cm)
VOLÚMEN DE INYECCIÓN	20 µl
DETECTOR	U.V. 245 nm
SENSIBILIDAD	0.05 aufs
DISOLVENTE DE DISOLUCIÓN	Metanol / Agua con Ácido 50 / 50 Acético glacial al 2%.

aufs= Unidades totales de absorbancia.

3.3 LINEALIDAD

En la linealidad del método con los resultados obtenidos no es posible analizarlos mediante el método de los mínimos cuadrados, ajustándolos a la ecuación de la recta $y = a + bx$, en donde se considera buena linealidad si el coeficiente de correlación es cercano a uno, el intercepto al eje de las "y" cercano a cero y la pendiente cercana a uno.

Ya que solo se obtuvieron resultados de 3 muestras por analista por lo tanto no es posible graficar con 3 puntos. Para fines de dicho trabajo solo se está cuantificando.

3.4 ESPECIFICIDAD

La formulación del placebo se analizó para asegurar que no haya interferencia con los excipientes. Se preparó un estándar de concentración de 1.0 ppm, la muestra se prepara a partir de una solución patrón y a la última dilución se le adiciona una cantidad de aproximadamente 50 ppm de excipientes, para obtener su respuesta en el cromatógrafo. Se observó que no hay interferencias de los excipientes con los principios activos en estudio.

Se realizó también la prueba de interferencia del algodón (material con que está hecho el hisopo). Se inyectó el disolvente después de haber impregnado el algodón con el disolvente (no se exprimió) para verificar que no contienen alguna sustancia que pueda interferir con el ingrediente activo.

En todas las pruebas que se realizaron con diferentes disolventes no se observó interferencia del algodón.

Para verificar la interferencia de detergentes se lava una lámina de acero inoxidable con detergente y agua. Se talla una área de una pulgada cuadrada con hisopo, se extrae con el disolvente indicado y se verifica su respuesta en el cromatógrafo. No se observó interferencia del detergente, en las pruebas que se realizaron con los diferentes disolventes usados.

En los anexos 7 y 8 se muestran los cromatogramas que esquematizan lo anteriormente señalado.

3.5 REPRODUCIBILIDAD

Este parámetro se comprueba cuando el segundo analista verifica la prueba de precisión; ya que esta prueba es una medida de la reproducibilidad, si se obtienen resultados aceptables se puede decir que el método es reproducible. Se comparan los datos de los dos analistas, se tabula la concentración de adicionado y encontrado y se determina la desviación estándar entre los resultados obtenidos por los dos analistas. Estos cálculos se ilustraron en el punto 3.1.

3.6 ADECUABILIDAD

Los puntos que se consideran son los siguientes:

A) Repetibilidad.- Se calcula la desviación estándar relativa (DER) del estándar de 1.0 ppm, para el caso de la técnica de Acido acetil salicílico la DER= 1.07%.

B) Simetría.- Visualmente el pico tiene buena simetría al factor de coileo para el pico de Acido acetil salicílico es el siguiente:

$$\text{Factor de coileo} = \frac{W0.05}{2 f} = \frac{10 \text{ mm}}{2 (4) \text{ mm}} = 1.25$$

Anexo No. 3

C).- Factor de Resolución: En este caso no aplica porque solo se obtiene un pico en el cromatograma.

3.7 EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE MUESTREO

(Anexo 6)

Activo: Acetaminofén

En un cromatógrafo de líquidos estabilizado bajo las condiciones de análisis para cuantificar Acetaminofén, se inyectó por triplicado un estándar de Acetaminofén de concentración de 1.0 ppm (1.0 µg/ml).

Peso estándar 52.8 mg

Pureza estándar 100.34%

Peso estándar corregido por pureza 52.97 mg

Se realizaron las siguientes diluciones en fase móvil.

$$\text{Estándar de Acetaminofén} = \frac{52.97 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 1.05 \text{ ppm}$$

En una placa de acero inoxidable en la cual se ha marcado una pulgada cuadrada se depositó con una pipeta graduada 0.1 ml de la segunda dilución del estándar, por tanto.

$$\frac{52.97 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 10.59 \text{ ppm}$$

$$\begin{array}{l} 10.59 \text{ } \mu\text{g} \text{ --- } 1.0 \text{ ml} \\ \times \text{ --- } 0.1 \text{ ml} \\ \hline \text{X} = 1.059 \text{ } \mu\text{g} \end{array}$$

Por consiguiente en la pulgada cuadrada aproximadamente se expandió 1.059 µg de Acetaminofén en solución, se dejó secar.

Con un hisopo se talló dicha superficie para recoger el principio activo y se colocó en un tubo de ensayo que contiene 2.0 ml de fase móvil, se agitó para su extracción; no se exprimió y posteriormente se inyectó para verificar que porcentaje de recobro se obtenía por éste método.

El porcentaje obtenido fué aproximadamente del 80%:

Estándar de Acetaminofén

Areas 7269
7458
7412

$$X = 7379.66 / D = 0.99\% 1$$

$$= \frac{3036}{7379.66} \times \frac{52.97 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times \frac{2.0}{100 \text{ ml}} \times \frac{10.0 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0.825 \text{ µg / pulg}^2$$

$$\begin{array}{l} 1.059 \text{ µg} \text{ — } 100\% \\ 0.828 \text{ µg} \text{ — } X \end{array}$$

$$X = 77.90\% \text{ de recobro.}$$

3.8 RESIDUOS TOTALES DE PARTES POR MILLÓN EN EQUIPO DE MANUFACTURA:

En los análisis químicos se obtienen los resultados en mg/pulg², para obtener en cada caso la cantidad residual del producto será necesario determinar el área superficial total de cada equipo empleado.

Lo que se realizó a continuación fué determinar el área superficial de algunos equipos (cálculo realizado en el Departamento de Servicios Técnicos) y considerar el tamaño de lote en base a la capacidad normal de operación de los mismos, para así evaluar las cantidades mínimas aceptadas por equipo y por unidad de área, en base a la especificación de no más de una parte por millón . Cabe indicar que se trabaja equipos con mayor área superficial pues es evidente que para equipos con mucho menor área superficial, como son molino granulador oscilante y molino con minutor, manteniendo el tamaño de lote constante (en base al cociente mg/ pulg^2) se tiene que el límite de éstos será mucho mayor que el de los equipos considerados.

Por lo tanto se dividió la cantidad mínima aceptable en mg que pueda ser encontrada en un equipo entre el área total superficial del mismo, para obtener la cantidad límite en mg/ pulg^2 que pueda tomarse como especificación. El menor resultado encontrado entre los equipos a los cuales se les realizó este cálculo fue 0.022 mg/pulg^2 que pueda tomarse como especificación. El menor resultado encontrado entre los equipos a los cuales se les realizó este cálculo fue 0.022 mg/ pulg^2 , como se muestra en la tabla 3.8. Por consiguiente se consideró emplear el límite de 0.02 mg/ pulg^2 como especificación única para que se establezca así en los reportes de análisis químicos correspondientes.

TABLA 3.8

EQUIPO	CAPACIDAD OPERACIÓN (Kg)	ÁREA SUPERFICIAL (Pulg²)	CANTIDAD MÍNIMA ACEPTABLE (mg)	ESPECIFICACIÓN EQUIVALENTE (mg / pulg²)
Mezclador PK 300	300	96.38.34	300	0.035
Mezclador PK 1000	900	14176.02	900	0.063
Granulador Collete	200	9028.98	200	0.022
Tableteadora Manestry R MK-11-A	300	4,952.92	300	0.060

4.0 RESULTADOS

PRINCIPIO ACTIVO	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR (%)	% ERROR	FACTOR DE COLEO	FACTOR DE RESOLUCIÓN
ÁCIDO NALIDÍXICO	0.4995	0.4875	2.07	2.25	1.431	No aplica
	0.4916	0.5020				
	0.9999	0.9445	2.11	3.26		
	0.9832	0.9726				
	1.4985	1.5100	0.61	0.54		
	1.4748	1.4870				
ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO	0.5000	0.5900	7.12	11.70	1.25	No aplica
	0.5060	0.5334				
	1.0000	1.0395	1.6	4.51		
	1.0120	1.0634				
	1.5000	1.5193	1.02	1.31		
	1.5180	1.4975				
CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO (Resultados para Cafeína)	0.5007	0.4692	1.58	7.32	1.31	5.08
	0.5007	0.4588				
	1.0014	0.9920	0.94	0.66		
	1.0014	1.0054				
	1.5021	1.5540	0.96	2.75		
	1.5021	1.5330				

PRINCIPIO ACTIVO	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR (%)	% ERROR	FACTOR DE COLEO	FACTOR DE RESOLUCIÓN
ACETAMINO FÉN	0.5017	0.5201	5.65	3.99	1.33	No aplica
	0.5010	0.4800				
	1.0034	1.0334	2.23	1.52		
	1.0020	1.0012				
	1.5051	1.5115	1.48	0.88		
	1.5030	1.4800				
<u>ACETAMINO FÉN Y CAFEÍNA</u> (Resultados para Acetaminofén)	0.4946	0.4920	3.64	2.12	1.21	18.66
	0.4996	0.5180				
	0.9992	0.9909	0.01	0.82		
	0.9992	0.9911				
	1.4988	1.4980	0.65	0.80		
	1.4988	1.5120				
<u>ACETAMINO FÉN Y CAFEÍNA</u> (Resultados para Cafeína)	0.5027	0.4825	0.72	4.5	1.09	18.66
	0.5057	0.4776				
	1.0114	1.0141	0.72	0.50		
	1.0114	1.0038				
	1.5171	1.5215	2.05	1.76		
	1.5171	1.5664				

PRINCIPIO ACTIVO	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR (%)	% ERROR	FACTOR DE COLEO	FACTOR DE RESOLUCIÓN
CAFEÍNA Y ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO (Resultados para Ácido acetil salicílico)	0.5010	0.4900	1.69	3.35	1.1	5.08
	0.5010	0.4784				
	1.0020	0.9907	0.82	0.57		
	1.0020	1.0023				
	1.5030	1.4300	0.41	5.13		
	1.5030	1.4216				
CLOROQUINA DIFOSFATO	0.5084	0.5025	2.62	1.86	1.28	No aplica
	0.5084	0.5215				
	1.0168	1.0163	0.16	0.11		
	1.0168	1.0187				
	1.5252	1.5650	0.52	2.22		
	1.5252	1.5534				
DANAZOL	0.4980	0.4912			1.16	No aplica
	0.4980	0.5014	1.43	1.02		
	0.9960	0.9911				
	0.9960	0.9935	0.17	0.37		
	1.4940	1.4895				
	1.4940	1.4812	0.35	0.57		

PRINCIPIO ACTIVO	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR (%)	% ERROR	FACTOR DE COLEO	FACTOR DE RESOLUCIÓN
FENILEFRINA CLORHIDRATO	0.4998	0.5199			1.17	No aplica
	0.4998	0.5120	1.08	3.23		
	0.9996	0.9947				
	0.9996	0.9939	0.05	0.53		
	1.4994	1.5216				
	1.4994	1.5442	1.04	2.23		
QUINFAMIDA	0.4948	0.5198			1.2	No aplica
	0.4948	0.4920	3.87	2.80		
	0.9900	1.0096				
	0.9900	1.0217	1.49	2.58		
	1.4844	1.5424				
	1.4844	1.5375	0.22	3.74		
ROSOXACIN	0.4978	0.4800			2.24	No aplica
	0.4978	0.4775	0.35	3.82		
	0.9956	0.9901				
	0.9956	0.9978	0.54	0.38		
	1.4934	1.5500				
	1.4934	1.5076	1.96	2.37		
TENDIFIL CLORHIDRATO	0.5020	0.4595	0.38	8.21	1.17	No aplica
	0.5020	0.4620				
	1.0040	10203	1.01	0.97		
	1.0040	1.0006				
	1.5060	1.5416	0.03	2.38		
	1.5060	1.5423				

PRINCIPIO ACTIVO	ADICIONADO (ppm)	ENCONTRADO (ppm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR (%)	% ERROR	FACTOR DE COLEO	FACTOR DE RESOLUCIÓN
DIPIRONA	0.5010	0.4900	1.42	3.07	1.33	No aplica
	0.5000	0.4802				
	1.0020	1.1123	7.52	5.53		
	1.0000	0.9994				
	1.5030	1.6310	6.28	4.51		
	1.5000	1.4923				
<u>DIPIRONA Y CLOROME ZANONA</u> (Resultados para dipirona)	0.4990	0.5390	3.58	10.70	1.5	24.25
	0.5000	0.5670				
	0.9980	0.9766	0.73	1.73		
	1.0000	0.9868				
	1.4970	1.5625	4.41	3.25		
	1.5000	1.4678				
<u>DIPIRONA Y CLOROME ZANONA</u> (Resultados para Cloromezanona)	0.5000	0.4815	6.46	4.61	1.5	24.25
	0.5000	0.5276				
	1.0000	1.0051	1.85	1.84		
	1.0000	1.0318				
	1.5000	1.5786	0.04	7.92		
	1.5000	1.5799				

5.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En base a los resultados se comprobó que los métodos son específicos porque no hay interferencia de excipientes, detergentes y algodón.

El método de **Tallado con Hisopo** es aplicable porque en las pruebas realizadas, se obtuvieron resultados de recobro mayores del 77%.

En cuanto a los resultados para comprobar la precisión y exactitud de los métodos se obtuvieron valores máximos de Desviación Estándar Relativa de 7.56% y 10.70% respectivamente. Estos valores se consideran válidos debido a que se trabaja con concentraciones muy bajas y para las cuales se está ya muy cerca de los límites de detección del equipo.

Las Precisiones (estimadas por la Desviación Estándar Relativa) obtenidas van del 0.01% al 7.56%, siendo estadísticamente aceptables, asegurando la reproducibilidad de los métodos. Lo mismo puede decirse de los porcentajes de Error observados. Dependiendo de la naturaleza de la muestra el Coeficiente de Variación puede ser aumentado.

Los factores de Resolución y de Coleo, demuestran que se tienen condiciones cromatográficas apropiadas para asegurar la especificidad del método.

El presente trabajo no muestra todos los parámetros de validación de una técnica analítica, pero sí es la base o guía para estudios posteriores de validación de métodos analíticos.

6.0 CONCLUSIONES

1.-Se cumplió el objetivo planteado que ayuda a mejorar las buenas prácticas de manufactura, además se logró cuantificar trazas de doce principios activos por Cromatografía de líquidos de alta resolución para aplicación en el control de limpieza de equipo de Manufactura Farmacéutica.

2.-Se comprobó que el Método de Muestreo (Tallado de Superficies) es efectivo para lograr el objetivo deseado.

3.-Los resultados obtenidos son satisfactorios a pesar de que se trabajó con concentraciones muy pequeñas.

4.-Estos resultados son la base para desarrollar las validaciones de técnicas analíticas que sirvan de apoyo para la validación de procedimientos de limpieza, y que son objeto de estudios posteriores, con otras sustancias o formulaciones diversas.

5.- En el presente estudio se muestra la importancia de validar los procesos de limpieza pues es una parte importante de la Calidad del producto, ya que la Industria Farmacéutica es uno de los sectores que ha evolucionado más rápido con equipo cada vez más sofisticado, diseñado y construido específicamente para procesos bien establecidos.

6.- Se identifica y reconoce que la contaminación de los productos farmacéuticos tiene un impacto indeseable por lo que debe ser evitado para que el producto cumpla con las funciones para las cuales fue elaborado y esto a su vez exige a la Industria Farmacéutica cumplir su misión que es la de obtener un producto de calidad.

7.0 BIBLIOGRAFÍA

- 1.- " Validation of Cleaning Proceses in Pharmaceautical Industries". Drug, Dev. Ind. Pharm., 2105-2114, (1989).
- 2.- QS-007 A. "Validación"; Quality Standard; Sterling Winthrop, New York office; January 29, 1993.
- 3.- PST-128B. Procedimiento de Servicios Técnicos. "Muestreo en Equipos de Proceso con fines de Validación de Limpieza". Junio / 1994.
- 4.- "Cleaning Validación"; QUAL-213. Junio 29, 1989.
- 5.- "Validation of cleaning"; Dr. James Agalloco; Validation & Technology Bristol Myers Squibb; Junio, 1989.
- 6.- "Cleaning Validation of existing Products in solid dosage Processes"; Blackman Margaret L. PMA Metting, Atlanta Georgia, 1979.
- 7.- The Merk Index, 9a Edición. Merk & Co. INC Rahuway. USA. 1976.
- 8.- Gonzalo Firpo. Apuntes de cromatografía Líquida de Alta Resolución. Perkin-Elmer Hispania, S.A. (Publicación Particular de Perkin-Elmer).
- 9.- Adecuabilidad del Sistema para Procesos de Cromatografía Líquida. Carta de Calidad No. 191. Productos Sterling de México. S.A. de C.V. Junio 27 / 1984.
- 10.- Guías para Validación de Métodos de Cromatografía Líquida de Alta Resolución. Carta de Calidad No. 192. Productos Sterling de México, S.A. de C.V. Sep 28 / 1984.
- 11.- "Validación". Guías oficiales de Validación de la Dirección de General de Control de Insumos para la Salud, SSA. 1992. Pág. 1-10.

12.- Robert L. Pecos y Donald Shields. Métodos Modernos de Análisis Químico. Primera Edición. Editorial Limusa. México 1985.

13.- L. Snyder. J. Kirkland. Intr. to. Modern. Liquid Chromatography. Segunda Edición. Wiley Interscience. USA. 1988.

14.- Curso "Limpieza y desinfección en la Industria Farmacéutica". Expositor Biólogo Felipe Cuevas Pérez. Agosto 1994. CAPE, Consultores Asociados para Empresas, S.C.

15.- Guía de Calidad "Integridad de Productos en formas Dosificadas" G 430 QW 14a. Enero 1995.

16.- Validación de Ensayos, Carta de Calidad No. 144 Productos Sterling de México S.A. de C.v. Mayo 15 / 1978.

ANEXOS

ANEXOS

INJECT

ANEXO 1

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRAFICO

ESTANDAR 0.5 mcg/ ml



CONDICIONES CROMATOGRAFICAS:

FASE MOVIL: Acetonitrilo/Acido fosfórico
0.01 M

COLUMNA: Waters C₁₈ Bondapack (30 cm)

VOL DE INYECCION: 20 mcL.

DETECTOR: U.V. 334 nm.

SENSIBILIDAD: 0.05 a.u.

SOLVENTE DE DILUCION: Hidróxido de sodio
0.01 N.

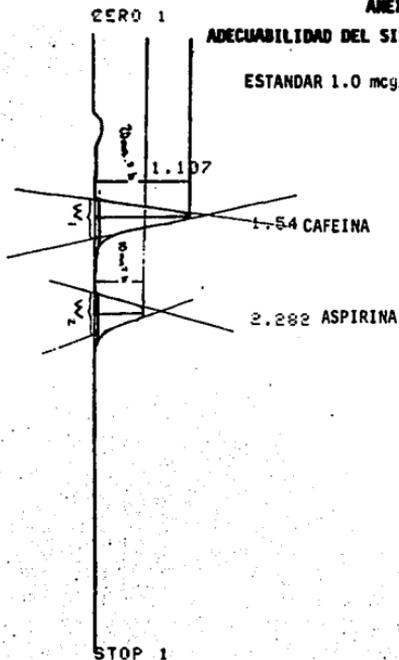
NO. DE	NOMBRE	UNID.	CONC.	RET. (MIN)	AREA	PT	AREA BC
1	100.			5.46	14970	01	
TOTAL	100.				14970		

FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN

ANEXO 2

ADECUABILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRAFICO



ESTANDAR 1.0 mcg/ml

CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

FASE MOVIL: Metanol/KH₂PO₄ 0.01M

COLUMNA: Merck 50934 (15 cm)

Linchrocart 125-4

VOLUMEN DE INYECCION: 20 mc1

DETECTOR: U.V. 254 nm

SENSIBILIDAD: 0.05 auf

SOLVENTE DE DILUCION: Fase móvil.

C-R2AX
CHANNEL 1
SAMPLE NO 0
REPORT NO 3723

FILE 5
METHOD 41

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CQNC	NAME
1	1.54	3121			61.6302	
2	2.282	1943			38.3698	
TOTAL		5064			100	

SPEED(S)=4

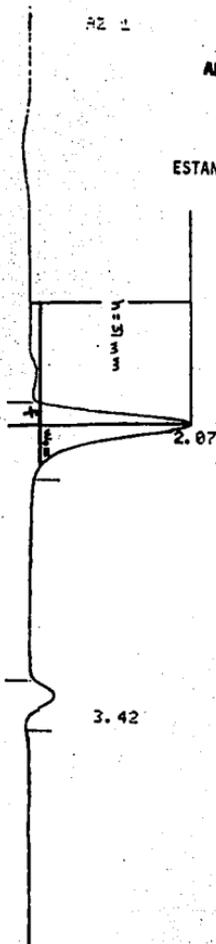
RZ 1

ANEXO 3
 ADECUABILIDAD DEL SISTEMA CROMATOGRAFICO

ACIDO ACETIL SALICILICO

ESTANDAR 1.0 mcg / ml

VARIAN INSTRUMENT GROUP 00-997140-01



CONDICIONES CROMATOGRAFICAS
 FASE MOVIL: Metanol /KH₂PO₄ 0.01M
 pH= 2.3 - 2.8
 COLUMNA: Merck 50934 (15 cm)
 Linchrocárt 125-4
 VOL. DE INYECCION: 20 mcI
 DETECTOR: U.V 254 nm
 SENSIBILIDAD: 0.05 aufs
 SOLVENTE DE DILUCION: fase móvII

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 9	INDEX 9
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	88.666	2.07	13299 01
2	11.334	3.42	1700 01
TOTAL	100.		14999

ANEXO 4

READY
 DATE " PRUEBAS PARA COMPROBAR LA INTERFERENCIA DE ALGODON (MATERIAL DE MUESTREO)
 TIME " 10:40:00

RT= 8
 CS= .25
 MA=1000
 HA=5000
 TP=" PM TV= 1
 PT=100

ACIDO MALIOXICO

FASE MOVIL: ACETONITRILLO / ACIDO FOSFORICO 0.01M

CHANNEL A INJECT

AZ 1
~~4.18~~ 2.182.26
 79 4.08

SOLVENTE: Hidróxido de sodio 0.01 N.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	1	INDEX	1
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		18.301		2.18		6344	02
2		28.147		2.26		9757	03
3		14.507		3.79		5029	02
4		39.045		4.08		13535	03
TOTAL		100.				34665	

CHANNEL A INJECT

AZ 1
~~5.85~~ 4.14

SOLVENTE: Hidróxido de sodio 0.01 N

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	2	INDEX	2
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		100.		4.14		11752	03
TOTAL		100.				11752	

CHANNEL A INJECT

AZ 1
~~5.85~~ 4.12

BLANCO: 2.0 ml de solvente con algodón

SOLVENTE CON ALGODON.

Se demuestra que el algodón no interfiere.

AZ 1

3.93 4.24
6.42

ANEXO 5

ACIDO MALIDIXICO

ESTANDAR 1.0 mcg/ml
en NaOH 0.01 NPruebas para comprobar la interferencia
de la solución sanitizante en la limpie-
za de la máquina tableteadora DD₂.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	6	INDEX	6
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		32.892		4.24		13783	03
2		67.108		6.42		28121	01
TOTAL		100.				41904	

CHANNEL A INJECT

4.243.95

INTERFERENCIA DE SANITIZANTE

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	7	INDEX	7
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		100.		4.24		14182	03
TOTAL		100.				14182	

CHANNEL A INJECT

AZ 1

4.596 4.16

INTERFERENCIA DE SANITIZANTE

Muestra tomada después de la limpieza de la máquina
tableteadora DD₂ con solución sanitizante (Alcohol al 70%)
Se demuestra que la solución sanitizante no interfiere.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	8	INDEX	8
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		100.		4.16		12548	03
TOTAL		100.				12548	

54

FALLA DE ORIGEN

ANEXO 6
PRUEBA PARA CUANTIFICAR PORCIENTO DE RECUBRO
ACETAMINOFEN

CHANNEL A INJECT

AZ 1
 1.11 ESTANDAR 1.0 mcg/ml

FASE MOVIL: Metanol/KH₂PO₄
 0.01 M pH= 2.3 - 2.8
 COLUMNA: Merck 125-4 (15 cm)
 VOL. DE INYECCION: 20 ml
 DETECTOR: U.V. 280 nm
 SENSIBILIDAD: 0.05 auf
 SOLVENTE DE DILUCION: Fase móvil

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 12	INDEX 12
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.11	7269 01
TOTAL	100.		7269

CHANNEL A INJECT

AZ 1
 1.10 ESTANDAR 1.0 mcg/ml

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 13	INDEX 13
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.1	7458 01
TOTAL	100.		7458

CHANNEL A INJECT

AZ 1
 1.10 ESTANDAR 1.0 mcg/ml

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 19	INDEX 19
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.1	7419 01

CHANNEL A INJECT

AZ 1
 1.09 MUESTRA 1.0 mcg/ml

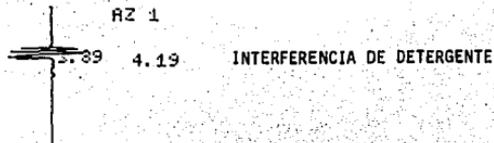
FILE 1.	METHOD 0.	RUN 24	INDEX 24
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	65.784	0.83	5837 02
2	34.216	1.09	3836 03
TOTAL	100.		8873

ANEXO 7

ACIDO MALIDIXICO (Prueba para comprobar la interferencia

FILE 1. METHOD 0. RUN 3 INDEX 3 de excipientes)

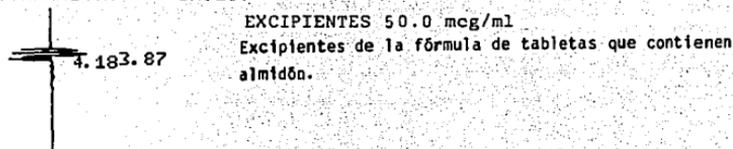
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	4.12	9227 03
TOTAL	100.		9227.

CHANNEL A INJECT
AZ 1

FILE 1. METHOD 0. RUN 4 INDEX 4

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	4.19	13595 03
TOTAL	100.		13595

CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 5 INDEX 5

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	4.18	10828 03
TOTAL	100.		10828

FALLA DE ORIGEN

CHANNEL A INJECT ANEXO 8
11.1
ACIDO NALIDIXICO

ESTANDAR 0.5 mcg/ml

Estandares de 0.5 ppm de Acido Nalidixico

AC NALIDIXICO

FILE 1. METHOD 0. RUN 20 INDEX 20

PEAK# AREA% RT AREA BC
1 100. 5.36 12365 01

FASE MOVIL: Acetonitrilo/H₃PO₄ 0.1M
COLUMNA: Waters C₁₈ Bondapack
(30 cm).

TOTAL 100. 12366

VOL. DE INYECCION: 20 µl

AT= 4

DETECTOR: U.V. 254 nm

SENSIBILIDAD: 0.05 µg

SOLVENTE DE DILUCION: Hidróxido de sodio 0.01 N.

CHANNEL A INJECT

11.1

ESTANDAR 0.5 mcg/ml

AC NALIDIXICO

FILE 1. METHOD 0. RUN 22 INDEX 22

PEAK# AREA% RT AREA BC
1 100. 5.36 12357 01

TOTAL 100. 12357

CHANNEL A INJECT

11.1

ESTANDAR 0.5 mcg/ml

AC NALIDIXICO

FILE 1. METHOD 0. RUN 23 INDEX 23

PEAK# AREA% RT AREA BC
1 100. 5.36 11985 01

TOTAL 100. 11985

57

FALLA DE ORIGEN

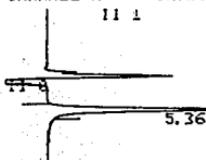
VARIAN INSTR

CHANNEL A INJECT

ANEXO 9

ACIDO HALIDIXICO

Estandares de 1.0 ppm de ácido Halidixico



ESTANDAR 1.0 mcg/ml

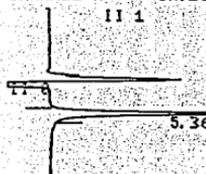
AC HALIDIXICO

FILE 1. METHOD 0. RUN 24 INDEX 24

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	5.36	24466 01
TOTAL	100.		24466

CHANNEL A INJECT

11 1



ESTANDAR 1.0 mcg/ml

AC HALIDIXICO

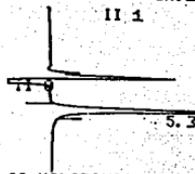
FILE 1. METHOD 0. RUN 25 INDEX 25

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	5.36	24257 01
TOTAL	100.		24257

VARIAN INSTRUM

CHANNEL A INJECT

11 1



ESTANDAR 1.0 mcg/ml

AC HALIDIXICO

FILE 1. METHOD 0. RUN 27 INDEX 27

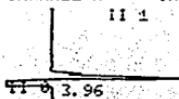
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	5.36	24317 01
TOTAL	100.		24317

58

FALLA DE ORIGEN

ANEXO 10
ACIDO NALIDIXICO

CHANNEL A INJECT



Estandares de 1.5 ppm
Acido Nalidixico

5.36 ESTANDAR 1.5 mcg/ml

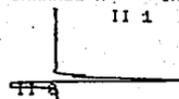
AC NALIDIXICO

00-997140-01

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	28	INDEX	28
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
	1	100.		5.36		39892	01
TOTAL		100.				39892	

VARIAN INSTRUMENT GROUP

CHANNEL A INJECT



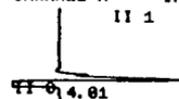
ESTANDAR 1.5 mcg / ml

AC NALIDIXICO

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	29	INDEX	29
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
	1	100.		5.36		39639	01
TOTAL		100.				39639	

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CHANNEL A INJECT



5.36 ESTANDAR 1.5 mcg / ml

AC NALIDIXICO

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	30	INDEX	30
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
	1	100.		5.36		39857	01
TOTAL		100.				39857	

FALLA DE ORIGEN

CHANNEL A INJECT
AZ 1

5.15
NO DATA, CHANNEL A

CHANNEL A INJECT
AZ 1

NO DATA, CHANNEL A

CHANNEL A
AZ 1
1.57

ANEXO 11
ACETAMINOFEN

FASE MOVIL

CUANTIFICACION DE RESIDUOS DE
ACETAMINOFEN

Fase móvil: Metanol/ KH_2PO_4 0.01 M
pH= 2.3 - 2.8
Columna: Merck 50934 Linchrocart
125-4 (15 cm).
Vol. de inyección: 20 μl .
Detector: U.V 254 nm
Sensibilidad: 0.05 μg
Solvente de dilución: Fase móvil

FASE MOVIL CON ALGODON

MUESTRA 0.5 μg /ml

FILE 1. METHOD 0.

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.57	3831 01
TOTAL	100.		3831

CHANNEL A INJECT
AZ 1

1.57

MUESTRA 0.5 μg /ml

FILE 1. METHOD 0.

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.57	3936 01
TOTAL	100.		3936

60

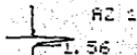
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 12

ACETAMINOFEN

Cuantificación de Acetaminofén
Estandares de 0.5 ppm.

CHANNEL A INJECT

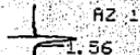


ESTANDAR 0.5 mcg/ml

FILE 1. METHOD 0.

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.56	3970 01
TOTAL	100.		3970

CHANNEL A INJECT



ESTANDAR 0.5 mcg /ml

FILE 1. METHOD 0.

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.56	4056 01
TOTAL	100.		4056

CHANNEL A INJECT



ESTANDAR 0.5 mcg/ml

FILE 1. METHOD 0. RUN 10 INDEX 10

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.56	4014 01
TOTAL	100.		4014

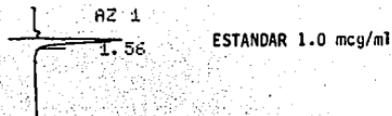
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 13
ACETAMINOFEN

Cuantificación de Acetaminofén
Estándares de 1.0 ppm.

VARIAN INSTRUMENT COMPANY

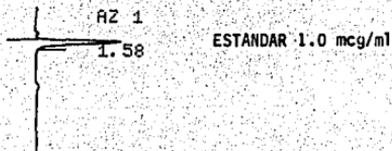
CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 15. INDEX 15

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.56	8408 01
TOTAL	100.		8408

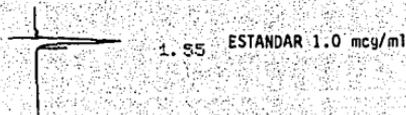
CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 16. INDEX 16

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.58	8391 01
TOTAL	100.		8391

CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 17. INDEX 17

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.55	8431 01
TOTAL	100.		8431

FALLA DE ORIGEN

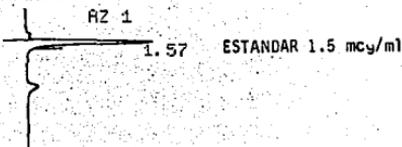
ANEXO 14

ACETAMINOFEN

Cuantificación de Acetaminofén
Estándares de 1.5 ppm.

00-997140-01

CHANNEL A INJECT

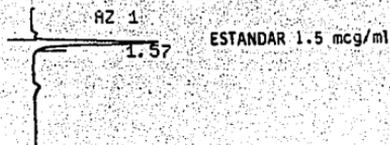


VARIAN INSTRUMENT GROUP

FILE 1. METHOD 0. RUN 18 INDEX 18

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.57	12025 01
TOTAL	100.		12025

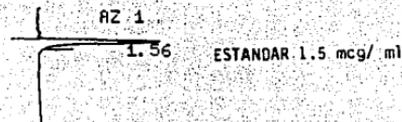
CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 19 INDEX 19

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.57	12734 01
TOTAL	100.		12734

CHANNEL A INJECT



FILE 1. METHOD 0. RUN 20 INDEX 20

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.56	12422 01
TOTAL	100.		12422

FALLA DE ORIGEN

ANEXO 15
ACETAMINOFEN

Cuantificación de Acetaminofén
Muestras de 1.0 y 1.5 ppm.

CHANNEL A

INJECT



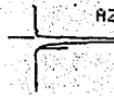
1.57 MUESTRA 1.0 mcg/ml

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 12	INDEX 12
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.57	8316 01
TOTAL	100.		8316

ACETAMINOFEN

CHANNEL A

AZ 1



1.55 MUESTRA 1,5 mcg/ml

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 21	INDEX 21
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	100.	1.55	12487 01
TOTAL	100.		12487

FALLA DE ORIGEN