

31
2 ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**DESARROLLO FARMACEUTICO DE TABLETAS
DE MALEATO DE ENALAPRIL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LETICIA HUERTA FLORES



DIRECTOR: O.F.B. MA. ESTHER HERNANDEZ JIMENEZ
ASESOR: O.F.B. CESAR ESCAMILLA FLORES

MEXICO, D. F.,

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"**

JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO

ASUNTO: ASIGNACION DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

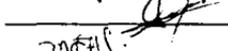
La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita)

LETICIA HUERTA FLORES

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito titulado: **DESARROLLO FARMACEUTICO DE TABLETAS DE MALEATO DE ENALAPRIL**

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE	D. A. R. JUAN JOSÉ DÍAZ ESQUIVEL	
VOCAL	Q. F. B. CESAR ESCAMILLA FLORES	
SECRETARIO	Q. F. B. MA. ESTHER HERNÁNDEZ JIMÉNEZ	
SUPLENTE	Q. F. B. MAURO ARRIETA SÁNCHEZ	
SUPLENTE	Q. F. B. LOURDES CERVANTES MARTÍNEZ	

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
México, D.F. a 17 de JUNIO de 1996

Q. F. B. PATRICIA PARRA CERVANTES
JEFE DE LA CARRERA

DEDICATORIAS

A DIOS:

Por darme la capacidad y fortaleza
para alcanzar una meta tan importante.

A MI MAMÁ:

Con todo mi amor, por apoyarme siempre
en todos los momentos importantes de mi
vida, en especial por este logro tan grande,
ya que eres parte fundamental de este sueño
que hoy GRACIAS a ti es una bella realidad

A MI PAPÁ:

Por tus palabras, por que mediante ellas
me hiciste comprender lo importante que
es la superación en todos los aspectos de mi
vida.

A LOURDES, LUCIA, MARGARITA, JAVIER:

Por compartir conmigo una vida llena de momentos
agradables y apoyarme siempre, muchas gracias.

A Ma. GUADALUPE Y JUAN CARLOS:

Por que al igual que yo algún día lleguen a
vivir un momento como este, y se esfuercen por
ser siempre mejor.

A JOSÉ TRINIDAD:

Por enseñarme que apesar de todo
siempre hay esperanzas para salir adelante
con todos nuestros problemas mediante
esfuerzo y fé.

A ROMÁN:

Con amor para ti, por ser la persona con la que siempre esperé compartir mi vida, gracias por tu cariño, por tu comprensión y por tu apoyo.

A MIS TÍAS DANIELA Y TERE:

Quienes siempre alentaron mi formación profesional, gracias por su apoyo, ayuda y consejos.

A MIS AMIGAS Y AMIGOS:

Por compartir conmigo su amistad parte de sus vivencias y conocimientos a lo largo de todo este tiempo.

A Q.F.B. Ma. ESTHER HERNÁNDEZ JIMÉNEZ:

Por dirigir este trabajo de tesis, compartir conmigo su tiempo, sus conocimientos y su amistad.

A Q.F.B. CESAR ESCAMELLA FLORES Y

Q.F.B. IDALIA FLORES:

Por asesorar este trabajo, brindarme su amistad, su tiempo, su paciencia y sus conocimientos.

Con Especial Agradecimiento a la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, " FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA" por haberme formado profesionalmente.

**A TODAS LAS PERSONAS QUE DE ALGUNA
MANERA APOYARON ESTE ESFUERZO
MUCHAS GRACIAS**

LETICIA HUERTA FLORES

TABLA DE CONTENIDO

	Pag
1. INTRODUCCIÓN	1
2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA	2
2.1. Antecedentes Generales	2
2.2. Monografía	2
2.2.1. Propiedades	3
2.2.2. Degradación y Estabilidad	4
2.3. Forma Farmacéutica: Tabletas	5
2.3.1. Definición	5
2.3.2. Componentes de Tabletas	5
2.3.3. Métodos de Fabricación de Tabletas	10
2.3.3.1. Compresión Vía Húmeda	10
2.3.3.2. Compresión Directa	10
2.3.3.3. Doble Compresión	11
2.4. Etapas de Desarrollo de Medicamentos	12
2.4.1. Preformulación	12
2.4.2. Formulación	13
2.4.3. Escalamiento y Caracterización del Proceso	14
2.4.4. Reformulación	15
2.5. Validación de Métodos Analíticos	16
2.5.1. Generalidades.	16
2.5.2. Definiciones	16
2.5.2.1. Linealidad del Sistema	16
2.5.2.2. Precisión, del Sistema	16
2.5.2.3. Linealidad del Método	17
2.5.2.4. Exactitud del Método	17
2.5.2.5. Precisión del Método	17
2.5.2.6. Especificidad	18
2.5.2.7. Estabilidad de la Muestra	18
2.6. Estabilidad de medicamentos	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. OBJETIVOS	21
5. HIPÓTESIS	22
6. MATERIAL Y MÉTODOS	23
6.1. Material	23
6.1.1. Material para Laboratorio	23
6.1.2. Reactivos y Soluciones	23
6.1.3. Equipo	24

6.2. Métodos	25
6.2.1. Estudios de Preformulación	25
6.2.1.1. Estudio Reológico para el polvo de Maleato de Enalapril	25
6.2.1.2. Degradación del Principio Activo	28
6.2.1.3. Compatibilidad del Principio Activo - Excipientes	29
6.2.2. Desarrollo de la Formulación	30
6.2.3. Implementación del Método Analítico	30
6.2.4. Validación del Método Analítico	30
6.2.4.1. Preparación del Placebo	30
6.2.4.2. Método Validado	31
6.2.4.3. Linealidad del Sistema	31
6.2.4.4. Precisión del Sistema	32
6.2.4.5. Linealidad del Método	32
6.2.4.6. Exactitud y Repetibilidad del Método	33
6.2.4.7. Especificidad del Método	33
6.2.4.8. Reproducibilidad del Método	33
6.2.4.9. Estabilidad de la Muestra	34
7. RESULTADOS	35
7.1. Estudios de Preformulación	35
7.1.1. Estudio Reológico del principio activo	35
7.1.2. Degradación del Principio activo	36
7.1.3. Compatibilidad de Principio Activo - Excipientes	37
7.2. Desarrollo de la Formulación	38
7.3. Implementación y Validación del Método Analítico	44
7.3.1. Linealidad del Sistema	44
7.3.2. Precisión del Sistema	46
7.3.3. Linealidad del Método	47
7.3.4. Exactitud y Repetibilidad del Método	49
7.3.5. Especificidad del Método	49
7.3.6. Precisión del Método	50
7.3.6.1. Reproducibilidad del Método	50
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS	51
8.1. Caracterización del Polvo	51
8.2. Degradación del Principio Activo	51
8.3. Compatibilidad con Excipientes	51
8.4. Formulaciones	52
8.5. Validación del Método Analítico	52
9. CONCLUSIONES	55
10. BIBLIOGRAFÍA	56
11. ANEXO	58

1. INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se realizó la formulación de tabletas con 10 mg de maleato de enalapril de reciente inclusión en el cuadro básico de medicamentos del sector salud, que se presenta como una alternativa más para el alivio de malestares arteriales ya que su principal actividad terapéutica es que actúa como antihipertensivo.

Las etapas del desarrollo para la formulación consistieron inicialmente en estudios de preformulación, para lo cual, se requirió de una revisión bibliográfica, posteriormente se realizaron experimentalmente hidrólisis ácida y básica para observar posibles productos de degradación, además, se llevaron a cabo estudios reológicos para determinar el tipo de compactación para la fabricación de las tabletas.

Se hicieron ensayos de compatibilidad del principio activo con varios excipientes, sometiéndolos a diferentes condiciones de temperatura y evaluándolos mediante CCF, posteriormente se elaboraron varias formulaciones tentativas comprimiendo por vía húmeda, evaluando las variables críticas involucradas directamente en la fabricación como son; dureza, friabilidad, desintegración y variación de peso.

Para la determinación del contenido de principio activo se implementó un método analítico confiable para esta evaluación, por lo cual, se procedió a validar dicho método analítico.

De los resultados anteriores se encontró la formulación óptima para la fabricación por vía húmeda cuyos parámetros evaluados cumplieron satisfactoriamente con las especificaciones establecidas en la USP XXIII, por lo que se considera la obtención de la formulación adecuada para la fabricación de tabletas de maleato de enalapril.

2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA

2.1. Antecedentes Generales

El maleato de enalapril, es un derivado de dos aminoácidos: L-alanina y L-prolina. Tras su administración por vía oral, es absorbido rápidamente y transformado por hidrólisis en enalaprilato, que es un inhibidor de acción prolongada y no sulfhidrílico sumamente específico de la enzima convertidora de la angiotensina. Está indicado en el tratamiento de la hipertensión esencial de cualquier grado, de la hipertensión renovascular e insuficiencia cardíaca congestiva.

La dosificación usual de este medicamento varía entre 10 y 40 mg al día en todas las indicaciones. Puede ser administrado en una o dos dosis al día. Hasta ahora, la mayor dosificación estudiada en el hombre ha sido de 40 mg diarias. Se han asociado con el uso de este fármaco los siguientes efectos colaterales: mareo y cefalea, de 2 a 3 % de los pacientes experimentaron fatiga y astenia. Otros efectos colaterales fueron hipotensión, hipotensión ortostática, síncope, náuseas, calambres musculares, erupción cutánea y tos.(1)

2.2. Monografía

Maleato de Enalapril

Nombre Químico: (S)-1-[N-[1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]-L-alanil]-L-prolina, (2)-2-butendioato (1:1) sal.

Fórmula Condensada: $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_8O_4$

Constante de disociación:

En titulación potenciométrica acuosa ácido/básica presenta dos puntos que son: $pK_{a1} = 2.97$ y $pK_{a2} = 5.35$, a 25°C .(2,3)

2.2.2. Degradación y Estabilidad

Existen dos rutas de degradación del maleato de enalapril.(3)

• Hidrólisis del etil éster.

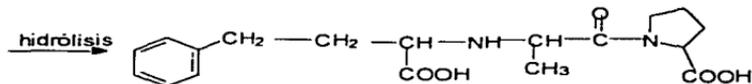


Figura 1. Hidrólisis de Maleato de Enalapril

• Ciclización a derivado de dietopiperazina

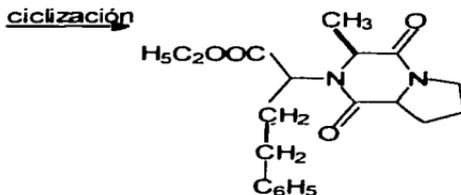


Figura 2. Ciclización de Maleato de Enalapril.

El maleato de enalapril cristalino es muy estable en estado sólido, el compuesto almacenado a temperatura ambiente (en envase de vidrio ámbar) durante 4 años no muestra evidencia de degradación. Menos de 2 % de degradación puede inducirse a 80 °C durante 3 semanas y menos de 1 % de descomposición a 40 °C y 75 % HR (en viales abiertos) durante 16 semanas.(3)

Las tabletas de enalapril son estables cuando se protegen de temperaturas y humedades altas. La degradación puede inducirse si las tabletas se almacenan a 40°C y 75 % HR en contenedores abiertos, resultando una pérdida de maleato de enalapril de cerca del 10 % o mayor en tres meses. El principal producto de degradación es el enalaprilato.(3)

El pH de máxima estabilidad en solución es alrededor de 3. (2,3)

2.3. Forma Farmacéutica: Tabletás

2.3.1. Definición

Las tabletas o comprimidos son sólidos obtenidos por compresión directa, vía húmeda o vía seca que incluye a los principios activos o aditivos.(4)

2.3.2. Componentes de Tabletás

Las tabletas contienen los siguientes componentes:

Ingrediente Activo; es el componente principal de la tableta, ya que su función es llevar a cabo el efecto terapéutico. En base a las propiedades de este componente, se diseña la fórmula y se determinan las condiciones de fabricación.

Las propiedades del principio activo que se deben considerar para proponer una formulación son: Dosis, Estabilidad, Solubilidad, Polimorfismo, Compatibilidad, Sistema Cristalino, Tamaño de Partícula.

Excipientes: Son materiales inertes, los cuales ayudan a obtener la liberación satisfactoria del fármaco, las características físicas y mecánicas aceptables en la tableta y facilitan su manufactura. (5)

Los excipientes que comúnmente se utilizan en la formulación de tabletas para que el producto cumpla con las normas establecidas de calidad se consideran cinco categorías principales:

1. *Diluentes*
2. *Aglutinantes o Adhesivos*
3. *Desintegrantes*
4. *Lubrificantes, deslizantes y Antiadherentes*
5. *Excipientes que mejoran las propiedades organolépticas (Colorantes, Saborizantes y Edulcorantes).* (5)

1. Diluentes

Se considera al excipiente que da el volumen y el cuerpo a la tableta. Es conveniente que posea buenas propiedades de aglutinamiento y de flujo. (6,7).

Entre los diluentes más comunes se pueden citar los siguientes:

A. Diluentes insolubles en agua:

- Sulfato de Calcio NF
- Fosfato dibásico de Calcio NF
- Fosfato Tribásico de Calcio NF
- Almidón
- Carbonato de Calcio
- Celulosa microcristalina
- Almidones modificados

B. Diluentes Solubles en Agua:

- Lactosa
- Sacarosa
- Manitol
- Sorbitol.(5,6)

2. Aglutinantes o Adhesivos

Son excipientes que imparten cohesividad a los polvos, aglutinándolos para la formación de gránulos.

Los criterios básicos para la selección de aglutinantes son: Compatibilidad con la formulación, que impartan adhesión suficiente a los polvos y proporcionen la biodisponibilidad adecuada para llevar a cabo la absorción del fármaco.

Una cantidad muy alta de aglutinante generalmente aumenta el tiempo de desintegración de las tabletas. Los aglutinantes se pueden adicionar en solución (aglutinantes), o en seco (adhesivos) dependiendo de los ingredientes y del método de manufactura.(5,6)

Algunos ejemplos de aglutinantes son:

- Acacia
- Derivados de Celulosa
- Gelatina
- Glucosa
- Polivinilpirrolidona
- Almidón (pasta)
- Sacarosa
- Sorbitol
- Almidón pregelatinizado
- Goma de tragacanto
- Alginato de sodio.(5,6)

3. Desintegrantes

La única forma de asegurar que una tableta se disgrege en partículas pequeñas que faciliten la liberación (disolución) y la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal, es incorporar en la formulación agentes desintegrantes. Estos agentes normalmente actúan al absorber agua, entonces se hinchan por efecto de la hidratación y aumentan la porosidad de la tableta produciendo su desintegración. Algunos actúan por capilaridad; o son solamente la mecha que enciende el mecanismo de incorporación de agua en el sustrato de la tableta. Los mejores desintegrantes son aquellos que tienen la propiedad de hidratarse, no solamente en agua sino en el medio ácido (pH=1) del estómago.

Algunos ejemplos de desintegrantes son:

- Avicel
- Bentonita
- Veegum
- Ácido Algínico (Kelacid)
- Goma Guar (Supercol)
- PVP de enlace cruzado
- Ac-Di-Sol
- Almidón
- Primojel (8,9)

Existen tres métodos de incorporación:

- * **Intragranular:** El desintegrante se mezcla con el resto del polvo antes de la humectación, quedando así incorporado en el granulo
- * **Extragranular:** El desintegrante se agrega al granulado, justo antes de la compresión
- * **Combinación de ambas:** Adicionar parte del desintegrante internamente y parte externamente.(8,9)

4. Deslizantes, Lubrificantes y Antiadherentes

Los deslizantes tienen como función reducir la fricción interparticular y promover el flujo, algunos deslizantes son:

- Almidón
- Talco
- Estearato de magnesio
- Estearato de calcio
- Estearato de zinc
- Óxido de magnesio
- Silicato de Calcio
- Silica Coloidal. (5,8,9)

Los antiadherentes tienen como función evitar la adhesión entre la tableta formada y el equipo (caras de los punzones y pared interna de la matriz), antiadherentes comunes:

- Talco
- Almidón de maíz
- Sílicas microfinas (coloidal)
- Lauril sulfato de sodio
- Estearatos metálicos. (8,9)

Los lubricantes reducen la fricción producida por la fuerza de eyección al expulsar la tableta de la matriz.

Lubricantes comunes:

- Estearato de magnesio
- Estearato de calcio
- Estearato de zinc
- Monoestearato de polioxietileno
- Talco
- Aceite mineral ligero. (8,9)

5. Otros Componentes

Colorantes

Los colorantes se adicionan comúnmente a las formulaciones de tabletas por cuatro razones principalmente:

1. Estética y elegancia del producto
2. Diferenciación con otros productos
3. Mezclado uniforme de los diferentes componentes

4. Cubrir colores desagradables naturales de algunos fármacos.(8,9)

Los colorantes pueden adicionarse en el líquido granulante, o mezclados con los polvos en seco. Los colorantes deben ser certificados por la FDC y aprobados por la FDA.

Los colorantes pueden ocasionar principalmente tres problemas: la decoloración del producto con el tiempo, disminución de la disolución de la tableta a determinadas concentraciones de colorante y migración del color en el secado del granulado hecho por vía húmeda.(8,9)

2.3.3. Métodos de Fabricación de Tableta

2.3.3.1. Vía Húmeda

El método más usado y general para preparar tabletas es por vía húmeda, su popularidad se debe a que es más probable que la granulación satisfaga todos los requisitos físicos para la compresión de buenas tabletas. Sus desventajas principales son la cantidad de operaciones unitarias, así como el tiempo y trabajo necesarios para realizar el procedimiento en particular en gran escala. Las etapas del método por vía húmeda son: pesar, mezclar, granular, tamizar la masa húmeda, secar, tamizar el gránulo seco, lubricar y comprimir. (10)

2.3.3.2. Compresión Directa

Consiste en comprimir directamente el material en polvo sin modificar la índole física de éste. La compresión directa para elaborar tabletas se reserva para un pequeño grupo de productos químicos cristalinos que posean todas las características físicas necesarias para la formación de una buena tableta, como propiedades de cohesividad y fluidez que posibilitan la compresión directa. (10)

2.3.3.2. Doble Compresión

Este método se utiliza cuando los componentes de las tabletas son sensibles a la humedad o no soportan temperaturas altas durante el secado y cuando los constituyentes de las tabletas poseen suficientes propiedades cohesivas intrínsecas. Este método se conoce como granulación seca, precompresión o doble compresión.

Las etapas de la doble compresión son: pesar, mezclar, comprimir, tamizar en seco, lubricar y comprimir. Uno de los constituyentes, que puede ser el componente activo o el diluyente, debe tener propiedades cohesivas. El material en polvo contiene una cantidad considerable de aire y al comprimirlo, este aire se expulsa y se forma una masa bastante densa. Cuanto más tiempo se deja que este aire escape durante un tiempo de compresión, mayor será la tableta.

Cuando se hace la precompresión, son formadas tabletas grandes como "tabiques" porque los polvos finos escurren mejor dentro de las cavidades grandes. Además la producción de estos "tabiques" acorta el tiempo de producción; los tamaños más prácticos para estos "tabiques" son 2.2 a 2.5 cm. A veces para obtener la presión que se desea, el tamaño del "tabique" se reduce a 1.9 cm, y los punzones deben ser de cara plana. Los "tabiques" comprimidos se pasan a través de un molino y después a través de una malla. El lubricante remanente se adiciona a la granulación se mezcla y el material se comprime en tabletas. (10)

2.4. Etapas del Desarrollo de Medicamentos

2.4.1. Preformulación

Son los estudios encaminados a caracterizar física y químicamente al fármaco en cuestión, sin desechar la caracterización biológica, en base a ello se infiere sobre la forma de dosificación requerida.

Uno de los objetivos del conocimiento farmacéutico más importante para conseguir calidad durante el desarrollo de un medicamento es el entendimiento de las propiedades físico-químicas, farmacocinéticas y farmacodinámicas del ingrediente activo. Los estudios de preformulación son esenciales para este entendimiento ya que, cuando se realizan en forma adecuada, colaboran para determinar el derivado o forma del fármaco y/o la forma farmacéutica que debe ser seleccionada y que permite anticipar problemas de la formulación e identificar caminos lógicos para el desarrollo de la tecnología del medicamento.

Los datos de solubilidad del fármaco, por ejemplo, permiten la selección de la sal más adecuada a ser utilizada; estudios de estabilidad en solución indicarán la factibilidad de formular un producto inyectable u otra forma líquida y pueden permitir identificar métodos de estabilización; propiedades organolépticas serán la guía en la selección de la forma farmacéutica y en su formulación; el farmacéutico a cargo de la preformulación puede asociar las propiedades físico-químicas de cada candidato análogo dentro de un grupo terapéutico y, cuando sea el caso, puede asistir en la síntesis de moléculas óptimas o en los preparados a utilizarse en las pruebas de exploración farmacológicas. De esta manera, la información generada en esta etapa es invaluable para la toma de decisiones que hagan eficientes a todas las áreas de investigación y desarrollo del medicamento.

La adecuada búsqueda bibliográfica, la teoría y la predicción pueden y deben ser aplicados con el fin de disminuir la experimentación necesaria o para incrementar en las áreas de cuidado potencial con referencia a la sustancia candidata a ser formulada, antes de confirmar la idea en el laboratorio.(11,12)

2.4.2. Formulación

Son los estudios que involucran el diseño de una forma farmacéutica definida, basada esta etapa en las pruebas de compatibilidad fármaco-excipientes, y la adaptación de un proceso de producción, además de pruebas con el envase primario.

En lo que se refiere específicamente a la selección de la forma farmacéutica y presentación definitiva del producto que se quiere conseguir, se basa en los resultados de preformulación preliminares, el análisis de la capacidad tecnológica de la empresa y en la función terapéutica y mercadotecnia del medicamento. La información conseguida permitirá elegir, con conocimiento de causa, entre un gel o una crema para administración tópica, entre una tableta recubierta o no, o una cápsula, entre una solución y una suspensión pero también la posible concentración del fármaco, especialmente en el caso de productos de dosificación unitaria; además, entre una presentación farmacéutica y otra puede haber especificaciones que requieran de una tecnología analítica posiblemente no disponible para la empresa o de difícil acceso. La selección de la tecnología a emplear en la fabricación futura del producto está íntimamente relacionada con la forma farmacéutica y por lo tanto no debe basarse sólo en las necesidades de mercadeo, sino además en la identificación de los recursos operativos disponibles.

Al seleccionar los distintos excipientes, sus concentraciones y las etapas en el proceso de manera racional, se obtiene un sistema satisfactorio desde el punto de vista cualitativo, el problema es conocer que tan cerca de la formulación óptima se encuentra el estudio y con la utilización adecuada de técnicas de diseño experimental y optimización se permitirá conocer con mayor detalle el sistema en desarrollo y obtener, en algunos casos, medicamentos que tendrán características también satisfactorias, desde el punto de vista cuantitativo.

Durante esta etapa, generalmente se fabrican lotes de regular tamaño, en los que varían las concentraciones de los excipientes dentro de intervalos estrechos, con el fin de mejorar especificaciones cuantificables del producto y obtener un mayor conocimiento del valor de los factores que afectan su calidad. El diseño y análisis de los experimentos por medio de técnicas estadísticas o matemáticas facilita en gran medida la obtención de dicho objetivo. Si bien la experimentación inicial sirve, además de otras muchas cosas, para seleccionar el menor número posible de excipientes, la optimización se puede emplear para

conseguir su concentración mínima efectiva; de esta manera se puede no sólo optimizar algunas características de calidad, sino también el costo del producto. (11, 12, 13)

2.4.3. Escalamiento y Caracterización del Proceso

Es el desarrollo de una metodología para la producción de un medicamento a su escala industrial, basado en la producción a nivel piloto.

Una vez optimizadas las concentraciones de los excipientes esenciales de la fórmula, se procede a elaborar lotes piloto. Los objetivos básicos de los estudios piloto son:

1. Comprobar que el método desarrollado en el laboratorio puede reproducirse a una escala de mayor tamaño.
2. Simular, evidenciar y neutralizar posibles fallas y dificultades del proceso o de la fórmula
3. Adaptar la formulación para su producción futura a gran escala.
4. Caracterizar y "retar" al proceso para determinar los límites de tolerancia, dentro de los que se conserva la calidad del producto y dentro de los que se optimiza a fin de establecer los límites.

Por cuestiones de costos, disponibilidad o facilidad, casi en todos los casos el laboratorio de desarrollo debe realizar experimentos con cantidades muy pequeñas, en relación con el nivel de producción. Si bien un buen formulador ha tenido en cuenta el factor industrial en todo momento, es necesario comprobar la realizada por medio de la adecuada escalación que represente por lo menos el 10 % del volumen que se fabricará en el lote típico de la planta.

Estos objetivos se complican cuando deben desarrollarse procesos para compañías internacionales con múltiples subsidiarias y equipo de fabricación distinto a cada una. Aquí se vuelve más evidente la necesidad de reproducir y extremar los efectos de cada variable

critica del proceso incluyendo las relativas al medio ambiente que pueda alterar las características de calidad del producto

Son diversas las condiciones de operación de equipos y las características del producto en proceso que pueden modificar las propiedades del medicamento; por ejemplo un determinado rango de pH en una solución aglutinante puede desencadenar mecanismos que descompongan al ingrediente activo, ciertas presiones de compactación pueden modificar las características de disolución de un fármaco en tabletas; determinados niveles de agitación y temperatura pueden definir la sensibilidad o la ruptura de una emulsión o la viscosidad de un producto líquido.

El hecho de no evaluar cada una de las etapas del método de manufactura con sentido crítico acarreará al formulador serias dificultades para establecer las condiciones óptimas de operación y las especificaciones en proceso más adecuadas para controlar y asegurar la calidad del producto, durante su manufactura a gran escala.

Al concluir los estudios piloto, se debe ser capaz de elaborar cartas de límites de tolerancia para cada una de las etapas esenciales del proceso. Dichas cartas contienen "límites de alerta", fuera de los cuales la calidad del producto puede afectarse, así como recomendaciones sobre límites más estrechos que permitan mantener bajo control las condiciones de operación en la fabricación a escala industrial, y debe incorporarse dentro del procedimiento oficial de manufactura.

Es necesario considerar en esta etapa que los costos de desarrollo del producto aumentan en forma exponencial, tan pronto como se empiezan a efectuar lotes de escalamiento, por lo que deben determinarse con prudencia y exactitud, y aceptarse por la gerencia antes de incurrir en ella.(10, 11, 14)

2.4.4. Reformulación

Esta etapa involucra retomar los estudios anteriores de preformulación para mejorar las formas farmacéuticas ya existentes y que sean producidas a nivel industrial, esto puede ser originado por un cambio de proveedor de alguna materia prima, a la innovación del laboratorio, disminución de costos, o bien para mejorar la calidad y estabilidad del producto.(15,16)

2.5. Validación de Métodos Analíticos

2.5.1. Generalidades

La validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo analítico de una formulación y la técnica de análisis en control de calidad de una forma farmacéutica, ya que es durante esta secuencia de pruebas de análisis, en donde el analista confirma si el estudio, el cual está siendo evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para los cuales fue diseñado en el sistema y método.

La validación de un método analítico se define como el proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. (16)

La validación de un método analítico utilizado en control de calidad generalmente incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad, proporcionando una medida del comportamiento del método. (16)

2.5.2. Definiciones

2.5.2.1. Linealidad del Sistema

Es la variación de la respuesta del sistema de medición con respecto a la concentración del analito; ésta se realiza para asegurar la proporcionalidad directa sobre el intervalo de trabajo preestablecido. (16,17)

2.5.2.2. Precisión del Sistema

Está definida como el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales. Este parámetro considera sólo la contribución al error atribuible al sistema de

operación o medición. Generalmente se expresa como la desviación estándar relativa, DER, o coeficiente de variación, CV. (16,17)

2.5.2.3. Linealidad del Método

Es la variación de la cantidad de fármaco recuperada en el análisis como una función de la cantidad de fármaco adicionado a la muestra. El objetivo es conocer el intervalo de concentraciones en el cual la respuesta es lineal. Esto se determina para asegurar la proporcionalidad directa sobre el intervalo de trabajo preestablecido. Se caracteriza por su estudio de recobros de placebos cargados a diferentes niveles de concentración por arriba y por abajo del 100 % incluyendo éste.

La linealidad usualmente se expresa en términos de la varianza en torno a una recta de regresión lineal calculada de acuerdo a una relación matemática establecida. (16,17)

2.5.2.4. Exactitud del Método

Es la medida de cómo un método analítico se acerca al valor real para una muestra. Este parámetro se examina por comparación de la cantidad recuperada con respecto a la adicionada al placebo. Esto demuestra que el método analítico es confiable cuando se efectúan varias determinaciones por un mismo analista en las mismas condiciones de operación. Se determina empleando los resultados del nivel al 100 % de la linealidad del método. (16,17)

2.5.2.5. Precisión del Método

Es el grado de concordancia entre medidas individuales en un proceso. Se mide de la siguiente forma:

1. Repetibilidad:

Precisión del método analítico expresado como concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un analista, usando los mismos aparatos. Con

finés prácticos, el estudio ésta evaluado por el CV de la prueba de exactitud al 100 % así como por la inealidad del método.

2. Reproducibilidad

Precisión de un método analítico expresado como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas en diferentes días.(16,17)

2.5.2.6. 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.(16,17)

2.5.2.7. Estabilidad de la Muestra

Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad físico química y la concentración de la sustancia de interés después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.(16,17)

2.6. Estabilidad de Medicamentos

La estabilidad de un medicamento se puede definir como la capacidad de una fórmula en particular en un sistema específico de envase y cierre, para mantenerse dentro de sus especificaciones físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y toxicológicas. La seguridad de que el producto envasado conservará su estabilidad en el lapso de almacenamiento que se le anticipa, debe provenir de una acumulación de datos verdaderos sobre el medicamento en su envase comercial. Estos datos de estabilidad entrañan determinados parámetros que, tomados en conjunto, constituyen el perfil de estabilidad.

A la estabilidad de un fármaco también se le puede definir como el tiempo transcurrido desde la fabricación y envasado de la formulación hasta que su actividad química o biológica no desciende por debajo de un nivel de potencia determinado de antemano y sus características físicas no se han modificado de manera apreciable ni nociva.(10)

El almacenar los productos a temperaturas altas y exponerlos a la luz puede generar reacciones de descomposición. Los cambios que ocurren durante el almacenaje en estas condiciones pueden dividirse en tres grupos: a) cambios físicos, b) cambios químicos y c) cambios microbiológicos, de ahí la importancia de realizar estudios de estabilidad acelerada, ya que utilizando diferentes condiciones de temperaturas, humedad y luz se puede predecir el tiempo que un producto conserva sus especificaciones físicas, químicas y microbiológicas para asegurar la calidad del mismo. (10)

Las tabletas estables deben conservar su tamaño, forma, peso y color originales durante los estudios de estabilidad, además se deben determinar los siguientes controles a lo largo de todo el estudio: friabilidad, dureza, tiempo de desintegración, uniformidad de peso, desintegración y valoración del principio activo.(10)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad la industria farmacéutica moderna se ha dado a la tarea de desarrollar nuevos productos poniendo énfasis en la importancia de desarrollar medicamentos con las características requeridas para su uso ya que se debe tener responsabilidad de que el consumidor cuente con las dosis adecuadas para su tratamiento, además de garantizar la calidad en el producto. Los nuevos productos deben también cumplir con los requisitos establecidos por la Secretaría de Salud en sus características físicas y químicas, de donde surge la urgente necesidad de formular los productos mejorando la calidad y asegurando la estabilidad del mismo, cumpliendo con normas establecidas por la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos; y en caso de quererlos exportar a Estados Unidos cumplir con los requisitos establecidos por la FDA.

Para ello, se requiere trabajar exhaustivamente en el conocimiento del fármaco empleando metodologías establecidas, el método analítico es una parte importante en la formulación, ya que depende de éste el asegurar que el medicamento contenga la cantidad apropiada de principio activo que es requerido para dar el efecto deseado al paciente.

Es por ello que la importancia de este trabajo radica en que el medicamento, el cual contiene como principio activo Maleato de Enalapril, es de reciente inclusión en el cuadro básico de medicamentos, de ahí la necesidad de ampliar los estudios realizados en cuanto a nuevas formulaciones. En este caso se formularon tabletas, e implementó y validó un método analítico de cuantificación para el principio activo por espectrofotometría de ultravioleta.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General:

Desarrollar una formulación farmacéutica de calidad y que cumpla con las especificaciones oficiales de la USP XXIII para tabletas de Maleato de Enalapril.

4.2. Objetivos Específicos:

- 4.2.1. Realizar estudios de preformulación para maleato de enalapril y excipientes propuestos**
- 4.2.2. Obtener una formulación de alta calidad en base a los resultados obtenidos en la etapa anterior.**
- 4.2.3. Implementar un método analítico por espectrofotometría de ultravioleta para cuantificar maleato de enalapril.**
- 4.2.4. Validar el método analítico implementado en la etapa anterior.**

5. HIPÓTESIS

Efectuando las pruebas de compatibilidad para mezclas de maleato de enalapril-excipientes; diseñando matrices experimentales para calcular las concentraciones óptimas de excipientes en la formulación y controlando las variables de operación, se obtendrá un producto que cumpla especificaciones oficiales establecidas en la USP XXIII.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Material

6.1.1. Material de Laboratorio

- Matraz volumétrico de 2 lts. Pyrex
- Matraz volumétrico de 500 ml. Pyrex
- Matraz volumétrico de 100 ml. Pyrex
- Matraz volumétrico de 50 ml. Pyrex
- Pipeta volumétrica de 1 ml. Pyrex
- Pipeta volumétrica de 2 ml. Pyrex
- Pipeta volumétrica de 3 ml. Pyrex
- Pipeta volumétrica de 4 ml. Pyrex
- Pipeta volumétrica de 5 ml. Pyrex
- Vaso de precipitados de 250 ml. Pyrex
- Vaso de precipitados de 100 ml. Pyrex
- Vaso de precipitados de 50 ml. Pyrex
- Placa
- Espátula
- Probeta de 25 ml. Pyrex
- Mallas de acero inoxidable de números: 20,40,60,80,100,200
- Soporte Universal
- Anillo metálico
- Embudo para pruebas de reología
- Papel filtro Whatman No.4
- Frascos de vidrio ámbar de 20ml. Vitromex
- Pipeta graduada de 10 ml. Pyrex
- Pipeta graduada de 5 ml. Pyrex
- Pipeta graduada de 2 ml. Pyrex
- Cámara para CCF

6.1.2. Reactivos y Soluciones

- Maleato de Enalapril. GF Química Fina
- Avicel PH 101. FMC
- Cellactose. Mexicana de Alcaloides
- Lactosa Compresión directa Pharmatose DCL11. Helm México

Malla 200. Helm de México

- Estearato de Magnesio. Helm México
- Prejel. Helm México
- FeO₃. Colorcon
- Butanol. GR J.T. Baker
- Agua desmineralizada
- Ácido Acético. GR J.T. Baker
- Primojel. Helm México
- Ac-di-sol. Helm México
- Metanol. GR J.T. Baker
- HCL/MeOH 0.1N
- HCL. GR J.T. Baker
- Etanol. GR J.T. Baker
- NaHCO₃. GR J.T. Baker

6.1.3. Equipo

- Estufa de Estabilidad a 45 °C, Thelco Mod M08-194
- Estufa de Estabilidad a 65 °C, Thelco Mod M08-193
- Estufa de Estabilidad a 30 °C, Blue M
- Estufa de Estabilidad a 40 °C 75 % HR, Hot Pack
- Espectrofotometro de UV, Espectronic 2000 de Bausch & Lomb
- Tableteadora Rotativa, Marquet E-10
- Rotap
- Balanza Analítica, Sartorius Mod. 24644P132862
- Mezclador, Erweka

6.2. Métodos

6.2.1. Estudios de Preformulación

6.2.1.1. Estudio Reológico para el polvo de Maleato de Enalapril

1. Velocidad de flujo:

Colocar 10 g de muestra de Maleato de Enalapril en un embudo para pruebas reológicas, retirar el tapón de hule y permitir fluir libremente la muestra; determinar el tiempo que tardó en fluir la muestra.

Evaluación:

$$V = \text{Masa/Tiempo}$$

2. Ángulo de Reposo (Dinámico):

Ángulo de reposo: utilizar un embudo de cristal, cerrar su orificio de salida con un tapón de hule, colocar a 10 cm de distancia de la superficie horizontal.

Llenar el embudo, retirar el tapón para dejar que la muestra de maleato de enalapril fluya libremente.

Evaluación:

$$\tan \theta = h/r$$

Donde:

h = Altura del cono formado

r = Radio de la base del cono

θ = Ángulo de reposo

3. Densidad Aparente

Utilizar una probeta de 25 ml de capacidad.

Colocar en la probeta 10 g de la muestra de malcato de enalapril y observar el volumen que ocupa.

Evaluación:

$$D_a = m/v$$

Donde:

D_a = Densidad aparente

m = masa de la muestra

v = volumen que ocupa la muestra en la probeta

4. Densidad Aparente Compactada:

Emplear una probeta de 25 ml. Colocar 10 g de la muestra de malcato de enalapril en la probeta y tapar, compactar los polvos hasta que no experimenten cambios. Posteriormente medir el volumen final que ocupa el polvo.

Evaluación:

$$D_c = m/V_c$$

Donde:

D_c = Densidad relativa

m = Masa de la muestra

V_c = Volumen compactado

5. Distribución de Tamaño de Partícula:

Colocar 10 g de polvo en el tamiz superior ajustando el aparato de Rotap durante 30 min, probar las mallas 20,40,60,80 y 100.

Evaluación:

Se presentan a continuación las tablas II y III como criterios de evaluación para determinar tamaño de partícula y clasificación de polvo.

No. de Malla	Abertura en mm
2	9.5520
4	4.7600
8	2.3800
10	2.0000
20	0.8400
30	0.5900
40	0.4200
50	0.2970
60	0.2500
70	0.2100
80	0.1490
100	0.1770
120	0.1250
200	0.0740

TABLA II. Relación Entre Número de Malla y la Medida de Abertura (4)

Clasificación del Polvo	No. de Malla
Grueso	20 a 40
Semigrueso	50 a 70
Fino	80 a 100
Muy Fino	120 a 200

TABLA III. Relación Entre Tipo de Polvo y Número de Malla. (4)

6. % de compresibilidad

Se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\%C = \frac{D_a - D_c}{D_c} \times 100$$

Donde:

%C = Porcentaje de compresibilidad
Da = Densidad aparente
Dc = Densidad aparente compactada

En la tabla IV se muestra la relación que existe entre el porcentaje de compresibilidad y el tipo de flujo.

% de Compresibilidad	Flujo de Excipientes
5-15	Excelente
12-16	Bueno
18-21	Justo - Aceptable
23-25	Pobre
33-38	Muy Pobre
< 40	Muy Muy Pobre

TABLA IV. Compresibilidad y Flujo de Excipientes Farmacéuticos (4)

6.2.1.2. Degradación de Principio Activo

Colocar en un frasco vial 500 mg de maleato de enalapril adicionar 1 ml de HCl concentrado. En otro frasco vial colocar 500 mg de maleato de enalapril y 1 ml de NaOH 0.1N introducir, estas muestras en una estufa de estabilidad a 65°C. Analizar las muestras a la semana de introducir.

Para observar la degradación química de las muestras utilizar la técnica de cromatografía en capa fina, emplear cromatoplasas de sílica gel 60 F₂₅₄ de 0.2 mm de espesor como fase estacionaria y el sistema de n-butanol-Acido acético-Agua (3:1:1) como fase móvil. Utilizar soluciones de referencia de maleato de enalapril y enalaprilato.

Preparar las soluciones de referencia: pesar 10 mg del estándar y disolver en 5 ml de metanol.

Aplicar la misma cantidad de muestras de degradación y de soluciones de referencia en la cromatoplaqa y colocar dentro de la cámara cromatográfica para eluir y posteriormente observar con luz U.V. a 254 nm para la detección de posibles productos de degradación.

6.2.1.3. Compatibilidad de Principio Activo - Excipientes

a) De acuerdo a la tabla V pesar maleato de enalapril y los excipientes, realizar las siguientes combinaciones:

Muestra	Proporción
Introducir las Sigüientes Muestras en una Estufa a una Temperatura de 65° C	
1. Enalapril - Avicel PH 101	(1:7)
2. Enalapril - Cellactose	(1:7)
3. Enalapril - Lactosa Compresión Directa DCL11	(1:7)
4. Enalapril - Estabilizante	(6:1)
5. Enalapril	(1)
6. Enalapril - Avicel PH 101 - Estabilizante	(1:7:0.1)
7. Enalapril - Cellactose - Estabilizante	(1:7:0.1)
8. Enalapril-Lactosa Compresión Directa DCL11-Estabilizante	(1:7:0.1)
9. Enalapril - Prejel - Estabilizante	(1:2:0.5)
10. Enalapril - Lactosa malla 200	(1:7)
11. Enalapril Estearato de Mg	(6:1)
12. Enalapril - Prejel	(1:2)
13. Enalapril - FeO ₃	(2:0.1)
14. Enalapril-Prejel-FeO ₃ , Estearato de Mg-Lactosa malla 200-Estabilizante	(2:0.1:0.1:0.1:7:0.1)
15. Enalapril - Estabilizante	(6:1)
Introducir las sigüientes muestras en una estufa a temperatura de 37° C	
16. Enalapril - Lactosa Compresión Directa DCL11	(1:7)
17. Enalapril - Estabilizante - agua	(6:1:0.2)
18. Enalapril	(1)
19. Enalapril - lactosa Malla 200 - Estabilizante	(1:7:0.1)
20. Enalapril - Estearato de Mg	(6:1)
21. Enalapril - Prejel	(1:2)
22. Enalapril-Prejel-Estearato de Mg-Lactosa Malla 200-Estabilizante	(1:0.7:0.5:5:0.8)
23. Enalapril - Prejel - Estabilizante	(1:2:0.5)

TABLA V. Compatibilidad Principio Activo Excipiente

Nota: Se utilizó maleato de enalapril como muestra de referencia para observar cambios en las demás muestras.

- b) Después de una semana tomar muestras de cada uno de los frascos viales.
- c) Utilizar la técnica de cromatografía en capa fina para evaluar la degradación química de las muestras. Utilizar placas de sílica gel 60 F₂₅₄ de 20 X 20 cm y 0.2 cm de espesor como fase estacionaria, y como fase móvil al sistema n-butanol-Ac. Acético-Agua (3:1:1); y observar posteriormente con luz UV a 254 nm; la preparación del estándar se describió anteriormente.

Además de la degradación química también evaluar los cambios físicos.

6.2.2. Desarrollo de la Formulación

De acuerdo a los resultados de la etapa anterior seleccionar los excipientes más adecuados para la formulación de tabletas.

De los estudios de preformulación, proponer algunas formulaciones tentativas evaluando los controles críticos, ver tabla XII.

6.2.3. Implementación del Método Analítico

De la revisión bibliográfica se encontró que en solución de metanol /HCl 0.1N el compuesto mostró un máximo de absorción a 207 nm, en espectrofotometría de Ultravioleta, así que se evaluó este método, para utilizarlo como método de control de calidad.(3)

6.2.4. Validación del Método Analítico.

6.2.4.1. Preparación del Placebo

Preparar un placebo de acuerdo a la formulación obtenida con todos los excipientes excepto el principio activo, por el método de fabricación que establecido.

6.2.4.2. Método Validado

Preparación de la Solución de Referencia

Pesar exactamente de 17 mg de Maleato de Enalapril Sustancia de referencia USP y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 50 ml de solución de HCl 0.1 N en metanol y someter a ultrasonido durante 2 minutos para disolver. Aforar con el mismo disolvente. Tomar una alícuota de 4 ml y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml. Aforar con solución de HCl 0.1N en metanol.

La lectura de la muestra a 207 nm, realizarla utilizando como blanco MeOH /HCl 0.1N.

Preparación de la Muestra

Pesar y moler 20 tabletas hasta polvo fino y mezclar. Pesar una cantidad de polvo equivalente a 17 mg de Maleato de Enalapril y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 50 ml de solución de HCl 0.1N en metanol y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Dejar enfriar, aforar con el mismo disolvente y mezclar. Filtrar la solución por papel Whatman No.1, desechar los primeros ml. Tomar una alícuota de 4 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 50 ml. Aforar con solución de HCl 0.1N en metanol.

Realizar la lectura de la muestra en un espectrofotómetro de Ultravioleta a 207 nm, utilizar como blanco una solución de MeOH /HCl 0.1N.

6.2.4.3. Linealidad del Sistema

Realizar la construcción de una curva de calibración de la respuesta del equipo contra la cantidad adicionada de principio activo, a los niveles de 25, 50, 75, 100, 125, 150 %. Partir de una solución patrón, de la siguiente forma:

Pesar 17 mg de Maleato de Enalapril Sustancia de Referencia y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver y aforar con solución de HCl 0.1N en metanol (solución patrón con 170 µg/ml). Tomar el volumen de alícuota de acuerdo con la siguiente tabla y Llevar a 50 ml con HCl 0.1N en metanol como se muestra en la Tabla VI.

Nivel %	Volumen de Aliquotas ml	Concentración $\mu\text{g} / \text{ml}$	No. de Réplicas
25	1	3.4	3
50	2	6.8	3
75	3	10.2	3
100	4	13.6	6
125	5	17.0	3
150	6	20.4	3

TABLA VI. Niveles de Concentración Para la Linealidad del Sistema

Realizar la lectura de todas las muestras en un espectrofotómetro de Ultravioleta a 207 nm. Registrar todos los resultados de absorbancia obtenidos y evaluar los valores de pendiente (m), ordenada al origen (b), y coeficiente de correlación (r).

6.2.4.4. Precisión del Sistema

Tomar los resultados obtenidos del nivel al 100 % y evaluar los valores de los siguientes parámetros: media aritmética (\bar{x}), desviación estándar (σ), y coeficiente de variación (C.V.).

6.2.4.5. Linealidad del Método

Construir una curva de calibración de cantidad recuperada contra cantidad adicionada de principio activo, a los niveles: 0, 60, 80, 90, 100 y 120 %, mediante el método de adición de sustancia de referencia a placebo, de la siguiente manera:

Pesar 323 mg de placebo y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, para cada vez, adicionar la cantidad especificada de Molecato de Enalapril de acuerdo con la tabla No. VII, adicionar 50 ml de una solución de HCl 0.1 N en metanol y agitar durante 1 min., aforar al volumen con el mismo disolvente. Filtrar la solución por papel Whatman No. 1, tomar una alícuota de 4 ml y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml. Aforar con la solución de HCl 0.1 N en metanol.

Leer todas las muestras en espectrofotómetro de ultravioleta a 207 nm.

Nivel	mg Adicionados	Conc. $\mu\text{g/ml}$	mg Adicionados de Placebo
0	-----	-----	323
60	10.20	8.16	323
80	13.60	10.88	323
90	15.30	12.24	323
100	17.00	13.60	323
120	20.40	16.32	323

TABLA VII. Niveles de Concentración en la Linealidad del Método Analítico

realizar el análisis por sextuplicado para cada muestra y al azar. Calcular los mg recuperados, pendiente (m), ordenada al origen (b), coeficiente de correlación (r).

6.2.4.6. Exactitud y Repetibilidad del Método

Con los resultados del nivel al 100 % que se obtienen en la linealidad del método se determina el coeficiente de variación (C.V.).

Para todo el intervalo de concentraciones, excluyendo el 0 %, calcular el % recuperado y determinar el coeficiente de variación (C.V.).

6.2.4.7. Especificidad del Método

Pulverizar 20 tabletas placebo y tomar de ese polvo 1140 mg, disolver en 20 ml de solución de MeOH/HCl 0.1N contenidos en un matraz aforado de 100 ml, agitar por cinco minutos y llevar al volumen con la misma solución, filtrar a través de papel Whatman No. 42, tomar una alícuota de 1 ml del filtrado, y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml, llevar al volumen con solución MeOH/HCl 0.1N.

Realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro de ultravioleta a 207 nm y verificar que no haya interferencia de excipientes con respecto al principio activo.

6.2.4.8. Reproducibilidad del Método

Realizar el análisis como se indica en la parte de método a validar, con 2 analistas, en 2 días diferentes, por triplicado calcular los mg recuperados.

Evaluar el coeficiente de variación (C.V.) y aplicar un análisis de varianza.

6.2.4.9. Estabilidad de la Muestra

Para evaluar la estabilidad, tomar las tres muestras de cualquiera de los analistas, y dividir las en dos partes, para obtener seis soluciones, manteniendo tres de ellas en refrigeración y las otras tres a temperatura y luz ordinaria. Realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro de Ultravioleta a 207 nm a las 24 hrs comparar contra una sustancia de referencia recién preparada.

7. RESULTADOS

7.1. Estudios de Preformulación

7.1.1. Estudio Reológico del principio activo

Velocidad de Flujo: Nulo
Ángulo de Reposo: Nulo
Densidad Aparente: 0.236 g/ml
Densidad Compactada: 0.4638 g/ml
% de Compresibilidad: 47.99

Distribución del Tamaño de Partícula

En la Tabla VIII se reportan los resultados de la prueba de distribución de tamaño de partícula.

No. de Malla	Peso retenida en la malla en g	% retenido en la malla
20	0	0
40	0	0
60	0	0
80	0	0
100	10	100
200	0	0

TABLA VIII. Distribución de Tamaño de Partícula a los 15 min

7.1.2. Degradación del Principio Activo

En la tabla IX se reporta la degradación básica

Muestra	No. de Manchas	RF
M.E. RS, USP	1	0.722
E. RS, USP	1	0.611
NaOH 0.1 N / Maleato de Enalapril	2	0.611
		0.720

TABLA IX. Degradación Básica de Maleato de Enalapril

M.E.: Maleato de Enalapril

E.: Enalaprilato

RS: Sustancia de Referencia

USP: United States Pharmacopeia

En la tabla X se muestra la degradación ácida

Muestra	No. de Manchas	RF
M.E., RS, USP	1	0.620
E., RS, USP	1	0.280
HCl conc. / Maleato de Enalapril	3	0.620
		0.170
		0.280

TABLA X. Degradación Ácida de Maleato de Enalapril

M.E.: Maleato de Enalapril

E.: Enalaprilato

RS: Sustancia de Referencia

USP: United States Pharmacopeia

7.1.3. Compatibilidad de Principio Activo-Excipientes

Muestra	Cambio de Color	Rf
Estándar de Malcato de Enalapril	No	0.600
p.a. / Avicel PH 101	Si	0.520
p.a. / Cellactose	Si	0.600
p.a. / Lactosa compresion directa DCL11	Si	0.600
p.a. /Estabilizante	Si	0.600
p.a.	No	0.600
p.a. / Avicel PH 101 - Estabilizante	Si	0.520
p.a. / Cel Lactosa - Estabilizante	Si	0.600
p.a. /Lactosa Compresion Directa DCL11- Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Prejel - Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Lactosa malla 200	Si	0.600
p.a. / Estearato de Mg	Si	0.600
p.a. / Prejel	Si	0.600
p.a. / FeO ₃	Si	0.600
p.a. / FeO ₃ - Estearato de Mg - Lactosa malla 200 - Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Lactosa Compresión Directa DCL11	Si	0.600
p.a./ estabilizante/agua	No	0.600
p.a.	Si	0.600
p.a. / Lactosa malla 200/Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Estearato de Magnesio	Si	0.600
p.a./Prejel/Estearato de Magnesio/Lactosa malla 200/ Estabilizante	Si	0.600
p.a. / Prejel / Estabilizante	Si	0.600

TABLA XI. Compatibilidad Principio Activo - Excipiente

p.a. = Malcato de Enalapril

El cambio de color observado en todos los casos fue de un color blanco a un color amarillo tenue.

7.2. Desarrollo de la Formulación

De acuerdo a los resultados obtenidos en la etapa anterior se propusieron los siguientes excipientes:

Componentes de la formulación	Formulación I mg	Formulación II mg	Formulación III mg
Malcato de Enalapril	10	10	10
Diluyente	76.1	78.6	81.4
Lubricante	0.8	0.8	0.8
Aglutinante	10.0	7.5	5.0
Estabilizante	3.0	3.0	3.0
Colorante	0.1	0.1	0.1
Total	100	100	100

TABLA XII. Formulaciones Tentativas

El proceso de fabricación para la elaboración de las formulaciones es el siguiente:

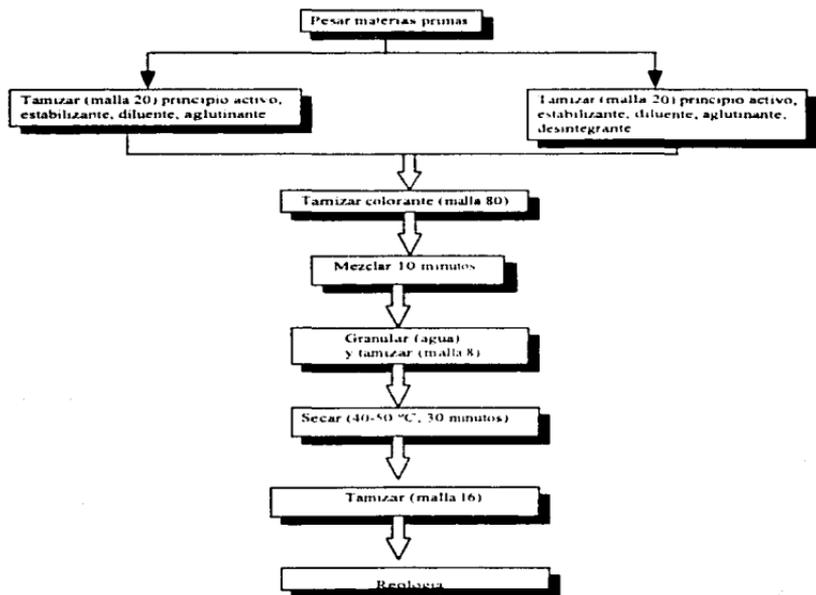


Figura 3. Métodos de fabricación de tabletas

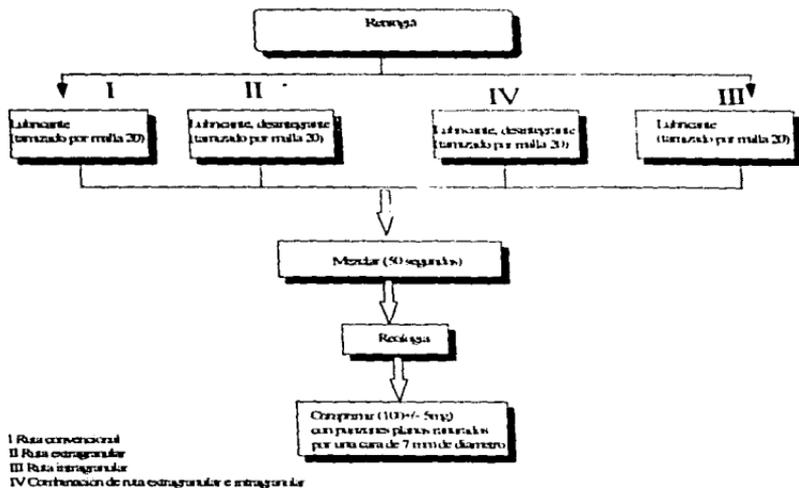


Figura 4. Continuación de los métodos de fabricación de tabletas

En la tabla XIII se muestran algunos datos del segundo estudio reológico de polvos del granulado para las diferentes formulaciones.

FORMULACION	PARAMETROS			
	Densidad aparente	Densidad compactada	% de compresión	Tamaño de lote
1	0.432	0.540	20.0	150 g
2	0.400	0.500	20.0	150 g
3	0.430	0.540	20.4	150 g
4	0.472	0.590	20.0	150 g
5	0.432	0.540	20.0	150 g
6	0.405	0.510	20.5	150 g
7	0.420	0.530	20.7	150 g

TABLA XIII. Datos sobre reología de polvos del granulado.

Para cada formulación se evaluaron friabilidad, dureza y desintegración como se muestra en la tabla.

FORMULACIÓN	% AGLUTINANTE	FRIABILIDAD	DUREZA	TIEMPO DE DESIN
1	10	0.16	6.0-7.5	mayor de 15 min
2	7.5	0.18	6.0-7.5	mayor de 15 min
3	5	0.17	6.0-7.0	mayor de 15 min

TABLA XIV. Variación de Aglutinante

En cuanto al tiempo de desintegración se describe en la USP XXIII que para este producto que debe ser menor de 15 minutos.

Debido a los resultados anteriormente expuestos se procedió a adicionar un desintegrante a la formulación.

En la tabla XV se describe el estudio de desintegrantes 1 y 2.

		Desintegrante 1	
		0 %	1 %
	0 %		Formulación 4
Desintegrante 2	1 %		Formulación 5
	2 %	Formulación 6	Formulación 7

TABLA XV. Variación de Desintegrante Matriz 1

	Desintegrante 1		Desintegrante 2	
	Intragranular	Extragranular	Intragranular	Extragranular
Formulación 4	*			
Formulación 5		*	*	
Formulación 6			*	
Formulación 7		*	*	*

TABLA XVI. Forma de Adición de Desintegrante Matriz 2

Variable de respuesta: tiempo de desintegración los resultados se muestran en la Tabla XVII y son el promedio de al menos 3 determinaciones.

Formulación	Tiempo de Desintegración
4	5 min
5	4 min
6	5 min
7	4 min

TABLA XVII. Tiempo de Desintegración para diferentes Formulaciones Propuestas de Maleato de Enalapril.

De acuerdo a los resultados anteriormente dados la formulación adecuada o fórmula óptima que cumple con especificaciones de diseño es la siguiente:

• *Formulación Óptima*

Componentes	mg por unidad	% en Formulación
Maleato de Enalapril	10.0	10.0
Estabilizante	3.0	3.0
Diluyente	79.1	79.1
Aglutinante	5.0	5.0
Colorante	0.1	0.1
Desintegrante 1	2.0	2.0
Lubricante	0.8	0.8
Agua desmineralizada	c.b.p.	
Total	100.0	100.0

TABLA XVIII. Principio Activo - Excipientes Óptimos

Controles de la Formulación Críticos Evaluados:

Determinación	Especificación	Resultados	Nº. Eval.
% de Friabilidad	menor del 1 %	0.6 %	10
Dureza	(4.0 - 8.0 Kg)	(5.0 - 7.5 Kg)	10
Desintegración	menor de 15 minutos	7.0 minutos	6
Disolución	Q > 80 %	Q = 103.3 %	6
Valoración	(95 - 105 %)	101.0 %	3
Unif. de Contenido	C.V. < 6%	C.V. = 4.9 %	10

TABLA XIX. Controles Evaluados a la Formulación Final

Las tabletas fueron sometidas a un ciclaje de 24 X 24 hrs a 65°C y temperatura ambiente durante 15 días. Se observó mediante cromatografía en capa fina que no existe

degradación del principio activo, ni incompatibilidad con los excipientes, por lo tanto, se puede decir que la formulación es estable.

7.3. Implementación y Validación del Método Analítico

7.3.1. Linealidad del Sistema.

La evaluación se realizó considerando 6 niveles de concentración 3 niveles por debajo del 100 % y 2 arriba, con 3 repeticiones a excepción de la del 100 % que se realizó con 6 repeticiones para evaluar precisión; los resultados se observan en la Tabla XX.

Nivel %	Concentración $\mu\text{g/ml}$	Réplica No.	Respuesta Abs	X	σ	C.V %
25	3.4	1	0.115	0.109	0.006	6.2
		2	0.112			
		3	0.102			
50	6.8	1	0.241	0.247	0.005	2.3
		2	0.249			
		3	0.252			
75	10.2	1	0.366	0.366	0.002	0.6
		2	0.368			
		3	0.364			
100	13.6	1	0.477	0.479	0.002	0.5
		2	0.478			
		3	0.477			
		4	0.483			
		5	0.479			
		6	0.480			
125	17.0	1	0.571	0.572	0.001	0.2
		2	0.573			
		3	0.573			
150	20.4	1	0.670	0.667	0.002	0.3
		2	0.667			
		3	0.666			

TABLA XX. Linealidad del Sistema

$$m = 0.033 \quad b = 0.014 \quad r = 0.9979$$

$$m_r = 0.965 \quad b_r = 0.0349 \quad r^2 = 0.9958$$

LINEARIDAD DEL SISTEMA MALEATO DE ENALAPRIL TABLETAS

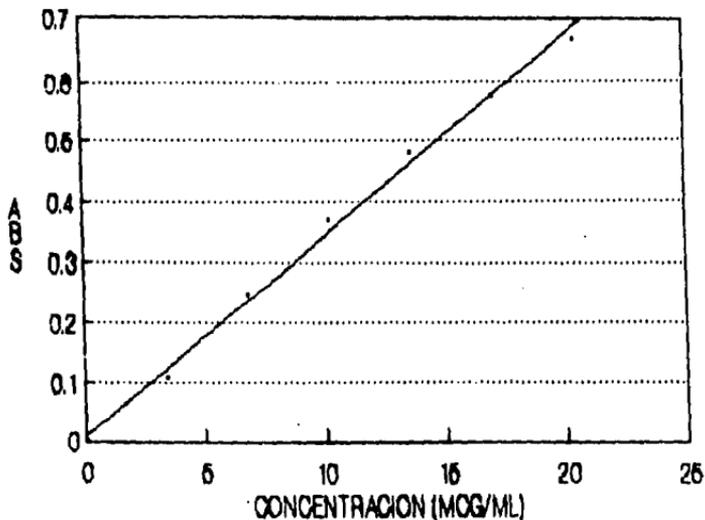


fig. 3. Linealidad del Sistema Para Tabletass de Maleato de Enalapril.

7.3.2. Precisión del Sistema.

Se realizó con un nivel de concentración del 100 % con 6 repeticiones.

Réplica	Respuesta
No.	Absorbancia
1	0.477
2	0.478
3	0.477
4	0.483
5	0.479
6	0.480

TABLA XXI. Precisión del Sistema

desviación estándar (σ) = 0.002
coeficiente de variación (C.V.) = 0.476 %

7.3.3. Linealidad del Método

Nivel %	Replica No	Cantidad Adic. mg	Cantidad Rec. mg	% Recup	X	σ	C.V.
0	1	0	0	0	0	0	0
	2		0	0			
	3		0	0			
	4		0	0			
	5		0	0			
60	1	10.2	10.40	101.90	10.70	0.217	2.02
	2		10.56	103.40			
	3		10.87	106.50			
	4		10.80	105.80			
	5		10.90	106.90			
80	1	13.6	14.03	103.16	13.90	0.197	1.41
	2		14.03	103.16			
	3		13.96	102.67			
	4		13.95	102.58			
	5		13.56	99.74			
90	1	15.3	15.98	104.42	15.88	0.129	0.81
	2		16.04	104.85			
	3		15.71	102.70			
	4		15.88	103.78			
	5		15.83	103.80			
100	1	17.0	17.13	100.77	17.27	0.422	2.44
	2		16.64	97.93			
	3		17.35	102.06			
	4		17.06	100.41			
	5		17.73	104.32			
	6		17.73	104.32			
120	1	20.4	20.10	98.54	20.49	0.403	1.96
	2		20.63	101.13			
	3		21.12	103.55			
	4		20.22	99.14			
	5		20.40	100.00			

TABLA XXII. Linealidad del Método

$m = 0.9626$

$b = 0.9253$

$r = 0.9957$

$r^2 = 0.9915$

LSIC=1.0001

LSIC= 1.5160

LIIC= 0.9250

LIIC= 0.3346

$\sigma_1 = 2.3620$

C.V. = 2.3030

LINEARIDAD DEL METODO MALEATO DE ENALAPRIL TABLETAS

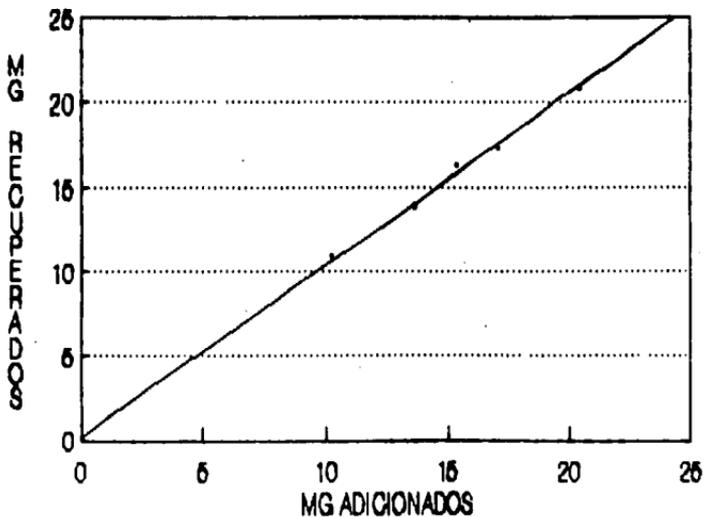


fig. 4. Linealidad del Método Para Tabletas de Maleato de Enalapril

7.3.4. Exactitud y Repetibilidad del Método

Exactitud: se realizó con nivel de concentración al 100 % con 6 repeticiones evaluados en la linealidad del método.

Coefficiente de variación (C.V.) = 2.44
Desviación estándar (σ) = 0.422
Media aritmética (\bar{X}) = 17.27

Repetibilidad: se realizó con un todos los intervalos de concentración, excluyendo el 0 % calculando el % recuperado y el coeficiente de variación total (CV_t).

Coefficiente de variación total (CV_t) = 2.302

7.3.5. Especificidad del Método.

Evaluar placebos con 6 repeticiones y observar la respuesta.

Réplica	Respuesta
No.	Abs
1	0.006
2	0.007
3	0.008
4	0.001
5	0.006
6	0.003

Media Aritmética (\bar{X}) = 0.005
Desviación estándar (σ) = 0.002

7.3.6. Precisión del Método.

7.3.6.1. Reproducibilidad del Método, evaluado con un nivel de concentración al 100 % de concentración y tres repeticiones por dos analistas diferentes en distintos días.

		ANALISTA	
		1	2
D	1	103.00	98.63
		98.79	97.95
I		98.19	101.80
		100.75	100.52
A	2	102.40	98.67
		102.85	103.27

TABLA XXIII. Efecto Día- Analista
Reproducción del Método Para
Maleato de Enalapril

Media aritmética (X) = 100.56%
Desviación estándar (σ) = 2.053
Coeficiente de variación(C.V.)=2.041

FUENTE DE VARIACION	GL	ΣC	X C	F cal	F tab
ANALISTA	1	2.2031	2.2031	0.4986	7.57
DÍA / ANALISTA	2	8.8125	4.4063	0.9973	6.06
ERROR	8	35.3438	4.4180	-----	-----

TABLA XXIV. Análisis de Varianza Para la Reproducibilidad del Método Analítico de
Maleato de Enalapril

Fcal < Ftab
0.4986 < 7.57

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1. Caracterización del Polvo

De los estudios reológicos, se observó que la velocidad de flujo y el ángulo de reposo describen un polvo muy cohesivo, en la distribución de tamaño de partícula todo el polvo se retuvo en la malla número 100, por lo que el principio activo presentó un tamaño de partícula muy fino y uniforme, de esto se deduce que las características son inadecuadas y no favorece la fabricación de tabletas de Maleato de Enalapril por compresión directa por lo tanto y en base a estos criterios se decidió probar otra vía de obtención de las tabletas.

Se realizaron ensayos para la compresión de tabletas por vía húmeda, evaluando los parámetros críticos en el proceso de fabricación, los resultados obtenidos registraron valores estipulados dentro de las normas de calidad establecidas por la farmacopea, de lo anterior se decidió que la mejor vía de fabricación de tabletas de Maleato de Enalapril es la compresión por vía húmeda, obteniéndose un producto de alta calidad que puede ser utilizado a nivel industrial.

8.2. Degradación del Principio Activo

La degradación del principio activo estuvo dada por condiciones específicas en medio ácido a una temperatura de 65°C, se observaron en la placa tres manchas que corresponden en valores de RF, una al estándar de maleato de enalapril, y la otra al estándar de enalaprilato, la tercera mancha se debe a la reacción de ciclización que sufre el principio activo probablemente por la temperatura alta.

8.3. Compatibilidad con Excipientes

El principio activo es incompatible física y químicamente con la celulosa microcristalina; con el resto de los excipientes es incompatible sólo en forma física, ya que se observó un cambio de color del polvo (de blanco a amarillo tenue), pero químicamente no se

observo degradación del principio activo como los resultados muestran de acuerdo a las placas de cromatografía en capa fina y valores de Rf.

8.4. Formulaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos para la formulación número uno las tabletas no cumplieron con la especificación de la prueba de desintegración, así que en las siguientes dos formulaciones se decidió disminuir el porcentaje de aglutinante, ya que este componente afecta directamente al tiempo de desintegración. A pesar de este cambio las tabletas analizadas reportaron tiempos de desintegración demasiado altos, así que se decidió adicionar un desintegrante, se realizó una matriz para verificar el tipo de desintegrante, la concentración, y la manera de adición en la formulación de este componente. Los resultados reportados indican que todas las pruebas disminuyeron los tiempos de desintegración así que se decidió adicionar a la formulación el desintegrante número 1, ya que se adicionó muy poca cantidad de este y disminuyó el tiempo de desintegración de las tabletas que era de más de 15 min hasta solamente 5 a 7 min.

Debido a que el principio activo (maleato de enalapril) es una sal que en solución saturada tiene un pH alrededor de 3, puede provocar corrosión en la superficie de los punzones de la tableteadora; por lo que es necesario la adición de un estabilizante, con lo cual se mejora la fórmula y se hace más fácil el procedimiento de tableteado. Las tabletas fueron sometidas a un ciclaje de 24 X 24 hrs para determinar si existía degradación en la formulación a altas temperaturas o degradación a corto plazo, se observó que la formulación de las tabletas permanecía estable en esas condiciones.

8.5. Validación del Método Analítico.

En cuanto a los resultados reportados en la validación del método analítico se concluye que el sistema es lineal ya que en los valores obtenidos se observa que existe una relación altamente significativa entre la concentración del analito (mg/ml) y la respuesta obtenida (absorbancia), por lo que se infiere que el sistema es lineal en el intervalo de concentraciones especificado.

El sistema es preciso ya que el valor de coeficiente de variación (C.V.) es menor al 2% establecido, por lo tanto, se dice que el sistema es preciso en los niveles de concentración trabajada (100%).

Linealidad del método. De acuerdo a los resultados obtenidos se infiere que existe una relación altamente significativa entre los mg adicionados y los mg recuperados, derivados de los niveles de concentración evaluados para los parámetros establecidos condicionados para pendiente (m) = 1, ordenada al origen (b) = 0 y coeficiente de correlación (r) < 1, por lo que se concluye que el método es lineal.

Repetibilidad del método. El coeficiente de variación del nivel al 100% es menor del 3 %, así que se concluye que el método es repetible.

Para todo el intervalo de concentraciones:

Media aritmética (\bar{x}) = 101.6

Desviación estándar (σ) = 0.422

Coefficiente de variación (C.V.) = 2.44

Como se puede observar el coeficiente de variación total (C.V.t) es 2.302, menor a 3% así que el método se considera exacto.

Reproducibilidad del método. Como se observa de acuerdo a los cálculos $F_{cal} < F_{tab}$ para la fuente de variación analista, evaluado al 100 % y tres repeticiones con dos analistas y dos diferentes días para observar si existe diferencia sobre la valoración.

$F_{cal} < F_{tab}$ para la fuente de variación Día/Analista, no existe efecto sobre los días para un analista en la valoración. Así que se considera que el método es reproducible para los fines que se requieren.

Especificidad del método. Como se observa en los resultados al nivel de cero para la linealidad del método, los valores de absorbancia para este nivel dan alrededor de 0.005, así que se deduce que el método es específico en cuanto a los excipientes de la formulación.

Estabilidad de la muestra. De acuerdo a los resultados presentados se observa que a temperatura de refrigeración la muestra es estable.

Todo fué evaluado con el programa Válida Ver. 1.0.

9. CONCLUSIONES

1. Se realizaron los estudios de preformulación determinando la mejor vía de fabricación para las tabletas por medio de la caracterización del polvo, siendo ésta por vía húmeda, además se determinó la compatibilidad de maleato de enalapril y los posibles excipientes dando como resultado que es necesaria la adición de un estabilizante, para controlar la acción corrosiva del principio activo, además, se observó que es incompatible físicamente, pero muy estable químicamente con casi todos los excipientes.

2. Se obtuvo una formulación en tabletas de maleato de enalapril de calidad en base a los resultados de la etapa anterior que cumplen con las especificaciones oficiales establecidas en la USP XXIII, adicionando una base para estabilizarlo.

3. Se implementó un método analítico por espectrofotometría de ultravioleta para la cuantificación de maleato de enalapril, en solución de MeOH/HCl 0.1N a 207 nm.

Este método fue validado dando como resultado que es lineal, preciso, exacto, específico y reproducible en el intervalo de concentraciones de 6.8 a 10 µg/ml, con una $c=0.033$ en MeOH/HCl 0.1N, destinado al análisis del granel y producto terminado en control de calidad.

4. La muestra es analíticamente estable en temperatura de refrigeración por 24 hrs.

5. La formulación final fue sometida a un ciclaje 24 X 24 a 65°C por 15 días, no mostró degradación del principio activo y mantiene sus propiedades físicas y químicas en el periodo de prueba.

6. La importancia de desarrollar una metodología, es que permite desarrollar una nueva formulación donde se evalúa cada uno de los parámetros establecidos para el control de calidad y estabilidad, delimitando las variables que intervienen y optimizando el proceso hasta obtener un producto que cumple satisfactoriamente con las normas de calidad establecidas para tabletas.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas" 14a. ed., Ed. Ediciones PLM, México, D.F. 1994. pág. 754-755.
2. Martindale "Extrapharmacopoeia" 28th Edition, The Pharmaceutical Press, London 1982. pág. 1706.
3. Florey K. "Analytical Profiles of Drugs Substances" Ed Academic Press, Tomo 16, U.S.A., 1987. pág. 207-243.
4. "Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos", 5a. ed., Secretaria de Salud, 1988, pág. 46.
5. Boylan J., Cooper C., "Handbook of Pharmaceutical Excipients" U.S.A., pág. 45-48, 153-162, 234-239.
6. Lieberman H.A., "Pharmaceutical Dosage Forms Tablets" Vol I, Ed. Marcel Dekker Inc, New York 1980. pág. 1-59, 68-97, 110-229, 259-264.
7. Worland P., Jarott B. "Radioimmunoassay for the Quantitation of Lisinopril and Enalaprilat" *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75, 5; 512-516, 1986.
8. Bolhuis G. "Interaction of Tablet Desintegrants and Magnesium Estearate During Mixing I: Effect on Tablet Desintegration" *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 70, 2; 1981.
9. Lieberman H. Lachman L. "Pharmaceutical Dosage Forms Tablets" vol II, Ed. Marcel Dekker Inc., New York, 1980. pág. 153-182, 239-275.
10. Remington. "Farmacia" 7a. ed., Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina 1987.
11. Roman F. "Innovación y Desarrollo Farmacéutico" Asociación Farmacéutica Mexicana A.C., 1990. México, D.F. pág. 272-289.
12. Fiese E.F., Kagen T.A. "Preformulation in Theory and Practice of Industrial Pharmacy", 3d ed., Ed. Lea & Febiger, 1986, pág. 171-196.
13. Goodman L., Gilman A. "The Pharmaceutical Basis of the Therapeutics" 43th Edition. The Macmillan Company New York. 1965.
14. Kumar V., Sander N. "Critical Factors in Developing Pharmaceutical Formulations. - An Overview, Part II", *Pharmaceutical Technology*, April 1992 pág. 171-176.
15. Lachman L., Deluca P. "Kinetic Principles and Stability Testing in Theory and Practices of Industrial Pharmacy. of Industrial Pharmacy" 3th ed, Eds Lea & Febiger, Philadelphia 1986, pág. 760-803.
16. "Manual de Validación de Métodos Analíticos", Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.
17. Alcántara, A., "Material de Apoyo al Curso: Validación de Métodos Analíticos," LUAL, México 1993.
18. Kumar V., Sander N., "Critical Factors in Developing Pharmaceutical Formulations.

- An Overview, Part I Pharmaceutical Technology*, April 1992, pág. 86-92.
19. Good H., Loy R. "New in Vitro Desintegration and Disolution Test Method For Tablet and Capsules" *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62, 2, 297-304, 1973.
 20. Chowhan Z.T. "Drug-Excipient Interactions Resulting From Powder Mixing, I: Possible Mechanismo of Interaction with Starch and its Effect on Drug Dissolution", *Pharmaceutical Technology*, 9, 3; 84-92, 1985.
 21. Lachman L., William R. "Pharmaceutical Properties of Drugs and Dosage Forms Affecting Physiological Availability" *Journal of American Pharmaceutical Association*, 12, 5; 210-213; 1972 .
 22. Swanson B.N. "Influence of Food on the Bioavailability of Enalapril", *American Pharmaceutical Association*, 73, 11; 1655-1657, 1984.
 23. Lachman. "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy" 3th ed., Ed., Lea & Febiger; USA, 1986 pag 184.
 24. The United States Pharmacopeia XXIII; Mack Printing Company, Easton PA. 1995.
 25. Nash R. "Pharmaceutical Process Validation;" 2nd ed., Ed. Marcel Decker Inc , USA. 1993 pag. 573-586.
 26. Rubinstein M. "Pharmaceutical Technology. Tableting Technology" Vol. I, Ed., Ellis Horwood Limited. John Willey & Sons. USA 1987. pag. 157-165.
 27. Drug Facts and Comparisons. Facts and Comparisons 47th St. Louis. USA. 1993. pag. 828-829.
 28. Cartensen J. "Theory of Pharmaceutical Systems." Vol. II. Heterogeneous Systems; Ed. Academic Press, USA. 1993. pag. 165-217.
 29. Remington "Pharmaceutical Sciences." 15th Mack Publishing Company. USA. 1975. pag. 780-781.
 30. "The Merck Index", 11th , Ed. Merck & Co. Inc., U.S.A. 1989, pág 557.

11. ANEXO

CALCULOS ESTADÍSTICOS

Las pruebas estadísticas se refieren de acuerdo al concepto establecido

Linearidad del sistema

La relación entre cantidades adicionadas de principio activo y la respuesta obtenida por el sistema cromatográfico (CLAR, CG) volumétrico, gravimétrico, absorcimétrico, etc. debe ser una función lineal del tipo

$$y = b + mx + e$$

donde

y = respuesta obtenida

b = ordenada al origen

m = pendiente (coeficiente de extinción, título, etc.)

x = cantidades adicionadas de principio activo (pesadas independientes, diluciones)

e = error del sistema (σ/s)

Estimación de b y m por el método de mínimos cuadrados

Fórmulas empleadas

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

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

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - h(\sum y) - m(\sum xy)}{n-2}}$$

$$\hat{y} = b + mx$$

donde

m = estimado de la pendiente

b = estimado de la ordenada al origen

$S_{y/x}$ = estimado de $\sigma y/s$ (desviación estándar de la regresión)

\hat{y} = estimado de la respuesta a partir del modelo de regresión dado x

DEFINICIÓN DE m

Es la relación de cambio de la respuesta dada con respecto al cambio de la cantidad de principio activo.

Inferencia

- Límites del intervalo de confianza:

$$m \pm t_{0.975, n-2} \cdot S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

Donde:

$t_{0.975, n-2}$ = valor de t de Student con área bajo la curva de 0.975 y $n-2$ grados de libertad

- Prueba de Hipótesis:

$$H_0: m = m_0$$

$$H_1: m \neq m_0$$

Realizamos la prueba para $m_0 \neq 0$ ya que en un sistema de medición adecuado, al variar la cantidad adicionada debe variar la respuesta obtenida.

- Distribución muestral: distribución t de Student con $n-2$ grados de libertad.

$$t = \frac{m - m_0}{S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}}$$

- Estadígrafo de contraste:

$$t_{CI} = \frac{m}{S_y \cdot x \sqrt{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

DEFINICIÓN DE b

Interferencia:

• Límites del intervalo de confianza

$$b \pm t_{0.975, n-2} \cdot S_y / x \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2}{n} + \frac{1}{n}}$$

donde

$t_{0.975, n-2}$ = valor de t de Student con área bajo la curva de 0.975 y n-2 grados de libertad

• Prueba de hipótesis

$$H_0: b = b_0$$

$$H_1: b \neq b_0$$

Realizamos la prueba para $b_0 = 0$ ya que en teoría muchos sistemas dan respuesta cero a concentración cero. En esta prueba se busca que H_0 se cumpla, por lo que si el sistema de interés no cumple con la suposición anterior, esta prueba no debe de interpretarse

• Distribución muestral: distribución t de Student con n-2 grados de libertad

$$t = \frac{b - b_0}{S_y \cdot x \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2}{n} + \frac{1}{n}}}$$

• Estadígrafo de contraste

$$t_{C.A.} = \frac{b}{S.E. \cdot \sqrt{\frac{\sum v^2 - (\sum v)^2}{n-1}}}$$

BASE DE LA INTERPRETACION

Si $|t_{C.A.}| \leq t_{0.975, n-2}$ la interpretación de los resultados es que la ordenada pasa por el origen

Si $|t_{C.A.}| \geq t_{0.975, n-2}$ la interpretación de los resultados es que la ordenada no pasa por el origen.

Interferencia sobre linealidad

Asociación entre cantidad adicionada y cantidad medida

• Prueba de hipótesis

$$H_0: m = m_0$$

$$H_1: m \neq m_0$$

Realizamos la prueba también para $m_0 \neq 0$ ya que en teoría un sistema de medición es adecuado cuando al variar la cantidad adicionada también varía la respuesta obtenida. Se busca efecto altamente significativo, es decir, que H_1 se cumpla

• Distribución muestral: Distribución F con un grado de libertad en el numerador y n-2 grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{\sigma_{\mu}^2}{\sigma_{ER}^2}$$

• Estadígrafo de contraste

$$F = \frac{MC_{\mu}}{MC_{ER}}$$

donde

R= regresion
 ER = error de regresion
 MC= media de cuadrados

Determinacion de la linealidad entre cantidad y propiedad medida

• Prueba de hipotesis

$$H_0: y = b + mx$$

$$H_1: y \neq b + mx$$

Mediante este planteamiento determinamos si la asociacion entre cantidad y propiedad medida se describe mediante un modelo lineal

• Distribucion muestral distribucion F con $(n-2) - \sum(r_i - 1)$ grados de libertad en el numerador y $\sum(r_i - 1)$ grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{\sigma_{F1}^2}{\sigma_{EP}^2}$$

• Estadigrafo de contraste

$$F = \frac{MC_{FA}}{MC_{EP}}$$

donde

FA= Falta de ajuste
 EP= error puro

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRA	F CAL
REGRESION	1	$m \sum x_i y_i + b \sum y_i - [(\sum y_i)^2 / n]$	SC_{REG} / GL_{REG}	M_{REG} / M_{EP}
ERROR REGRESION	$n-2$	$\sum y_i^2 - m \sum x_i y_i - b \sum y_i$	SC_{ER} / GL_{ER}	
FALTA DE AJUSTE	$(n-2) - \sum(r_i - 1)$	$SC_{ER} - SC_{REG}$	SC_{FA} / GL_{FA}	M_{FA} / M_{EP}
ERROR PURO	$\sum(r_i - 1)$	$\sum y_i^2 - \sum y_i^2 / r_i$	SC_{EP} / GL_{EP}	

donde

SC= suma de cuadrados

GL= grados de libertad

m= pendiente de la recta

b= ordenada al origen

n= número total de pares de cantidad adicionada-respuesta

r_i = número de repeticiones de resimo nivel de cantidades adicionadas

x= cantidad adicionada

y= propiedad medida

y_i = total de la propiedad medida del resimo nivel de cantidades adicionadas.

BASE DE LA INTERPRETACION

Si F_{CM} de la fuente de variación - regresion es mayor a 0.05, la interpretación de los resultados es que no existe relacion entre la cantidad adicionada y la respuesta obtenida

Si F_{CM} de la fuente de variacion - regresion es menor a 0.05 y mayor a 0.01, la interpretación de los resultados es que existe una relacion significativa entre la cantidad adicionada y la respuesta obtenida

Si F_{CM} de la fuente de variacion - regresion es menor a 0.01, la interpretación de los resultados es que existe una relacion altamente significativa entre la cantidad adicionada y la respuesta obtenida

Si F_{CM} de la fuente de variacion - falta de ajuste es mayor a 0.05, la interpretación de los resultados es que el modelo lineal representa de manera correcta la relacion entre la cantidad adicionada y la respuesta obtenida

Si F_{CM} de la fuente de variacion - falta de ajuste es menor a 0.05, la interpretación de los resultados es que el modelo lineal no representa de manera correcta cantidad adicionada y respuesta obtenida

*Correlación

Se evalúa calculando la raíz cuadrada del coeficiente de determinación (r^2).

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

Exactitud

Es la concordancia existente entre un valor determinado y su valor real

DEFINICION DE μ :

Es la medida poblacional de los recobros experimentales expresada en porcentaje.

Interferencia

• Prueba de hipótesis

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_1: \mu \neq \mu_0$$

Realizamos la prueba para $\mu_0 = 100$, ya que en teoría si el método carece de error sistemático constante, el recobro experimental expresado en porcentaje debe ser 100

Distribución muestral distribución t Student con n-1 grados de libertad

$$t = \frac{\bar{y} - \mu_0}{s/\sqrt{n}}$$

donde:

\bar{y} = valor promedio de los datos (estimados de μ) $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$

μ_0 = valor real de parámetro.

s/\sqrt{n} = error estándar

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

donde

s = desviación estándar

n = número de recobros

*Estadígrafo de contraste

$$t_{\text{CAL}} = \frac{y - \mu_m}{\sqrt{\frac{s^2}{n}}}$$

*Límites del intervalo de confianza

$$y \pm t_{\alpha/2, n-1} \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

*Repetibilidad.

Es la concordancia entre los recobros independientes generados bajo las mismas condiciones de análisis (mismo día, mismo analista, misma corrida, mismos reactivos, mismo equipo, etc)

Fórmula

$$(1.96)s$$

BASE DE LA INTERPRETACION

Si $t_{\text{CAL}} < t_{\alpha/2, n-1}$, la interpretación de resultados es que el método carece de error sistemático consistente, por lo tanto, el método es exacto al 100%.

Si $t_{\text{CAL}} > t_{\alpha/2, n-1}$ la interpretación de los resultados es que el método presenta error sistemático constante, por lo tanto, el método no es exacto al 100%.

Linealidad del método

La relación entre las cantidades adicionadas y cantidades recuperadas de principio activo empleando el método analítico debe ser una función lineal del tipo:

$$y = b + mx + c$$

donde:

y = cantidad recuperada de principio activo

b = ordenada al origen

m = pendiente

x = cantidades adicionadas al principio activo

E = error del método (σ, ϵ)

Para la estimación de m y b por el método de mínimos cuadrados se emplean las mismas fórmulas que en la linealidad del sistema. Entonces

$$\hat{y} = b + mx,$$

donde

m = estimado de la pendiente

b = estimado de la ordenada al origen

y = y estimado de la cantidad recuperada del principio activo a partir del modelo de regresión dado x_1

DEFINICION DE m

Es la relación de cambio de la cantidad recuperada con respecto al cambio de la cantidad adicionada del principio activo

Interferencia

* Límites del intervalo de confianza

$$m \pm t_{0.975, n-2} S_e \cdot \sqrt{\frac{1}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}}$$

Donde

$t_{0.975, n-2}$ = valor de t de Student con área bajo la curva de 0.975 y $n-2$ grados de libertad

* Prueba de Hipótesis

$$H_0: m = m_0$$

$$H_1: m \neq m_0$$

Realizamos la prueba para $m_0 = 1$ ya que si el método carece de error sistemático proporcional consistente, la pendiente es uno

*Distribucion muestral distribución t de Student con n-2 grados de libertad

$$t = \frac{m - m_0}{S^2/x \sqrt{\frac{1}{n} \left(\sum v^2 - \frac{(\sum v)^2}{n} \right)}}$$

*Estadígrafo de contraste

$$t_{c.u.} = \frac{m - 1}{S^2/x \sqrt{\frac{1}{n} \left(\sum v^2 - \frac{(\sum v)^2}{n} \right)}}$$

DEFINICIÓN DE b.

Es la respuesta del método a la cantidad adicionada de cero

Interferencia

*Límites del intervalo de confianza

$$b \pm t_{n-2, 0.975} \cdot S^2/x \sqrt{\frac{1}{n} \left(\sum v^2 - \frac{(\sum v)^2}{n} \right)}$$

donde

$t_{n-2, 0.975}$ = valor de t de Student con área bajo la curva de 0.975 y n-2 grados de libertad.

* Prueba de hipótesis

$$H_0: b = b_0$$

$$H_1: b \neq b_0$$

Realizamos la prueba para $b_0 = 0$ ya que en teoría el método a cantidad adicionada de cero debe de recuperar cero, es decir el método carece de error sistemático proporcional constante.

Un método se considera que carece de error sistemático proporcional cuando no presenta ni error sistemático consistente ni error sistemático proporcional constante

*Distribución muestral distribución t de Student con n-2 grados de libertad

$$t = \frac{h - h_m}{S^2 \sqrt{\frac{1}{v} \left(\frac{h - h_m}{v} \right)^2 + \frac{1}{n}}}$$

*Estadígrafo de contraste

$$t_{C:U} = \frac{h}{S^2 \sqrt{\frac{1}{v} \left(\frac{h}{v} \right)^2 + \frac{1}{n}}}$$

BASE DE LA INTERPRETACION

i) Error sistemático proporcional consistente

Si $|t_{C:U}| \leq t_{\alpha/2, n-2}$ la interpretación de los resultados es que el método carece de error sistemático proporcional consistente

Si $|t_{C:U}| > t_{\alpha/2, n-2}$ la interpretación de los resultados es que el método presenta error sistemático proporcional consistente

ii) Error sistemático proporcional constante

Si $|t_{C:U}| \leq t_{\alpha/2, n-2}$ la interpretación de los resultados es que el método carece de error sistemático proporcional constante

Si $|t_{C:U}| > t_{\alpha/2, n-2}$ la interpretación de los resultados es que el método presenta error sistemático proporcional constante

Interferencia sobre linealidad

Asociación entre cantidad adicionada y cantidad medida

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

*Prueba de hipótesis

$$H_0: m = m_0$$

$$H_1: m \neq m_0$$

Realizamos la prueba también para $m_0 \neq 0$ ya que en teoría un método de medición adecuado, al variar la cantidad adicionada debe variar la cantidad recuperada

*Distribución muestral: Distribución F con un grado de libertad en el numerador y n-2 grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{\sigma_R^2}{\sigma_{ER}^2}$$

*Estadígrafo de contraste:

$$F = \frac{MC_R}{MC_{ER}}$$

donde

R= regresión

ER = error de regresión

MC= media de cuadrados

Determinación de la linealidad entre cantidad adicionada y cantidad recuperada.

* Prueba de hipótesis:

$$H_0: y = h + mx$$

$$H_1: y \neq h + mx$$

Mediante este planteamiento determinamos si la asociación entre cantidad y propiedad medida se describe mediante un modelo lineal

*Distribución muestral: distribución F con (n-2)- $\Sigma(r_i-1)$ grados de libertad en el numerador y $\Sigma(r_i - 1)$ grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{\sigma_{r_i-1}^2}{\sigma_{ER}^2}$$

• Estadígrafo de contraste

$$F = \frac{MC_{FA}}{MC_{EP}}$$

donde

FA= Falta de ajuste

EP= error puro

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRA	F CAL
REGRESION	1	$m \sum xy + b \sum y - [(\sum y)^2 / m]$	SC_R / GL_R	MR^2 / MR^2_{00}
ERROR REGRESION	n-2	$\sum y^2 - m \sum xy - b \sum y$	SC'_{ER} / GL_{ER}	
FALTA DE AJUSTE	$(n-2) - \sum(r_i - 1)$	$SC'_{IR} - SC_{ER}$	SC'_{FA} / GL_{FA}	MR^2 / MR^2_{00}
ERROR PURO	$\sum(r_i - 1)$	$\sum y_i^2 - \sum y_i^2 / r_i$	SC'_{EP} / GL_{EP}	

donde:

SC= suma de cuadrados

GL= grados de libertad

m= pendiente de la recta

b= ordenada al origen

n= número total de pares de cantidad adicionada-respuesta

r_i = número de replicaciones de íesimo nivel de cantidades adicionadas

x= cantidad adicionada

y= propiedad medida

y_i = total de la propiedad medida del íesimo nivel de cantidades adicionadas

BASE DE LA INTERPRETACIÓN

Si F_{cal} de la fuente de variación - regresion es mayor a 0.05, la interpretación de los resultados es que no existe relacion entre la cantidad adicionada y cantidad recuperada

Si F_{cal} de la fuente de variación - regresion es menor a 0.05 y mayor a 0.01, la interpretación de los resultados es que existe una relacion significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

Si F_{calc} de la fuente de variación - regresión es menor a 0.01, la interpretación de los resultados es que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

Si F_{calc} de la fuente de variación - falta de ajuste es mayor a 0.05, la interpretación de los resultados es que el modelo lineal representa de manera correcta la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

Si F_{calc} de la fuente de variación - falta de ajuste es menor a 0.05, la interpretación de los resultados es que el modelo lineal no representa de manera correcta cantidad adicionada y cantidad recuperada

• Correlación

Es el grado de asociación entre 2 variables dado el modelo de regresión. Se evalúa calculando la raíz cuadrada del coeficiente de determinación (r^2)

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

Exactitud al 100%

Es la concordancia existente entre un valor determinado y su valor real expresada en %

DEFINICIÓN DE μ :

Es la medida poblacional de los recobros experimentales expresada en porcentaje

Interferencia

• Límites del intervalo de confianza

$$y \pm t_{0.975, n-1} \left(\frac{y}{\sqrt{n}} \right)$$

• Prueba de hipótesis

$$H_0: \mu = \mu_n$$

$$H_1: \mu \neq \mu_n$$

Realizamos la prueba para $\mu_n = 100$, ya que en teoría si el método carece de error sistemático constante, el recobro experimental expresado en porcentaje debe ser 100.

Distribución muestral distribución t Student con n-1 grados de libertad

$$t = \frac{y' - \mu_0}{s/\sqrt{n}}$$

donde

\bar{y} = valor promedio de los datos (estimados de μ) $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$

μ_0 = valor real de parámetro.

$\frac{s}{\sqrt{n}}$ = error estándar

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

donde:

s = desviación estándar

n = número de recobros

*Estadígrafo de contraste

$$t_{C.U.} = \frac{y' - \mu_0}{s/\sqrt{n}}$$

BASE DE LA INTERPRETACION

Si $t_{CAL} < t_{0.975, n-1}$, la interpretación de resultados es que el método carece de error sistemático proporcional consistente, por lo tanto, el método es exacto al 100%

Si $t_{CAL} > t_{0.975, n-1}$ la interpretación de los resultados es que el método presenta error sistemático constante; por lo tanto, el método no es exacto al 100%

Precisión (Reproducibilidad)

Es la concordancia de un conjunto de valores experimentales respecto al valor central. Se clasifica en reproducibilidad y repetibilidad

Evaluación Inferencia estadística sobre la variabilidad de los resultados obtenidos al utilizar el método en estudio

La inferencia estadística que manejaremos se basa en un estudio de reproducibilidad interanalista e inter día - analista, por lo que el modelo hipotético que representa este caso es:

$$y_{ijk} = M + A_j + D_{kj}$$

donde:

y_{ijk} = El ensayo del principio activo de la k-esima muestra analizada por el i-ésimo analista en el j-ésimo día

M = Media poblacional del ensayo del principio activo en la muestra

A_j = Efecto del analista en el ensayo, (donde $j=1 \dots a$)

D_{kj} = Efecto del día anidado en el analista, (donde $j=1 \dots d$)

E_{KUD} = Error del método analítico (repetibilidad, donde $K=1 \dots r$)

a = número de analistas

b = número de días

r = número de ensayos

*Prueba de hipótesis

$$H_0: A = A_0$$

$$H_1: A \neq A_0$$

Realizamos la prueba para $A_0 = 0$, ya que si un método es reproducible por los analistas, no debe haber efecto por los analistas.

*Distribución muestral: distribución F con a-1 grados de libertad en el numerador y a(d-1) grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{a^2 + rrd^2 + draA^2}{af^2 + rrd^2}$$

*Estadígrafo de contraste

$$F_{c.u.} = \frac{MC^*}{MC^D}$$

*Prueba de hipótesis:

$$H_0: D = D_0$$

$$H_1: D \neq D_0$$

Realizamos la prueba para $D_0 = 0$, ya que si un método es reproducible en distintos días para un mismo analista, no debe haber efecto del analista

*Distribución muestral distribución de F con $a(d-1)$ grados de libertad en el numerador y $ad(r-1)$ grados de libertad en el denominador

$$F = \frac{aE^2 + rtd^2}{aF^2}$$

Estadígrafo de contraste:

$$F_{C.U.} = \frac{MC_U}{MC_E}$$

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADO S	F CAL
A_1	$a-1$	$\sum y_i^2 / dr - y^2 / ndr$	SC_A / GL_A	MC_A / MC_U
$D_{A\hat{n}}$	$a(d-1)$	$\sum \sum y_{ij}^2 / dr - y_i^2 / ndr$	SC_D / GL_D	MC_D / MC_U
$D_{A\hat{n}}$	$a(d-1)$	$\sum \sum y_{ij}^2 y_l^2 / dr$	SC_E / GL_E	MC_E / MC_U
$E_{K\hat{U}\hat{n}}$	$ad(r-1)$	$\sum \sum \sum y_{ijk}^2 - \sum \sum y_{ij}^2 / r$	SC_F / GL_F	

donde:

SC= Suma de cuadrados

GL= Grados de libertad

MC= Media de cuadrados

y_i = Total de ensayo del i-ésimo analista

y_{ij} = Total de ensayo de la combinación del i-esimo analista, j-esimo día.

y = Gran total de ensayo

BASE DE LA INTERPRETACIÓN

Si $F_{C:AL}$ = de la fuente de variación - A_1 es mayor de 0.05, la interpretación de resultados es que el analista no presenta efecto sobre la valoración

Si $F_{C:AL}$ = de la fuente de variación - A_1 es menor de 0.05, la interpretación de los resultados es que el analista presenta efecto sobre la valoración

Si $F_{C:UL}$ = de la fuente de variación - $D_{A:A}$ es mayor de 0.05, la interpretación de los resultados es que el día anidado en el analista no presenta efecto sobre la valoración.

Si $F_{C:UL}$ = de la fuente de variación - $D_{A:A}$ es menor de 0.05, la interpretación de los resultados es que el día anidado en el analista presenta efecto sobre la valoración

Precisión

Se calcula la repetibilidad (S_E), la reproducibilidad inter día anidado en el analista (S_D) y la reproducibilidad interanalista (S_A) con las siguientes fórmulas

$$S_E = (1.96)(MC_E)^{\frac{1}{2}}$$

$$S_D = (1.96)(MC_D - MC_E)^{\frac{1}{2}}$$

$$S_A = (1.96)(MC_A - MC_D)^{\frac{1}{2}}$$