



Universidad Austral de Chile

**Facultad de Ciencias
Escuela de Química y Farmacia**

PROFESOR PATROCINANTE: Dalton Alarcón S.
Químico Farmacéutico.

INSTITUCION: Laboratorio Bagó de Chile S.A.

PROFESOR CO-PATROCINANTE: Annemarie Nielsen S.
Químico Farmacéutico.

INSTITUCION: Universidad Austral de Chile.

Internado en Industria Farmacéutica

**Seminario de investigación: "Validación de técnica analítica por HPLC
y estudio de estabilidad acelerado para comprimidos recubiertos
de Minociclina de 50 mg y 100 mg"**

Internado presentado como parte de los
requisitos para optar al Título de
Químico Farmacéutico.

Leonardo Javier Manque Sáez

Valdivia Chile 2002

INDICE PARTE I : INTERNADO EN INDUSTRIA FARMACÉUTICA

1. RESUMEN.....	2
SUMMARY.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
MARCO TEÓRICO.....	6
OBJETIVOS GENERALES.....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES Y PROYECCIONES.....	32
6. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	35
ANEXO N° 1: ESQUEMAS.....	37
ANEXO N° 2: FIGURAS.....	38
ANEXO N° 3: TABLAS.....	39

**INDICE PARTE II : SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA “VALIDACIÓN DE
TÉCNICA ANALÍTICA POR HPLC Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADO PARA
COMPRIMIDOS RECUBIERTOS DE MINOCICLINA DE 50 MG Y 100 MG”**

1. RESUMEN.....	48
SUMMARY.....	49
2. INTRODUCCIÓN.....	50
MARCO TEÓRICO.....	52
OBJETIVOS GENERALES.....	82
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	83
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	84
4. RESULTADOS.....	102
5. DISCUSIÓN.....	107
CONCLUSIONES Y PROYECCIONES.....	111
6. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	113
ANEXO N° 1: CRITERIOS PARA ESTABILIDAD PROPUESTOS POR EL ISP.....	116
ANEXO N° 2: ESQUEMAS.....	130
ANEXO N° 3: TABLAS.....	133
ANEXO N° 4: INSTRUCTIVO CONTROL DE CALIDAD.....	165
ANEXO N° 5: ESPECIFICACIONES PRODUCTO.....	177
ANEXO N° 6: INDICE ÍNDICE DE ANÁLISIS Y ENSAYOS GENERALES.....	187
ANEXO N° 7: CROMATOGRAMAS.....	193
ANEXO N° 8: GRÁFICOS.....	197

ANEXO N° 9: EJEMPLOS DE CÁLCULO.....	198
ANEXO N° 10: HOJA DE REGISTRO DE CÁLCULOS.....	201

PARTE I

INTERNADO EN INDUSTRIA FARMACÉUTICA

1. RESUMEN

El siguiente trabajo tiene por finalidad presentar las actividades realizadas en un internado en industria farmacéutica, durante un período de 6 meses de estadía en el área de Control de Calidad de una compañía farmacéutica dedicada a la producción de medicamentos de uso humano para el mercado nacional e internacional. Laboratorio Bagó de Chile, es la oficina central de la región andina sur de la Organización Bagó (Perú, Ecuador, Bolivia y Chile); su misión es ofrecer productos y servicios de alta calidad, utilizando para ello una permanente innovación tecnológica y un respaldo científico amplio y constantemente actualizado.

El área de Control de Calidad se encarga de asegurar que las materias primas, productos en proceso, semielaborados, terminados y material de acondicionamiento, cumplan con las especificaciones señaladas para cada producto, tanto en su Registro Sanitario, como en las exigencias corporativas internas. Se preocupa además, de los estudios de estabilidad y del desarrollo y validación de nuevas técnicas analíticas.

Durante el internado, se cumplió el objetivo de conocer ampliamente las actividades propias del profesional Químico Farmacéutico en la industria farmacéutica y aplicar las destrezas y habilidades adquiridas en los cursos de pregrado en ésta área, así como profundizar en el marco legal dentro del cual deben desenvolverse los laboratorios de producción farmacéutica del país, sus procesos de producción y envasado de medicamentos, los sistemas de control de calidad adoptados y la normativa empleada por los sistemas de aseguramiento de la calidad, con el fin de que sólo alcancen el mercado los productos que cumplan con sus especificaciones de calidad.

SUMMARY.

The following work has the end of presenting the activities fulfilled in an internship in a pharmaceutical industry, for a six month period at the Quality Assurance section of a pharmaceutical company dedicated to the production of medicine for human use in the national and international market. Laboratory Bagó Chile S.A., is the central office of the southern andes region of the Bagó Organization (Peru, Ecuador, Bolivia and Chile); its mission is to offer products and services of high quality, utilizing for this permanent technology innovation and a wide scientific support constantly brought up to date.

The Quality Assurance section is in charge of assuring that the raw materials, the products in process, semielaborate, finished and materials for package fulfill the noted specifications for every product, as well in its Registro Sanitario as in the corporate and internship requirements. In addition, there is a concern for the stability studies, the development and the validation of new analytical techniques.

During the internship, the objective was fulfilled of fully knowing the activities of the Pharmacist professional developed in the pharmaceutical industry, and apply the skills and abilities aquired in this area of the courses of undergraduate; get to the bottom of the legal framework in which the laboratories must infold the pharmaceutical production in the country: this refers to the process of production and bottling of medicine, the adopted system of quality control and the regulations employed by the systems assurance of quality, with the end that only the products that fulfill the specifications of quality can reach the market.

2. INTRODUCCION

La Organización Bagó S.A. está conformada por un conjunto de sólidas compañías líderes en el área, no sólo de producción de medicamentos, sino que orientadas esencialmente al cuidado de la salud y al mejoramiento de la calidad de vida. Brinda además servicios de alta tecnología en sectores estratégicos afines a este gran campo, constituyéndose de esta forma en uno de los grupos empresariales más grandes de Argentina, con una fuerte, constante y creciente presencia en los países latinoamericanos.

Como industria farmacéutica ofrece productos de alta calidad dentro de este rubro, incluyendo en su producción la mayoría de los grupos terapéuticos de más alta demanda en nuestro país: cardiovascular, antibióticos, antiinflamatorios, medicamentos con acción sobre el sistema nervioso central, antialérgicos y fármacos orientados a terapias de las vías respiratorias (antitusivos, expectorantes y mucolíticos), entre otros, siendo estas áreas terapéuticas las de mayor relevancia y mayor volumen de venta.

Laboratorio Bagó de Chile es la unidad central de la región andina sur de la Organización Bagó, que comprende a los países de Perú, Ecuador, Bolivia y Chile.

En nuestro país, opera una planta de producción con capacidad para la fabricación de 10 millones de unidades anuales en las distintas formas farmacéuticas (líquidos, sólidos, semisólidos y polvos), lo que permite abastecer sus ventas en el mercado interno y exportar a diferentes filiales de Bagó en el exterior.

La historia de Laboratorio Bagó Chile S.A. se remonta hace 50 años, cuando se funda una filial de Laboratorio Andreu, de capitales españoles, que tras vender sus acciones en 1978 a accionistas chilenos, adopta el nombre de Laboratorio Profarma.

En 1993 Laboratorios Bagó Argentina se transforma en el accionista mayoritario de este último, naciendo así el Laboratorio Profarma-Bagó. En 1997 por razones de presencia continental se decide cambiar el nombre e imagen corporativa al de Laboratorio Bagó Chile S.A. La casa Matriz se ubica actualmente en Avenida Vicuña Mackenna 1835 en la comuna de Santiago, Chile.

Su planta farmacéutica posee instalaciones aptas para la elaboración de las distintas formas farmacéuticas tales como líquidos, polvos, sólidos y semisólidos, permitiendo la fabricación de productos para su venta tanto a nivel nacional como internacional.

Laboratorio Bagó S.A. posee cerca de 100 marcas registradas distintas, destinadas todas ellas a la venta en el mercado farmacéutico, con un total cercano a las 250 presentaciones distintas de productos farmacéuticos elaborados en la planta nacional, así como productos semielaborados externos.

A nivel organizativo Laboratorio Bagó Chile S.A. se encuentra dividido en áreas:

- Comercial.
- Planta (dividida en Producción, Planificación e Investigación y Desarrollo).
- Control de Calidad.
- Administración y Finanzas.
- Recursos Humanos.

Esta división tiene el objetivo de lograr un trabajo en conjunto, en la más estrecha coordinación de sus áreas, para obtener de esta forma, los más altos niveles de eficiencia y gestión tras la constante persecución de los primordiales objetivos de la empresa, los que se resumen en excelencia, calidad y productividad.

MARCO TEÓRICO.

Dado que en esta época, el notable avance científico ha dejado sentir su efecto sobre la industria farmacéutica, un laboratorio de producción ha de poner énfasis en el mejoramiento de los sistemas utilizados, para así ocupar el segmento vital en el ciclo del cuidado de la salud que le corresponde, conduciendo la investigación y manufactura de productos que son capaces de restablecer y mantener la vida (Broadhead, Daniel, 1989; Erskine, 1990).

Cabe destacar que la consolidación de la industria farmacéutica se produjo en la década de 1950, con la creación de los métodos de análisis espectroscópicos, espectrofotométricos, electroanalíticos y cromatográficos, así como con el mejor entendimiento de los mecanismos básicos de reacción (Ramírez, 2000).

Estos avances científicos hicieron que se desarrollaran métodos de control químicos, físicos y microbiológicos más específicos, sensibles, exactos, precisos, reproducibles y eficientes, los que fueron adoptados por las empresas del rubro, permitiendo la creación de departamentos de evaluación de fármacos y de sistemas para la detección de errores (Ramírez, 2000).

El internado en industria farmacéutica se llevó a cabo específicamente en el área de Control de Calidad, cuya labor y misión es garantizar la calidad de los productos elaborados en el área de Producción de Laboratorio Bagó Chile S.A., además de los productos adquiridos a terceros. Esto se logra con un acabado y completo proceso de control de las materias primas, material de envase, productos semielaborados, productos semielaborados externos y productos terminados, valiéndose para este fin de métodos de ensayos vigentes, validados y constantemente actualizados, dando cumplimiento a las especificaciones requeridas por las Farmacopeas de EE.UU. (USP), Británica (BP), Europea (EP), Japonesa (JP) y especificaciones internas, según corresponda.

En nuestro medio el registro, importación, producción, almacenamiento, tenencia, expendio o distribución a cualquier título de productos farmacéuticos, se rige por las disposiciones contenidas en el Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos, Alimentos de Uso Médico y Cosméticos, Decreto Supremo (D.S.) 1876/1995. A través de él, la autoridad de salud define los laboratorios de producción como: “Todo establecimiento en el que se efectúa la elaboración o importación, fraccionamiento y envasado de productos farmacéuticos, los cuales deberán ser previamente autorizados por el Instituto de Salud Pública (ISP) para su instalación...”. Se establece de esta forma que la planta física de un laboratorio de producción debe considerar al menos áreas de almacenamiento; áreas de fabricación; áreas de envase – empaque; laboratorios de análisis del departamento de control de calidad; departamento de mantención; oficinas de los departamentos de producción y de control de calidad; baños, vestuarios y áreas sociales (casinos, deportes, salas cunas). Además, establece que deben existir áreas separadas y específicamente definidas para realizar la recepción y cuarentena de los materiales antes de su aprobación por parte de la unidad de control de calidad; el almacenamiento de materiales aprobados por la unidad de control de calidad; el almacenamiento de materiales rechazados por parte de la unidad de control de calidad; el almacenamiento de productos en proceso; el almacenamiento de sustancias inflamables o que presenten riesgo de explosión, sean tóxicas, corrosivas o contaminantes; la fabricación y procesamiento de productos; el envasado, empaque y etiquetado de productos; el almacenamiento en cuarentena de productos terminados pendientes de aprobación por la unidad de control de calidad; el almacenamiento de productos terminados aprobados por la unidad de control de calidad; el control analítico de medicamentos y la fabricación de productos estériles (Bacigalupe *et al.*, D.S. 1876/1995).

Dada la importancia de los medicamentos, la autoridad de salud determinó que los laboratorios farmacéuticos deben cumplir las normas y especificaciones de fabricación contenidas en las Buenas Prácticas de Manufactura / Good Manufacturing Practices (BPM/GMP) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), adoptadas por resolución por el Ministerio de Salud de Chile (D.S. 1876/1995). Esto significa que en el diseño o remodelación de la planta física de un laboratorio de producción farmacéutica, debe intervenir un equipo multidisciplinario de profesionales, de tal forma que las instalaciones sean de tamaño apropiado para las operaciones que se realizarán en ella. Estas deben permitir un flujo adecuado de personal y materiales en su interior, una fácil limpieza y sanitización de pisos, paredes y cielos, debiendo impedir la introducción de insectos, roedores, aves y otros animales.

Las áreas del laboratorio deben estar estructuradas, equipadas y habilitadas de forma de impedir la contaminación (contaminación cruzada en el área de producción por ejemplo), estando las áreas de pesaje y de almacenamiento separadas del resto, permitiendo respectivamente el pesaje y almacenamiento ordenado de materiales y productos de diversas categorías, debiendo estar limpias y secas, mantenidas a temperaturas aceptables y con buena iluminación (Bacigalupe *et al.*, 1977; OMS, 1992; Willig *et al.*, 1982).

Cada persona involucrada en la manufactura, procesamiento, envasado o almacenamiento de un producto farmacéutico, debe tener la formación, entrenamiento y experiencia suficiente que le permita ejecutar la función que le fue asignada. Junto con esto, el fabricante debe contar con suficiente personal calificado, el cual debe comprender claramente sus responsabilidades (determinadas por escrito) debiendo conocer además, los principios básicos de la Buenas Prácticas de Manufactura que les incumben (OMS, 1992; Willig *et al.*, 1982).

Por lo tanto, los especialistas farmacéuticos encargados de dirigir la producción y el control de los medicamentos deben poseer los conocimientos científicos y técnicos, así como la experiencia adecuada, que les permita manejar un criterio profesional independiente, basado en la aplicación de principios científicos a los problemas prácticos que se planteen en la fabricación y el control de la calidad (Bacigalupe *et al.*, 1977; OMS 1992).

En Chile, el profesional que reúne estas características es el Químico Farmacéutico, quien además debe cumplir con la legislación vigente.

La autoridad sanitaria también establece que todo fabricante de productos farmacéuticos debe adoptar un sistema de control de calidad que certifique el cumplimiento de las especificaciones de producción, tanto de las materias primas como de los productos terminados. El sistema de control de calidad de los laboratorios de producción debe desarrollarse conforme a la noción de seguridad integrada, entendiendo por tal al conjunto de normas y procedimientos planificados y sistematizados necesarios para garantizar la calidad del producto terminado. Estos laboratorios deben adoptar además, las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), según su línea de actividad, siendo el jefe de esta unidad el encargado de responder por las actividades inherentes al sistema de control de calidad adoptado (D.S. 1876/1995).

Es de esta forma, como en Laboratorio Bagó Chile S.A. existe el área de Control de Calidad, la que se divide en tres áreas técnicas: área de materias primas, área de producto terminado y área de desarrollo analítico. Estas tres secciones se encuentran bajo las responsabilidades de los jefes de unidades técnicas o jefe de materias primas, jefe de producto terminado, y jefe de desarrollo analítico respectivamente (Anexo N° 1, Esquema 1). Ellos tienen la responsabilidad, autoridad y capacidad de verificar los análisis llevados a cabo según los métodos analíticos y los procedimientos de operación estándar vigentes. De esta forma se asegura

el cumplimiento de los niveles establecidos de calidad, integridad y confiabilidad de los resultados obtenidos.

Además, a esto se suman las actividades de planificación y coordinación de los análisis, preparación, interpretación, revisión y autorización de los informes finales que liberan las materias primas, material de acondicionamiento, producto en proceso y producto terminado según corresponda.

Durante el desarrollo de este internado, se participó activamente en todos los procesos que se llevan a cabo al interior de un área de Control de Calidad, de manera de lograr el objetivo de aplicar y profundizar conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera de Química y Farmacia. De igual forma permitió ,a través de un trabajo en terreno, compenetrarse con la realidad del área productora de medicamentos en nuestro país y por medio de esta actividad, conocer en forma práctica las distintas funciones y actividades que realiza el profesional Químico Farmacéutico dentro de esta área laboral específica (Industria Farmacéutica).

El internado en industria farmacéutica contempló como labor simultánea, el desarrollo de un seminario de investigación científica, el cual se determinó y proyectó de mutuo acuerdo entre el laboratorio y el alumno, basándose para ello en las necesidades reales de la industria donde se desarrolló este seminario. Éste abarcó el diseño, el desarrollo y la validación de una técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la ejecución de un estudio de estabilidad acelerada en comprimidos de minociclina de 50mg y 100mg, producto que el laboratorio desea lanzar al mercado nacional e internacional en un futuro próximo.

OBJETIVOS GENERALES.

Al desarrollar el internado en una industria farmacéutica se persiguen los siguientes objetivos generales:

- a) Conocer el funcionamiento de una industria de producción farmacéutica en nuestro país, interiorizándose acerca de las diferentes áreas y secciones que la componen.
- b) Aplicar y profundizar los conocimientos y destrezas adquiridos a lo largo de los cursos de pregrado de la carrera de Química y Farmacia, a través de la participación real y activa en los procesos propios que se desarrollan en una industria farmacéutica, tanto en los aspectos productivos como los de control de su producción.
- c) Permitir al alumno desarrollarse “en terreno” en un campo laboral profesional, asumiendo funciones, tareas y responsabilidades asignadas, adquiriendo conocimientos sobre el desempeño, rol y responsabilidades del Químico Farmacéutico en el área de Control de Calidad de una industria farmacéutica.
- d) Desarrollar un seminario de investigación científica que permita al alumno abordar una determinada temática profesional que sea de interés tanto para él, como para el área de la industria farmacéutica en que se realiza el trabajo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- a) Identificar y conocer las diferentes actividades desarrolladas en el área de Control de Calidad.
- b) Conocer la estructura organizacional, instalaciones de un laboratorio de producción farmacéutica, así como el rol , funciones y método de trabajo del personal dentro de sus áreas, específicamente la de Control de Calidad, logrando así participar y colaborar en las actividades de ésta.
- c) Profundizar y actualizar los conocimientos referentes a las normas, métodos y técnicas aplicables al análisis de materias primas, materiales de envase, productos y el manejo de equipos propios de la industria farmacéutica, tales como:
 - Las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).
 - Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
 - Control de formas farmacéuticas.
 - Estudios de estabilidad de medicamentos.
- d) Revisión de la documentación existente en el laboratorio relacionada con los procedimientos y técnicas que se utilizan en el control de calidad de muestras.
- e) Entrenamiento en la preparación y manejo adecuado de muestras de uso analítico, así como del equipamiento existente al interior del laboratorio de Control de Calidad, tanto

material como espacios físicos, flujos de personal, lugares de almacenamiento y manejo de reactivos y equipos, con especial atención en el equipo HPLC con detector con arreglo de diodos.

- f) Profundizar en el conocimiento acerca de los pasos que se siguen para desarrollar una técnica analítica para determinar un principio activo, aplicando parámetros de desempeño sugeridos por fuentes bibliográficas confiables, así como su certificación y validación, aplicando consideraciones científicas y técnicas.

3. MATERIALES Y METODOS

MATERIALES.

La realización del internado en industria farmacéutica se basó primordialmente en una estadía dentro del área de Control de Calidad, cuya distribución física se encuentra representada en el Anexo N° 2, Figura 1; de la misma manera se explica cuales son las secciones dentro del laboratorio de control de calidad y que son de uso común para las 3 sub-áreas y la ubicación de materiales y equipos así como un listado de éstos (Anexo N° 3, Tabla 1).

Con respecto al material escrito revisado y estudiado durante la permanencia al interior del laboratorio de Control de Calidad se encuentran:

A) MATERIAL EXTERNO.

Corresponde a la documentación de origen externo a Laboratorio Bagó, pero que se aplican al desarrollo de los procesos del área de Control de Calidad, entre éstos se encuentran textos de literatura técnica, textos de información farmacológica, toxicológica, las monografías de principios activos y de los excipientes de uso en la industria farmacéutica, documentos legales, las normativas vigentes en el país y las diversas normas internacionales.

B) MATERIAL INTERNO.

Corresponde a material desarrollado a través del tiempo por el área de control de calidad del laboratorio y que está sometido a un constante proceso de actualización y validación.

Incluye:

- Maestro de documentación de control de calidad.
- Procedimientos e instructivos del área de Control de Calidad. Que abarca todos los procedimientos operativos estándar (P.O.S.) de análisis, como también el manejo y mantención de equipos.
- Sistema computacional de almacenamiento de documentación en red.

MÉTODOS.

La metodología empleada para alcanzar los objetivos planteados consistió en una estadía permanente en el área de Control de Calidad, realizando visitas de conocimiento al área de Producción, acompañado de los inspectores en proceso, que son parte del personal de Control de Calidad.

Dentro del área de estadía permanente, se desarrolló la siguiente metodología para cumplir con las actividades asignadas:

A) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Esta primera etapa contempló el conocimiento de la documentación general existente acerca de la organización de un laboratorio farmacéutico de producción a gran escala, como es el caso de Laboratorio Bagó Chile S.A.; de los procesos involucrados en la fabricación y envasado de medicamentos, así como la organización funcional de éste en áreas separadas e interactivas

entre sí; cada una con sus funciones especificadas, sus campos de acción y responsabilidades claramente definidas, así como las del personal que en cada una de ellas se desempeña; tanto de los que están a cargo de dirigir como de sus subalternos. Con respecto a este punto, al interior del área de Control de Calidad se analizaron las responsabilidades de cada una de las tres áreas técnicas y los procesos que en ellas se realizan y su alcance. Se analizó también la importancia estratégica que tiene el organizar un área de esta forma, con el fin de alcanzar un mejor dinamismo que la ayude a lograr de mejor manera sus importantes objetivos al interior de la industria.

Posterior a esto se desarrolló una revisión de la documentación existente dentro del área de Control de Calidad, la cual está formada por procedimientos, instructivos y formularios que permiten conocer cada uno de los procesos llevados a cabo; las responsabilidades y el historial, a partir del análisis de los registros, destacando que este material está en un proceso de continua revisión y actualización de la información disponible. Se trabajó con textos oficiales como las Farmacopeas USP 23 y 24, BP, EP y JP y con textos específicos acerca de técnicas analíticas usadas en la actualidad por el laboratorio de control de calidad, principalmente sobre cromatografía líquida de alta resolución, además de espectroscopia UV , infrarroja, entre otras.

Se conocieron las normativas vigentes en el país, como es el caso del Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos de Uso Médico y Cosmético, D.S. 1876/1995. En éste se establece que los laboratorios de producción deben dar cumplimiento especialmente a lo dispuesto en el Título VII, asumiendo las responsabilidades en lo pertinente tanto en las Buenas Prácticas de Manufactura como en las Buenas Prácticas de Laboratorio propuestas por la Organización Mundial de la Salud y de cuyos acuerdos Chile es parte.

Finalmente se estudiaron textos de interés para el desarrollo específico del trabajo central, seminario de investigación científica relacionados a técnicas analíticas por HPLC, textos de validación de métodos analíticos, Buenas Prácticas de Laboratorio, reglamentaciones de seguridad interna y todo tipo de documentación afín: manuales de seguridad, guías de procedimientos internos, procedimientos operativos estándar (P.O.S.), entre otros.

B) ESTADÍA EN EL ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD.

Esta estadía abarcó la mayor parte del período del internado, aproximadamente de 20 semanas y fue dedicada a conocer amplia y cabalmente las funciones y procesos involucrados en el área de Control de Calidad; actividades presentadas en el Anexo N° 3, Tabla 2.

El área en que se realizó la estadía del internado en industria farmacéutica está organizada en tres sub-áreas técnicas que son: área de materias primas, área de producto terminado y área de desarrollo analítico. Las tres, en forma conjunta, complementaria y coordinada desarrollan los procesos de muestreo, análisis y liberación de materias primas, productos en proceso, productos semielaborados, producto terminado y material de envase y acondicionamiento, estudios de estabilidad (tanto de estantería como acelerados), validación y desarrollo de nuevas técnicas analíticas.

Su autoridad máxima se encuentra representada por el jefe del área de Control de Calidad, quien asume la función de director del laboratorio de Control de Calidad, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Sanitario y cuyas responsabilidades son velar por el cumplimiento de los requerimientos de las pautas sobre Buenas Practicas de Laboratorio. Además, es el responsable de que se apliquen los métodos de control y análisis de materias primas y productos en proceso y terminado de acuerdo a los P.O.S. de análisis aprobados en el Registro Sanitario y

de la liberación de los productos para su comercialización, siendo éste un requisito indispensable de cumplir una vez aprobado el registro de una forma farmacéutica por la autoridad sanitaria del país, en este caso, el Instituto de Salud Pública (ISP). La no aplicación de este requisito significa arriesgarse, no sólo a una sanción por parte del organismo regulador y la no salida a la venta de un producto determinado, lo cual implica pérdidas económicas a la empresa; sino que, y peor aún, un posible daño a la salud de los pacientes consumidores del producto en cuestión, al no asegurarse de manera efectiva, por parte del laboratorio productor, de la buena calidad del medicamento entregado.

Durante todo el período de internado se conocieron las funciones de cada sección del área a través de una participación directa y activa, asumiendo labores propias dentro de ella y ejecutando diversos procedimientos analíticos rutinarios, dentro del normal funcionamiento del laboratorio de Control de Calidad.

A continuación se describe cada sección y se detallan las actividades más importantes realizadas en ellas:

B.1) ESTADÍA EN EL ÁREA DE MATERIAS PRIMAS.

Esta área se encuentra bajo la responsabilidad del jefe de materias primas, quién tiene que verificar la correcta ejecución de las actividades de muestreo y ejecución de los análisis llevados a cabo por los analistas de materias primas, de manera de asegurar que éstas cumplan con las especificaciones internas establecidas por Laboratorio Bagó Chile S.A., o bien, las establecidas en el Registro Sanitario, siendo el objetivo de esta jefatura asegurar que las especificaciones se cumplan. Posterior a esto, es función del jefe de materias primas comparar los resultados obtenidos por los analistas con las especificaciones existentes para materias primas y según

corresponda, se aprueba o rechaza la materia prima en evaluación. De esta forma, si la materia prima es aprobada, el jefe del área emite un certificado de análisis con la condición de ‘aprobado’ y se ingresa esta información a la red de información interna del laboratorio. Una vez aprobada, ésta es liberada para su posterior uso en la fabricación de medicamentos; de otro modo, si la materia prima es rechazada se emite un certificado con la condición de ‘rechazado’ y se da aviso al área de adquisiciones, donde se coordinará la acción a seguir (devolución, reposición o cambio de proveedores).

En esta área se desarrollaron variadas actividades, entre ellas el análisis de materias primas, participando en los análisis de diversos principios activos recibidos de los distintos proveedores del laboratorio, los que entran en un período de cuarentena hasta ser aprobados por el laboratorio de Control de Calidad para su uso en la producción de medicamentos. Entre los productos analizados con mayor frecuencia están: paracetamol, ibuprofeno, diclofenaco sódico, cafeína, pseudoefedrina, ergotamina etc., los que se muestrean por los analistas encargados del área de materias primas y que se rigen por los P.O.S. existentes para este fin. Los principales análisis efectuados para ellos son: test de identidad, cromatografía en capa fina, espectroscopia IR, test de humedad (Karl Fisher), test de impurezas, potencia de los estándares, pureza y presencia de metales pesados. De este mismo modo, se analizaron otros productos utilizados en la fabricación de medicamentos, tales como excipientes, participando en análisis realizados a preservantes (metilparabeno, propilparabeno), almidón, aerosil, kollidon, estearato de magnesio, colorantes y saborizantes varios. Asimismo, se conocieron los métodos aplicados en la valoración de estándares secundarios a partir de estándares primarios, verificando la potencia de éstos y se revisaron los registros que quedan por escrito de los análisis realizados, con su número de

análisis, nombre del analista, fecha de análisis, quedando toda la información registrada en cuadernos foliados.

B.2) ESTADÍA EN EL ÁREA DE PRODUCTO.

El área de producto se encuentra bajo la responsabilidad del jefe de producto, quien planifica y verifica la correcta ejecución de la toma de muestras y análisis de los productos semielaborados, material de acondicionamiento, así como de los controles realizados tanto en los proceso de compresión y laqueado, como en los de muestreo e inspección del producto terminado; de la misma forma es responsabilidad suya el análisis de productos semielaborados de origen externo al laboratorio.

Bajo su responsabilidad se encuentran inspectores de línea, quienes realizan el muestreo de los productos elaborados y semielaborados tanto internos como externos; inspectores de proceso que son responsables de realizar el muestreo y control de los procesos de compresión y recubrimiento de acuerdo a los métodos de ensayo y muestreo vigentes; e inspectores de envase quienes son responsables de la actividad de muestreo y análisis del material de acondicionamiento, tal como se indica en el instructivo (P.O.S.) correspondiente.

Los inspectores de línea además realizan los controles del proceso de acondicionamiento, que incluye a los procesos de envasado (envase primario, en contacto directo con la forma farmacéutica, por ejemplo: blister o frasco PET) y estuchado (envase secundario, sin contacto directo con la forma farmacéutica, generalmente estuche de cartón). Esta actividad se desarrolla rigiéndose por los P.O.S. instructivos de envasado de cápsulas, cremas y pomadas, polvos, supositorios, líquidos, blisteado y estuchado existentes.

Luego de realizar los controles del proceso de estuchado, el inspector de línea procede al muestreo e inspección del producto terminado y el jefe de producto aprueba o rechaza el producto en evaluación emitiendo un certificado de análisis, para luego ser liberado por el jefe de Control de Calidad.

En ésta área se desarrollaron las siguientes actividades:

- Análisis de productos en proceso y producto terminado, básicamente siguiendo los P.O.S. de análisis para constatar que los lotes en producción y producidos cumplan las especificaciones establecidas en su monografía interna o externa para ser aprobado y su posterior envasado, empacado y salida a la venta.
- Se realizaron test de identidad (paracetamol), uniformidad de contenido (dantrona, alprazolam, pseudoefedrina, ergotamina, cafeína, diclofenaco sódico, ibuprofeno, cetirizina), test de disolución (alprazolam, paracetamol, diclofenaco sódico, ibuprofeno), cinéticas de disolución; siendo las metodologías más aplicadas para determinar estos valores, el HPLC y la espectroscopía UV. Se ejecutaron análisis de material de envase y empaque, se realizó el análisis de planchas de plástico y envases PET, preparando las muestras y analizándolas por espectroscopía UV, para constatar que sus niveles de transmitancia no sean superior al 10% establecido como especificación para la aprobación del uso de este material.
- Se realizaron test de productos en proceso y terminados, como test de dureza y test de desintegración de comprimidos de: paracetamol, nastizol®, migranol®, talflex®, alprazolam, remitex®, etc).

B.3) ESTADIA EN EL AREA DE DESARROLLO E INVESTIGACIÓN.

Área dónde se desarrollan las siguientes actividades:

B.3.1) Validación de Métodos Analíticos: Un método analítico es el conjunto de operaciones para efectuar un análisis concreto y su validación corresponde al proceso mediante el cual se establece que las características de desempeño del método, cumplen con los requerimientos para las aplicaciones analíticas deseadas.

Se ejecuta una validación cada vez que un producto entra a estudios de estabilidad acelerada, cuando es necesario modificar una metodología analítica existente de acuerdo a los criterios de revalidación o cuando es necesario validar un método analítico que no ha sido validado.

Para el desarrollo del método analítico, el analista de desarrollo recopila información relativa al análisis en fuentes tales como Farmacopeas, publicaciones técnicas del proveedor, literatura especializada, monografías de productos, etc.

Al comienzo de un proceso de validación analítica, el analista realiza los ensayos cromatográficos, efectuando pruebas con distintas columnas y fases móviles, para definir las condiciones de operación y selecciona inicialmente un método analítico apto para el producto en estudio y que puede ir sufriendo modificaciones durante el transcurso de la validación.

Para la validación del método analítico en la técnica escogida, en este caso HPLC, se desarrollan las actividades indicadas en el instructivo “Validación de un Método Analítico por HPLC”, que indica los parámetros que son necesario cumplir y que son requerimientos fundamentales para obtener una técnica analítica validada, ellos son:

- Confirmación de la identidad del estándar y de la muestra.

- Selectividad: Frente al medio de disolución (blanco), componentes de la matriz y a potenciales productos de degradación presentes.
- Linealidad: para muestras y análisis.
- Exactitud: para muestras y análisis.
- Precisión: para muestras y análisis.
- Estabilidad: de las muestras y estándares.
- Desarrollo de la documentación.
- Criterios de aceptación y rechazo.

El jefe de Control de Calidad aprueba el Informe de resultados de la validación y la descripción del método de análisis para continuar con la evaluación de la estabilidad acelerada del producto en cuestión.

Si los resultados de la validación del método analítico son insatisfactorios, se detiene la validación y se redefine la metodología analítica.

B.3.2) Estudios de Estabilidad en Estantería (EEE): El EEE (o a tiempo real) se define como un estudio diseñado con el objetivo de conocer los cambios químicos y físicos de un producto farmacéutico utilizando para ello condiciones de almacenamiento determinadas.

Nuestro país se clasifica de acuerdo a la USP 24 como zona climática tipo II, mediterránea o subtropical, basándose para esta clasificación en las temperaturas y humedades relativas promedio registradas, tanto interiores como exteriores (Internet, 02)¹.

¹ <http://www.usp.org>

El jefe de Control de Calidad es responsable de realizar el seguimiento, control y correcta ejecución de los estudios de estabilidad en estantería, así como de analizar los resultados obtenidos y determinar o estimar a través de éstos conclusiones y proyecciones acerca del período de vida útil del producto farmacéutico en estudio.

Los analistas del área de desarrollo analítico son responsables de ejecutar los análisis correspondientes a cada producto elaborado por el laboratorio, de acuerdo al instructivo “Realización de Estudio de Estabilidad en Estantería”, que indica cantidad de muestras a almacenar, métodos analíticos aplicados, número de muestras por análisis y la frecuencia para realizar los estudios. Los análisis se basan en el “Programa de Estudios de Estabilidad en Estantería” entregado y actualizado por el jefe de Control de Calidad, en el cual se especifica el nombre del producto y la ubicación de las muestras (lugar de almacenamiento).

Los resultados obtenidos en estos estudios son recopilados e informados al jefe de Control de Calidad, quien observa si éstos muestran cambios significativos que pudieran indicar que el producto está fuera de sus especificaciones oficiales registradas ante la autoridad sanitaria, caso en el cual se informa al Director Técnico, quien en caso necesario pedirá la modificación de la especificación aprobada en el Registro Sanitario.

B.3.3) Estudios Estabilidad Acelerada (EEA): Los EEA son estudios analíticos diseñados con el objetivo de incrementar la cinética de degradación de un principio activo o los cambios físicos de un producto farmacéutico, utilizando para este fin condiciones de almacenamiento exageradas, simuladas con el objeto de conocer la estabilidad del principio activo o producto frente a dichas condiciones. El objetivo principal de estos estudios es pronosticar en forma lo más cercana posible a la realidad, el tiempo de vida útil de la formulación en estudio.

El jefe de Control de Calidad es responsable de realizar el seguimiento, control y proyección de los EEA.

Los analistas de desarrollo analítico son responsables de realizar los análisis correspondientes a cada nuevo producto, de acuerdo a los parámetros de análisis establecidos (estudios de prueba) y a lo indicado en el instructivo correspondiente (P.O.S.). Todo producto nuevo debe ser sometido a un EEA como requisito básico para la obtención de un registro sanitario, o bien, cada vez que se realice una modificación sobre la fórmula original, de acuerdo a lo establecido en la norma de la autoridad sanitaria del país.

Para realizar los estudios de estabilidad acelerada, el jefe de Control de Calidad almacena muestras del producto sometido a estudio a 40° C, 45° C y 50° C por 3 meses y 40° C con un 75% de humedad relativa y 45° C con un 90% de humedad relativa por tres meses en su envase primario, en estufa habilitada para estos estudios.

El analista de desarrollo analítico realiza los análisis de los productos en estudio de estabilidad indicados en el formulario “Protocolo de Inicio de Estudios de Estabilidad”, que es un procedimiento operativo estándar que detalla paso a paso los análisis que se deben efectuar para la realización de un estudio de estabilidad acelerada para formas farmacéuticas.

Estos estudios están debidamente programados y esquematizados y la duración aproximada de los análisis es de tres meses; la programación esta hecha por períodos anuales, incluyendo fecha de inicio y término del estudio. Una vez obtenidos los resultados informa de estos al jefe de Control de Calidad, quién procede a su interpretación.

Si los resultados del estudio de estabilidad acelerado no permiten concluir un vencimiento mayor a 2 años, el jefe de Control de Calidad informa al Gerente General, Sub-Gerente de

Investigación y Desarrollo y al Director Técnico, la inestabilidad del producto en cuestión. Si los resultados son satisfactorios elabora los siguientes documentos para el Director Técnico:

- Especificaciones de Producto Terminado.
- Métodos de análisis para Producto Terminado.
- Informe de Validación y Estudios de Estabilidad Acelerado.

Durante la estadía en esta área del laboratorio de Control de Calidad, se procedió a la ejecución de la validación del método analítico por HPLC para la determinación de minociclina en comprimidos recubiertos de 50mg y 100mg. Se participó en la validación del método analítico por HPLC para la determinación de terbinafina en crema y se iniciaron dos nuevas validaciones para la determinación por HPLC de los principios activos mupirocina y mometasona, que fueron completados posteriormente por los analistas del área.

4. RESULTADOS

El internado en industria farmacéutica tuvo como resultado el desarrollo de destrezas y habilidades para la contribución a la actividad propia dentro de una industria farmacéutica y su labor de fomento, prevención, tratamiento y rehabilitación de la salud; logrando esto a través de la aplicación de los conocimientos adquiridos durante los años de formación académica. Se logró conocer la organización en una industria farmacéutica nacional, sus diferentes áreas y procesos involucrados en cada una de ellas y se amplió el conocimiento acerca de la funciones y procesos involucrados en el área de Control de Calidad, participando en las diferentes actividades desarrolladas dentro del área, obteniendo una visión más amplia de su gran importancia dentro de toda industria farmacéutica.

Las actividades desarrolladas al interior del área fueron las siguientes y se resumen en las tablas correspondientes:

- Materias primas: actividades de análisis químico (Anexo N° 3, Tabla 3).
- Producto: controles en proceso; actividades de análisis químico (Anexo N° 3, Tabla 4).
- Desarrollo analítico: planificación de actividades tales como muestreo y análisis, toma de muestras; actividades de análisis químico (Anexo N° 3, Tabla 5); estudios de estabilidad de estantería y estabilidad acelerada.

Además, durante la estadía global dentro del laboratorio farmacéutico, se conocieron las distintas etapas a las que debe someterse un nuevo producto farmacéutico, para lograr la aprobación de su salida al mercado nacional y la reglamentación básica que estos productos deben cumplir para este fin. Asimismo, las normas que al respecto rigen en nuestro país y que son dictadas por la autoridad sanitaria (ISP).

Se conocieron las actividades y etapas a desarrollar durante el proceso de validación de un método analítico. Se manejaron equipos de ensayo analítico y se obtuvo una amplia experiencia con las técnicas de análisis que se desarrollan habitualmente con ellos.

Finalmente se trabajó de acuerdo a las normativas legales que rigen a un laboratorio farmacéutico en el campo nacional, destacando un mayor acercamiento a las Buenas Prácticas de Laboratorio y su constante proceso de mejoramiento y actualización para estar al nivel de la alta calidad exigida para los productos elaborados por el laboratorio.

5. DISCUSION

Durante la estadía en el internado en industria farmacéutica se vio el importante rol que desarrolla el Químico Farmacéutico al interior de ésta, al ser el único profesional capacitado para desarrollar las labores propias de esta área, es así que este campo profesional presenta una enormidad de desafíos al futuro profesional. Las responsabilidades que abarca el trabajo en industria farmacéutica son de vital importancia en el proceso del cuidado global de la salud, ya que sobre los fármacos elaborados por ésta, recae gran parte del desarrollo de una buena terapia segura, eficaz y que cumpla con los objetivos terapéuticos trazados desde la formulación de un producto. Es en este territorio entonces, donde el Químico Farmacéutico tiene que hacer uso de todos los conocimientos adquiridos a lo largo del estudio de la carrera, demostrando día a día el hecho de ser el profesional mejor capacitado para cumplir este rol en forma cabal y responsable, agregando a esta labor el conocimiento científico y su formación ética puesta al servicio del cuidado integral de la salud.

Asimismo, dentro de la industria farmacéutica es de vital importancia contar con el personal adecuado, en términos de instrucción en el manejo de equipos, materiales y de métodos analíticos; que estén fuertemente motivados para cumplir su labor en la empresa y que sientan que los logros de ésta son logros de un equipo en el cual todos aportan de manera importante a la obtención de resultados de excelencia; los analistas deben estar constantemente siendo capacitados de manera de lograr que manejen la última información con respecto a los procedimientos que realizan y así sean capaces de seguir procedimientos operativos estándar de manera apropiada, minimizando la cantidad de errores posibles por esta causa.

La industria farmacéutica es responsable de la calidad de los productos que fabrica, para lo cual debe contar con instalaciones apropiadas y un departamento de control de la calidad, para

asegurar que los medicamentos producidos sean apropiados para el uso previsto, además de cumplir con las especificaciones autorizadas por la autoridad sanitaria (Instituto de Salud Pública).

Los departamentos de Control de Calidad, a través de su recurso humano, pasan a transformarse en el ente regulador que se encarga de asegurar que las materias primas, productos en proceso, semielaborados, terminados y material de acondicionamiento cumplan con las especificaciones de calidad señaladas en el registro sanitario presentado al Instituto de Salud Pública y/o Farmacopeas oficiales.

El conocimiento de las actividades involucradas en el área de Control de Calidad ha permitido poner en práctica los conocimientos adquiridos durante toda la carrera de Química y Farmacia, enfocando las actividades de internado hacia las de control de productos farmacéuticos.

El conocimiento y la experiencia adquiridos en esta área, nos permite el desarrollo a futuro como profesionales de la industria farmacéutica, otorgando un mayor conocimiento en cuanto a técnicas analíticas, manejo de equipos y de documentación.

Por otro lado, el seminario desarrollado durante el internado permitió conocer un tema específico de interés tanto para el alumno como para el área de Control de Calidad del laboratorio, el cual se enfocó en la evidencia de que toda preparación farmacéutica, aún cuando esté correctamente fabricada, puede sufrir alteraciones físicas y químicas a través del tiempo; de esta manera los laboratorios farmacéuticos para poder comercializar un nuevo producto deben realizar una serie de estudios, pruebas y ensayos con el fin de obtener la autorización y registro por parte de ISP. Es por esto que los estudios de estabilidad acelerada son tan importantes ya que ellos entregan información vital en lo que a duración y condiciones de almacenamiento se refiere

para un producto farmacéutico. Ello nos llevó a desarrollar un estudio de estabilidad acelerado para el producto comprimidos recubiertos de minociclina de 50mg y 100mg, de manera de conocer en forma aproximada el período de vida útil para ambas formulaciones nuevas, que Laboratorio Bagó Chile S.A. desea sacar al mercado nacional el los próximos meses, durante el transcurso del año 2002.

CONCLUSIONES Y PROYECCIONES.

- Este trabajo aborda la problemática de un internado en una industria farmacéutica nacional en el área de control de calidad. Esto implicó profundizar en el marco legal dentro del cual deben desenvolverse los laboratorios de producción farmacéutica en el país, en los procesos de producción y envasado de medicamentos, en el sistema de control de calidad adoptado y en la normativa empleada por los sistemas de aseguramiento de la calidad, con el fin de que alcancen el mercado sólo los productos que cumplan con sus especificaciones de calidad.

- Para el estudiante egresado de Química y Farmacia, realizar el internado al interior de una industria farmacéutica es una experiencia única, que logra proyectar en el futuro profesional una visión mucho más completa de lo que es el trabajo en la industria nacional de producción de medicamentos; es sin duda una experiencia enriquecedora y que puede ser de mutuo beneficio tanto para el alumno, como para la industria en cuestión, ya que interactuando a este nivel es como se logra obtener visiones más amplias de campos alejados entre sí, en este caso el formativo académico y el industrial.

- Dado que el principal objetivo de la industria farmacéutica en general es abastecer a la población de medicamentos seguros y eficaces, es tarea obligada de ésta la implementación de todas las medidas necesarias destinadas a cumplir este objetivo de acuerdo a las exigencias actuales establecidas tanto por la autoridad de salud, como por los propios productores de medicamentos; tarea que abarca aspectos que van desde la organización, instalaciones, equipos, personal, hasta la documentación y secuencias de trabajo.

- En el trabajo realizado dentro de un laboratorio de producción farmacéutica y más específicamente, dentro de su área de Control de Calidad, se pudo tener un acercamiento a las instalaciones de una industria donde se realizan los procesos de manufactura, importación, almacenamiento, fraccionado, envasado y control de productos farmacéuticos, además de la extensa documentación empleada a lo largo de los mismos. También se llegó a conocer el rol y funciones del personal y de los distintos niveles jerárquicos de la organización, dando cuenta de que una estructura bien organizada es el motor primordial para el buen funcionamiento de cualquier empresa y para el correcto y oportuno desarrollo de las actividades de ésta; de la misma forma en que de un buen nivel técnico y profesionalismo del personal, especialmente en lo que se refiere a operarios y analistas, depende el éxito de los procesos de producción y control.

- Se pudo manejar equipos e instrumentos empleados en los procedimientos de control de la calidad de medicamentos terminados y productos en proceso, obteniendo una valiosa destreza y práctica tanto en su operación como en la interpretación de los resultados que éstos arrojan, se observaron los flujos de personal y materiales y su manejo al interior del área de Control de Calidad.

- El internado también permitió conocer el proceso de modernización y aplicación de un Sistema de Aseguramiento de la Calidad al interior del laboratorio, que utiliza las Buenas Prácticas de Manufactura para este fin, y por último, permitió profundizar en la normativa que establece la autoridad de salud para reglamentar y estandarizar los diferentes aspectos que rigen y están vigentes en la actualidad, con respecto a los laboratorios de producción farmacéutica en el

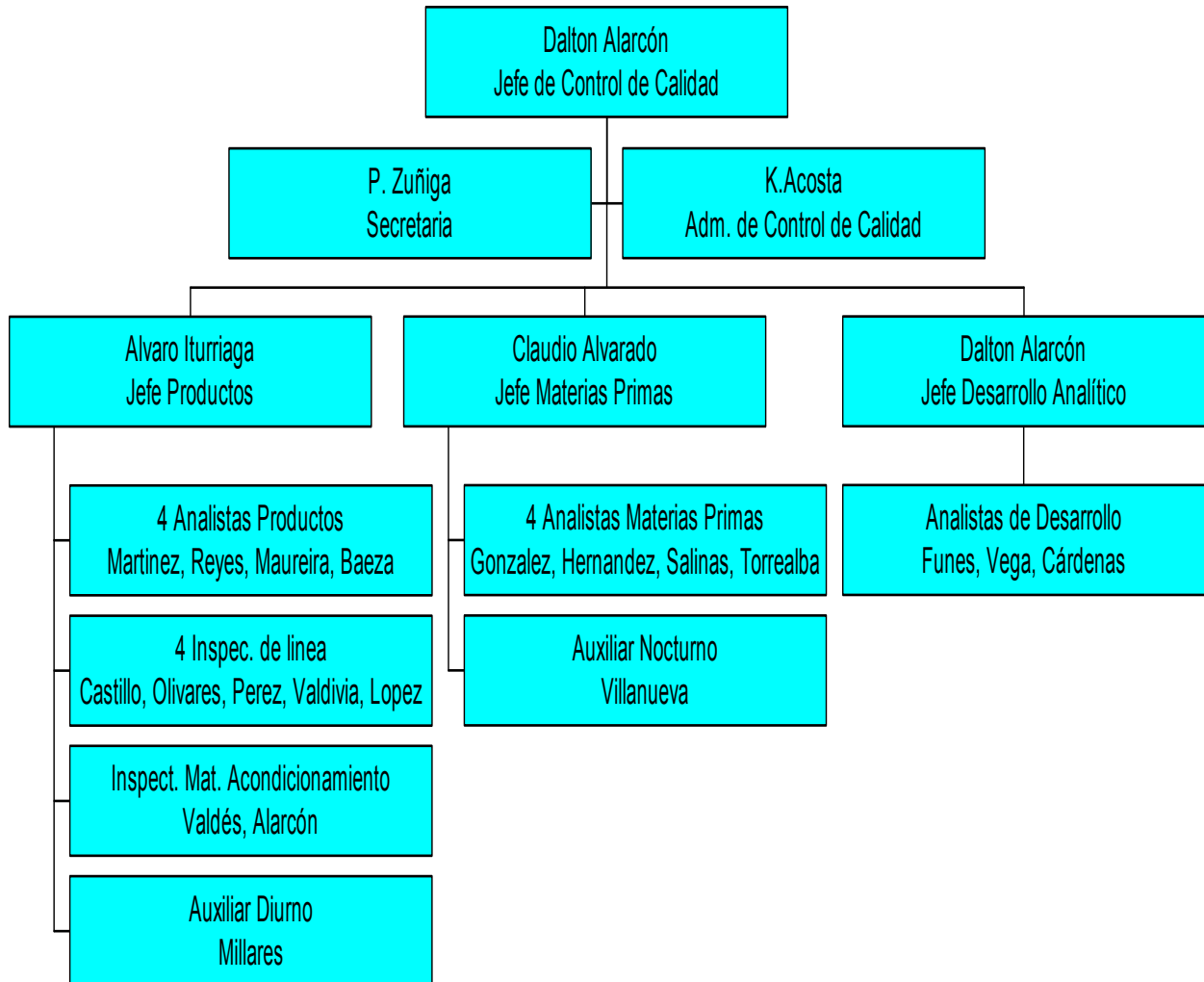
país, tales como la instalación, funcionamiento, control, seguridad, normas que deben cumplir para sacar nuevos productos al mercado, etc.

- La amplias proyecciones de un trabajo de esta índole pueden ser, entre otras, que este trabajo se convierta en material de apoyo para estudiantes de pregrado que deseen profundizar en temas relacionados a la industria farmacéutica; que sirva de guía para futuros estudiantes que opten por esta misma modalidad para obtener el título de Químico Farmacéutico y que sirva como documento adicional de referencia a la industria farmacéutica

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Bacigalupe, P., Barros, F., Croxatto, B., Frütche, I., Henríquez, N., Moll, M., Picasso, R., Ramírez, E., Rosemberg, R., Segura, M. (1977). Adaptación de las Prácticas de Buena Manufactura (P.B.M. – G.M.P.) a la Industria Farmacéutica de Chile. Presentado al primer Congreso Argentino de Farmacia y Bioquímica Industrial. Buenos Aires, República Argentina. 7 – 38.
- Broadhead, J., Daniel, F. (1989). Designing Pharmaceutical Facilities to meet CGMPs. *Pharmaceutical Manufacturing International*. Ed. Michael Barber, London. 9, 102 – 105.
- Erskine, C. (1990). Quality Assurance and Control. En: The Science and Practice of Pharmacy (18ª Ed). 1513 – 1518. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.
- Laboratorio Bagó Chile (2001): Procedimiento: “Organización Control de Calidad”, CC-POS-01.
- Ministerio de Salud, Instituto de Salud Pública de Chile (1995). Reglamento del Sistema de Control de Productos Farmacéuticos, Alimentos de Uso Médico y Cosméticos, D.S. 1876/1995. Título I, VI y VII.
- Organización Mundial de la Salud (1992). Informe 32º del Comité de expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas. 12 – 64.

- Organización Mundial de la Salud (1996). Informe 34° del Comité de expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas. 6 – 13, 71 – 89.
- Ramírez, E. (Julio, 2000). Historia, desarrollo y puesta en marcha de las Buenas Prácticas de Manufactura. *Pharmakon*. 28 – 38.
- Willing, S., Tuckerman M., Hitchings, W. (1982). Good Manufacturing Practice for Pharmaceuticals. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 15 – 43.

ANEXO 1. Esquema 1: “Organigrama área Control de Calidad”.

ANEXO 2

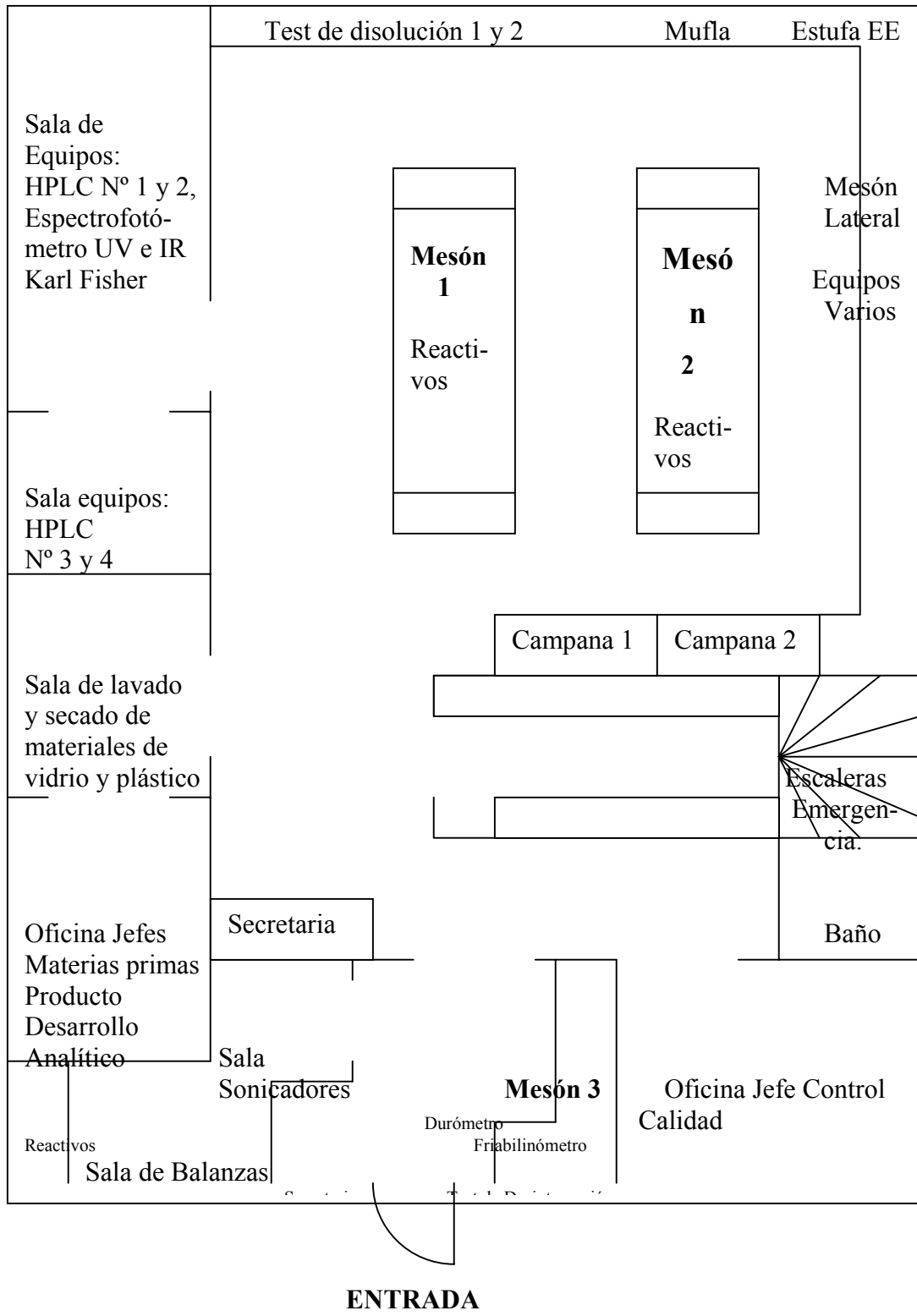


Figura 1: Diagrama Área Control de Calidad.

ANEXO 3. Tabla 1: “Listado de Equipos laboratorio Control de Calidad”.

Equipo	Modelo	Nº de serie	Marca	Código	Resolución	Rango del equipo	Rango de uso	Tolerancia (más exigente)
Aparato Punto de fusión	FP 62	5 1 37	Mettler	AC EPF 01	0.1°C	3 300°C	50 250°C	2°C
Aparato Test de Desintegración	64-700-136	1593-8	Hanson Research	AC-EDE-01				
Aparato Test de Disolución	PTWS III	I / 4-600-B	Pharma Test	AC-ETD-01				
Aparato Test de Disolución	SR8 Plus	5001004	Hanson Research	AC-ETD-02				
Balanzas Analítica 1	A 200 S	30060230	Sartorius	AC-EBA-01	0.0001 g	0-202g / 0.0001g	10 mg - 150 g	1 mg
Balanzas Analítica 2	BP 210 S	50706343	Sartorius	AC-EBA-02	0.0001 g	0-210g / 0.0001g	10 mg - 150 g	1 mg
Baño ultrasonido 1	T 460 / H	V938872103 EYH	Transsonic	AC-EBU-01				
Baño ultrasonido 2	250 D	-----	Aquasonic	AC-BU-02				
Centrifuga Hettich	EBA 3S	114246	Hettich	AC-ECE-01				
Cromatografo Nº 1 (Bomba, lámpara, autosampler)			Merck-Hitachi	AC-ECR-1				
Cromatografo Nº 2 (Bomba, lámpara, autosampler)			Merck-Hitachi	AC-ECR-2				
Cromatografo Nº 3 (Bomba, lámpara, autosampler)			Merck-Hitachi	AC-ECR-3				

Tabla 1: “Listado de Equipos laboratorio Control de Calidad”. Continuación.

Equipo	Modelo	Nº de serie	Marca	Código	Resolución	Rango del equipo	Rango de uso	Tolerancia (más exigente)
Cromatógrafo Nº 4 (Bomba, lámpara, autosampler)	L 6200 Aligent 1100		Hewlett Packard	AC-ECR-4				
Conductivímetro	CDM 230	654R025N 018	Radiometer	AC-CO-01	0.001 mS/cm	0.001 mS/cm - 2000 S/cm	0 - 100 mS/cm	0.001 mS/cm - 5 mS/cm
Destilador	2004	103988828	Gesellschaft Fur Laborthechni k	AC-EDT-01				
Durómetro	PTB 311	I-4543 / B	Pharma Test	AC-EDU-01	0.1 kp	1 - 30 kp	3 - 16 kp	1 kp
Espectrofotómetro IR	FTIR 1600	145288	Perkin - Elmer	AC-EIR-15	0.1 cm ⁻¹	7800 - 100 cm ⁻¹	4500 - 400 cm ⁻¹	-----
Espectrofotómetro UV	8252 AX	310460151 6	Hewlett - Packard	AC-EUV-16				
Estabilizador 1	EL 3000	3499	SIDEI Ingenieros LTDA.	AC-EEC-01				
Estabilizador 2	EL 3000	3500	SIDEI Ingenieros LTDA.	AC-EEC-02				
Estufa	T 340	7002541	Hareus	AC-EES-01				
Estufa	B 340	7000886	Hareus	AC-EES-02				
Estufa de secado al vacío y bomba	VTR 5022	50003462	Hareus	AC-EES-03				

Tabla 1: “Listado de Equipos laboratorio Control de Calidad”. Continuación.

Equipo	Modelo	Nº de serie	Marca	Código	Resolución	Rango del equipo	Rango de uso	Tolerancia (más exigente)
Estufa de secado de material	U-50	850502	Memmert	AC-EES-04				
Estufas de Estabilidad 1	BM 500	920933	Memmert	AC-EES-05				
Estufas de Estabilidad 2	BM 500	920934	Memmert	AC-EES-06				
Estufas de Estabilidad 3	BM 500	910650	Memmert	AC-EES-07				
Enfriador	PF 1	I - 4859 / CPharma Test		AC-EFR-26		idem. Balanza 1 y 2	60 mg - 100 mg	60 mg
Karl Fischer	701 KT	31393	Titrimo	AC-EKF-01		10 mg - 50 mg	10 mg - 50 mg	10 mg - 50 mg
Microbalanza	M 5 P	20700252	Sartorius	AC-EBA-03		-----	-----	-----
Mufia	10500	215	Kay - May	AC-EMU-01				
Mufia	LN 31 P	-----	Naber Therm	AC-EMU-02				
pH metro Hanna	8418	994541	Hanna	AC-EPH-01	0.01 unidades	0.00 - 14.00	1.00 - 1.00	1.00 unidad
pH metro Metrohm	E603/1	008/02178	Metrohm	AC-EPH-02				
Polarímetro	D7082	135916	Zeiss	AC-EPO-01	0.05°	- 360° - + 360°	- 360° - + 360°	
Purificador de Agua para HPLC	Milli Q	F5HM965 70S	Millipore	AC-EPU-01				

Tabla 1: “Listado de Equipos laboratorio Control de Calidad”. Continuación.

Equipo	Modelo	Nº de serie	Marca	Código	Resolución	Rango del equipo	Rango de uso	Tolerancia (más exigente)
Rotavapor		MKE 6540/2 PR	200378284	Buchi	AC-ERO-01			
Termobalanza	YTC 01L	20407814	Sartorius	AC-ETB-01		0.001g -	50 mg - 500 mg	0.5%-1%(50 mg 100 mg)
Termómetro	0/360	-----	Thomas	AC-ETE-01	1°C	-10°C - 360°C	-10°C - 280°C	4°C
Termómetro Digital	0/360	-----	Thomas	AC-ETE-02	0.1°C			1°C
Viscosímetro	RVT	57234	Brookfield	AC-EVI-01	0.5 cps	30 cps - 5600000 cps	500 cps - 3000 cps	500 cps

Tabla 2: “Cronograma de Actividades durante el Internado en Industria Farmacéutica”.

ETAPA	DESCRIPCIÓN	TIEMPO APROXIMADO
1. Investigación bibliográfica	Revisión bibliográfica del tema. Lectura de monografía de Minociclina en la USP y otros textos.	2+ semanas *
2. Análisis	Conocimiento del manejo del laboratorio de Control de calidad. Conocer equipos y técnicas.	4+ semanas *
3. Desarrollo y validación de una metodología analítica para la determinación del principio activo	Identificación de las condiciones cromatográficas más adecuadas. Aplicación de los parámetros de desempeño a la técnica analítica USP 23 : selectividad, linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad.	5 semanas
4. Ejecución del estudio de estabilidad acelerada	Condiciones de almacenamiento. Criterios de análisis. Número y tiempo de la toma de muestras.	10 semanas
5. Evaluación de resultados	Parámetros físicos y químicos, determinación de fechas de expiración tentativas.	5 semanas
6. Visita a los distintos departamentos del laboratorio	Conocimiento del manejo del laboratorio en todas sus distintas áreas y la forma de interacción entre ellas.	Durante el transcurso de los 6 meses

* : El símbolo ”+” indica que este período de tiempo fue extensivo a las demás etapas del internado.

Tabla 3: “Actividades y análisis realizados en materias primas”.

Principio Activo / Excipiente	Análisis Realizado
Paracetamol	Test de identidad
Ibuprofeno	Espectroscopía IR
Diclofenaco Sódico	Cromatografía en capa fina
Cafeína	Test de humedad
Pseudoefedrina	Potencia estándares
Vitamina A	Pureza
Ranitidina	Presencia de metales pesados
Metilparabeno	Test de identidad
Propilparabeno	Cromatografía en capa fina
Almidón	Espectroscopía IR
Aerosil	Test de humedad
Kollidon	Pureza
Estearato de Magnesio	Presencia de metales pesados
Colorantes y Saborizantes	

Tabla 4: “Actividades y análisis realizados en producto terminado y en proceso”.

Producto en proceso / producto terminado	Análisis Realizado
Alprazolam	Test de identidad Valoraciones Uniformidad de contenido Test de disolución Cinéticas de disolución Test de dureza Test de desintegración
Bagóvita A®	
Betametasona crema	
Clofexan®	
Clotrimazol	
Enalapril	
Entero Micinovo®	
Flunarizina	
Fluoxetina	
Ketoprofeno	
Loratadina	
Modane®	
Nastizol®	
Nifurat®	
Normaten®	
Paracetamol	
Perfungol polvo®	
Pironal®	
Remitex®	
Remitex-D®	

Tabla 5: “Actividades y análisis realizados en desarrollo analítico”.

Producto	Análisis Realizado
Minociclina	Validación de técnica analítica Estudio de estabilidad acelerado
Mometasona	
Mupirocina	
Terbinafina	
Betametazona crema®	Estudio de estabilidad de estantería
Bifonazol®	
Clofexan®	
Migranol®	
Nastizol®	
Nifurat®	
Normatén®	
Tensiomax®	
Tusabrón®	
Uro Micinovo®	

PARTE II

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA:

DISEÑO, DESARROLLO Y EJECUCIÓN DE UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

ACELERADA EN COMPRIMIDOS DE MINOCICLINA DE 50mg Y 100mg.

1. RESUMEN

Los estudios de estabilidad para los productos farmacéuticos son una parte fundamental del proceso de investigación y desarrollo que debe hacerse a toda nueva preparación farmacéutica que será puesta a disposición de la población. Su objetivo es asegurar que las características de calidad conseguidas en el producto se mantengan durante el tiempo en que se encuentra disponible para su uso. El D.S. 1876/95 hizo obligatoria la presentación de estudios de estabilidad para solicitar el registro de los productos farmacéuticos que serán comercializados en el territorio nacional. Por tal razón, con su entrada en vigencia desde el año 1997, cada producto farmacéutico registrado tiene asignado un período de eficacia de acuerdo a los antecedentes presentados.

Laboratorio Bagó S.A. realiza a sus productos nuevos estudios de estabilidad de estantería y estudios de estabilidad acelerados, los cuales permiten determinar que el producto en cuestión se mantendrá inalterado a lo largo de su período de vida útil, es decir, durante su almacenamiento y uso.

El trabajo desarrollado comprendió el diseño y desarrollo de una técnica analítica para la ejecución de un estudio de estabilidad acelerada. Una de las etapas más importantes de estos estudios es la validación de la técnica analítica que se utiliza para la determinación del principio activo del producto, por medio de la cual podemos obtener evidencia documentada de que el método analítico realiza lo que se pretende en forma confiable y reproducible. El estudio se realizó sobre un producto nuevo, comprimidos recubiertos de minociclina de 50mg y 100mg, utilizando como técnica de análisis la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Los resultados obtenidos en este estudio permitieron estimar el tiempo de vida útil de la formulación, así como cumplir con los requisitos necesarios para la apertura del registro del producto y su lanzamiento al mercado nacional.

SUMMARY.

The stability studies for pharmaceutical products are a fundamental part of the process of investigation and development that must be done for every new pharmaceutical preparation made available to the public. Their objective is to assure that the level of quality listed for the product will be kept for all the time it is available for use.

The D.S. 1876/95 made obligatory the presentation of stability studies to apply for the registration of the pharmaceutical products to be commercialized within the nation. For this reason, since its 1997 entrance in effect, every registered pharmaceutical product has a designed period of effectiveness, in accordance with the aforementioned information.

The Laboratory Bagó S.A. carries out accelerated and shelving stability studies to all their new products, which allow determining if the state of the product in question will remain unaltered until its expiration date, meaning during its storage life and period of utility.

The carried out work encompasses the design and development of an analytical technique for performing an accelerated stability study. One of the most important stages of these studies is the validation of the analytical technique. This is used to determinate the active principal of the product , though which we can obtain documental evidence that the analytical method functions as it ought to, in a trustworthy and reproducible way. The study was done about a new product, pills of minocycline of 50mg and 100mg, using as a technique of analysis the High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

The results obtained from this study allowed us to estimate the lifetime of the formulation, as well as fulfill the necessary requirements for the product registration and its release into the national market.

2. INTRODUCCION

Cada vez que un laboratorio farmacéutico desea lanzar al mercado un producto nuevo o una reformulación de uno existente, es necesario presentar a la autoridad sanitaria nacional, el Instituto de Salud Pública, la documentación necesaria que permita autorizar el uso y comercialización del producto farmacéutico en nuestro país.

Dentro de este marco se encuentran las distintas disposiciones que rigen todo el proceso que involucra la puesta a la venta de un nuevo producto farmacéutico y las condiciones y requisitos que éste debe presentar durante todo su período de vida útil como fármaco.

Los criterios de estabilidad propuestos por el Instituto de Salud Pública de Chile y el Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos, Alimentos de Uso Médico y Cosméticos D.S. 1876/1995, exigen que todos los medicamentos que se utilizan en el país cumplan con las condiciones de identidad, efectividad, potencia, pureza, inocuidad y otras especificaciones en la monografía, durante el período que se encuentran almacenados, en el mercado y durante su uso. Esta disposición es acorde con la evidencia de que las preparaciones farmacéuticas, aún cuando estén correctamente fabricadas, sufren alteraciones físicas y químicas a través del tiempo, tales como cambios de la forma cristalina, racemización, hidrólisis, oxidación, reducción, etc., como consecuencia de la exposición a la humedad, calor, oxígeno del aire, luz u otras radiaciones, microorganismos y otros factores.

En el cumplimiento de este requisito existe, en el ámbito nacional, una evidente falta de uniformidad de criterios y escasez de información, lo que ha hecho necesaria la redacción de un anteproyecto de norma por parte de la autoridad sanitaria del país (ISP) y en la cual se está trabajando en la actualidad. Dado el avance del conocimiento y la creciente armonización que se está llevando a cabo en materia de medicamentos se hace necesaria esta norma para la realización

y presentación de estudios de estabilidad para productos farmacéuticos que se comercializan en Chile, las que han sometido a consulta a la industria farmacéutica nacional, para conseguir una norma consensuada que considere recomendaciones internacionales aplicables a la realidad nacional; constituyéndose así en un paso más en el objetivo propuesto de entregar a la población chilena medicamentos de calidad (Anexo N° 1).

MARCO TEÓRICO.

En la actualidad, la globalización de los mercados ha provocado una marcada competitividad tanto en el mercado nacional como en el internacional, obligando a las industrias a generar productos de alta calidad. Para enfrentar este desafío, la industria farmacéutica debe ceñirse tanto al cumplimiento de las normas y disposiciones nacionales (ISP) como de normas internacionales, tales como las dictadas por la International Standard Organization (ISO), las normas de buenas prácticas aplicables a la fabricación de medicamentos y al control de su calidad (GMP), las normas que regulan las condiciones bajo las cuales los estudios no clínicos, se planifican, realizan, controlan, registran y presentan (GLP) y las recomendaciones de organismos internacionales que Chile acepta como oficiales (OMS).

Según lo que estipula el texto de las GMP, en lo concerniente al control de la calidad, uno de los requerimientos básicos para dicho control es que los métodos de ensayo deben ser validados. La Food and Drugs Administration (FDA), organismo federal de los EE.UU. define la validación como “Programa documentado de que un proceso dado, producirá, en forma consistente, un producto que cumpla con las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos”. Así expuesto, el objetivo principal de la validación analítica es asegurar que un procedimiento analítico seleccionado dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

De acuerdo con el suplemento cuarto de la 23^a edición de la Farmacopea de los EE.UU. (USP 23), la validación de un método analítico es un proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño de un método cumplen con los requerimientos de las especificaciones analíticas para los que fue diseñado. Las características de desempeño del

método son expresadas en términos de parámetros analíticos. Los parámetros analíticos típicos, considerados en la validación de las diversas valoraciones descritas en la USP, son los siguientes:

- Linealidad.
- Exactitud.
- Precisión.
- Especificidad o selectividad.
- Límite de detección.
- Límite de cuantificación.
- Rango.

El presente trabajo comprende el “Diseño, desarrollo y ejecución de un estudio de estabilidad acelerada en comprimidos de minociclina de 50mg y 100mg”. Una vez desarrollado un método de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) a partir de una fuente literaria confiable, al igual que toda técnica analítica, ésta deberá validarse, es decir, se debe confirmar que los resultados por él producidos son confiables.

HPLC: APLICACIÓN Y PRACTICA.

La Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) representa el mayor mercado en el mundo del instrumental analítico, con más de US\$ 900 millones en 1990. La popularidad de esta metodología se debe a su gran versatilidad –ya que cubre un amplio espectro de aplicaciones– excelente capacidad para el análisis de trazas (en muchos casos ppb), rapidez y adaptabilidad al análisis cuantitativo. La HPLC se utiliza en casi todos los laboratorios industriales, organismos oficiales, universidades y en todos los laboratorios donde se realicen investigaciones químicas y

bioquímicas. Las aplicaciones de HPLC –particularmente en el área de la biotecnología– se están incrementando rápidamente. En los años venideros la HPLC continuará jugando un rol predominante en los laboratorios de investigaciones farmacéuticas, de síntesis orgánica, bioquímicos, biológicos, de control de medio ambiente y alimentarios.

Aún por extraño que parezca una de las mayores limitaciones de HPLC es la falta de operadores experimentados. El entrenamiento en técnicas modernas de HPLC en las universidades es escaso, casi nulo. Esto ocurre debido al alto costo de los instrumentos y a que los profesores de otra generación no tuvieron la oportunidad de adquirir experiencia en esta disciplina, por lo cual el entrenamiento debe recaer o en el fabricante del instrumento o en el químico experimentado en la materia (Quattrocchi, 1992).

La HPLC ha tenido una creciente difusión desde comienzos de la década del 70, y hoy representa una de las herramientas más empleadas en el laboratorio analítico moderno, ya sea éste dedicado a la investigación básica o aplicada, industrial, biológico o bromatológico.

Según define la IUPAC, “La cromatografía es un método, usado primariamente para la separación de los componentes de una muestra, en la cual los componentes se distribuyen en dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras la otra se mueve. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido retenido sobre un sólido o un gel. La fase estacionaria puede estar extendida como una capa o distribuida como una película, etc. La fase móvil puede ser líquida o gaseosa”. Una definición tan general como esta puede sin embargo presentar restricciones, por ejemplo ante el desarrollo en la década del 60 de la Cromatografía de Fluidos Supercríticos (SFC) y la comercialización a partir de 1987 de este tipo de cromatógrafos, en los cuales la fase móvil no es ni un gas ni un líquido, sino un fluido supercrítico. Quizás por ello sea conveniente, sólo relacionar la cromatografía con un método separativo y aceptar la definición de Guiddings: un

“método de migración en zonas”, abriendo la mente ante los cambios que continuamente se producen. La idea de la HPLC misma, siglas que se debieron a “High Pressure Liquid Chromatography” debieron ser cambiadas cuando los cromatografistas se dieron cuenta que la presión sólo constituía una herramienta que forzaba la fase móvil a atravesar la columna, sin constituirse por sí en una variable del sistema. Sin embargo, y ante la “universalidad” consumada del término “HPLC”, se decidió simplemente buscarle otro significado, resultando “High Performance Liquid Chromatography”

Bases de la separación cromatográfica.

La cromatografía líquida es, como todos los métodos cromatográficos, un método separativo por esencia. Así el lugar donde se produce la separación, la columna, puede ser considerado el corazón del sistema cromatográfico, alrededor del cual se centra todo, ya que alrededor de él se monta un equipo de mayor o menos complejidad. El cromatógrafo líquido básico estará constituido por:

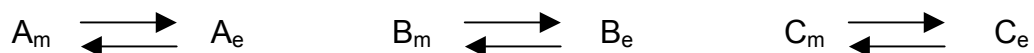
- Un reservorio de solvente que alimenta al sistema con la fase móvil.
- Un sistema que permite la introducción de la muestra: el inyector.
- Un sistema para forzar el pasaje de la muestra y la fase móvil a través de la columna: la bomba.
- Un sistema de monitoreo de la solución que emerge de la columna. El detector.
- Un sistema de registro de los datos provenientes del detector. La señal del detector puede ser análoga y puede ser utilizada tal cual por un registrador gráfico o por un integrador, o digitalizada, para que pueda ser interpretada y procesada por una computadora.

Una vez realizado el análisis cromatográfico se obtienen 2 productos:

1. Un gráfico, el cromatograma, que relaciona la concentración de soluto en función del tiempo (de elusión).
2. Un eluido o eluato, el líquido proveniente de la columna que, de recolectarse en forma secuencial o escalonada (manualmente o con un colector de fracciones), contiene la fase móvil, e idealmente los componentes de la muestra separados.

Cuando la muestra y la fase móvil son forzadas a atravesar la fase estacionaria, entran en juego distintos tipos de interacción entre cada uno de los componentes. Interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno, interacciones dipolares y electroestáticas, son las responsables de la mayor o menos afinidad de cada uno de los componentes de la muestra por la fase móvil o la fase estacionaria. Así el componente más afín a la fase estacionaria se retiene más y tarda más en eluir (es decir, en salir de la columna) y el más afín a la fase móvil se retiene menos y eluye antes (Quattrocchi, 1992).

Para cada caso, en la columna se establecerá un equilibrio que involucra la fracción de cada especie “disuelta” por cada fase en equilibrio. Por ejemplo, para A, B y C (Anexo N° 2, Esquema 1).



Con el subíndice “m” se representa la fracción del soluto disuelta en la fase móvil y con el subíndice “e” la disuelta en la fase estacionaria. Dejando momentáneamente de lado la modalidad de exclusión por tamaño molecular, las características químicas de las especies A, B y C pueden ser, en relación con las moléculas de solvente y a los grupos funcionales de la fase estacionaria,

lo suficientemente diferentes como para ser atraídas con distinta fuerza por ésta última. Como resultado, en este ejemplo hipotético, las moléculas de C viajarán a mayor velocidad que las de B y éstas a mayor velocidad que las de A. Para que A eluya de la columna, será necesario que un determinado volumen de la fase móvil (eluyente), llamado volumen de elusión, atraviese la columna. El volumen de elusión será entonces diferente y creciente para C, B y A. Por otra parte, si se trabaja a volumen constante (la modalidad habitual en HPLC), el volumen de elusión de cada especie será proporcional a un tiempo conocido como tiempo de retención o de elusión. (Quattrocchi, 1992).

OBJETIVOS DE LA VALIDACIÓN.

Con el fin de llevar a cabo un estudio de estabilidad, antes es preciso seguir el protocolo establecido para la validación de métodos analíticos P.O.S.: “Validación de un método analítico por HPLC”, que indica la forma en que se desarrollarán las metodologías específicas para las determinaciones del producto estudiado, alcance, responsabilidad, frecuencia y procedimiento a seguir, diseñando de esta forma un esquema de validación, cuyo objetivo es ofrecer evidencia documentada de que el método analítico realiza lo que pretende, en forma viable y reproducible.

En lo referente a los productos farmacéuticos, los métodos codificados en la USP se consideran válidos y el único requerimiento es el cumplimiento de test de adecuación indicado en cada monografía: en general se inyecta una sustancia definida y se verifica que la resolución entre el pico del analito y dicha sustancia sea superior a cierto valor indicado para cada caso en particular; además se mide y controla la precisión (desviación estándar relativa, RSD en su sigla en inglés), asimetría del pico y eficiencia (N), y se permite ajustar la fuerza de la fase móvil para cumplir estos requerimientos mínimos.

Es importante destacar que la validez de estos métodos es ampliamente discutible. Diferencias entre distintas formas farmacéuticas, tipo y calidad de las materias primas empleadas por cada fabricante, hacen necesario validar la metodología para cada producto en particular, elaborado o semielaborado.

Evidentemente, todo nuevo método analítico debe validarse para demostrar su idoneidad, llamaremos validación prospectiva a la que encaramos frente a un producto nuevo.

En el caso de que un método analítico sea desarrollado y validado por un grupo de trabajo y aplicado por otro grupo es conveniente realizar una transferencia de validación, para asegurar que el laboratorio de aplicación sea capaz a su vez de entregar resultados confiables. En el caso de métodos cromatográficos, la transferencia de validación consiste en la comparación de resultados de las pruebas de adecuación y de análisis en paralelo de, al menos, dos muestras homogéneas de concentraciones conocidas, dentro del rango de aceptación del producto o dentro del rango de aplicación de la metodología. Por otra parte, debe considerarse la ‘revalidación’, que se hace necesaria con métodos previamente validados, pero que deben volver a evaluarse por variaciones de algún factor instrumental (cambio de equipo o de algunos de sus componentes, del tipo u origen de columna, etc.), de la matriz que contiene la muestra o de la proporción relativa del analito.(Quattrocchi, 1992).

Es importante destacar que no todas las características de desempeño, definidas como parámetros analíticos, son aplicables a cada procedimiento analítico o a cada material. Ello depende en gran medida del propósito al cual se desea aplicar el procedimiento.

Es así como se señala en la USP 23 en su suplemento cuarto, que los métodos empleados para el examen de los materiales farmacéuticos pueden agruparse en tres categorías:

Categoría I : Métodos analíticos empleados para la cuantificación de un componente importante en drogas a granel o de un principio activo (incluyendo preservantes) en productos farmacéuticos terminados.

Categoría II : Método analíticos empelados para la determinación de impurezas en drogas a granel o compuestos de degradación en productos farmacéuticos terminados.

Categoría III : Métodos analíticos para la determinación de características de capacidad (ej: disolución, liberación de drogas).

Esta categorización se muestra más claramente en el Anexo N° 3, Tabla 1; donde se presenta una calificación de los parámetros analíticos requeridos en función del tipo de test.

El concepto entregado por la USP sobre el proceso de validación es insuficiente de acuerdo al concepto actual de calidad indicado en las normas ISO, donde la calidad de un producto o servicio depende de la calidad de la totalidad de los elementos que participan; la USP nos limita al método mismo, sin considerar que el proceso de validación comprende también el entorno, ya que además se deben controlar los factores que condicionan el método: columnas, filtros, solventes y reactivos sin excluir al equipo.

Es incuestionable que la cromatografía líquida de alta resolución es la técnica de separación más ampliamente utilizada, y así lo demuestra el hecho de que, en los ensayos de valoración propuestos para la mayoría de las sustancias que aparecen en la USP 24, ésta es la técnica más empleada.

Las características de desempeño del método son expresadas en términos de parámetros analíticos. Los parámetros analíticos típicos, considerados en la validación de las diversas valoraciones descritas en la USP, son los siguientes:

Selectividad o Especificidad:

Este parámetro se refiere a la propiedad del método de producir una señal medible debida sólo a la presencia del analito, libre de interferencia de otros componentes en la matriz de la muestra. Estos componentes pueden ser excipientes de un fármaco, productos de degradación, subproductos o productos laterales de síntesis de una droga, metabolitos del mismo analito en un fluido biológico, etc.

En el caso del análisis de una droga o un fármaco, resulta de gran utilidad contar con las materias primas, subproductos de síntesis y productos de degradación. De ser así, la selectividad puede controlarse simplemente por la adición de, por ejemplo, 1% de cada posible interferente al estándar de droga pura, verificando la separación cromatográfica. En el caso que los productos de descomposición sean desconocidos o no puedan aislarse, el camino a seguir podría comprender los siguientes pasos: en primer lugar se evalúa la estructura de la droga y se postulan las posibles rutas de degradación y métodos de ataque. Se pasa luego a un ensayo de degradación artificial, por ejemplo:

1. Termólisis, producida por calentamiento de la droga a la temperatura fijada (por ejemplo 105° C).
2. Hidrólisis, por calentamiento a reflujo con agua durante 1 hora.
3. Hidrólisis alcalina, por calentamiento a reflujo con NaOH 1N durante 1 hora.

4. Hidrólisis ácida, por calentamiento a reflujo con HCl 1 N durante 1 hora.
5. Fotólisis, por exposición de la droga pura y de una solución de la misma a luz UV de onda corta y a la luz solar directa o indirecta.
6. Oxidación, por calentamiento en baño maría de una solución de la droga con gotas de agua oxigenada o por burbujeo de oxígeno.

De ser necesario se neutraliza la droga degradada artificialmente (para evitar el maltrato de columnas y equipos) y se analiza por el método propuesto. En general se recomienda que la degradación no sea mayor del 20% de la concentración inicial, de modo que puede ser conveniente repetir alguno de los ensayos empleando condiciones más suaves o bien más enérgicas.

Este análisis debe completarse con el estudio de la pureza u homogeneidad del pico correspondiente al analito. Este estudio consiste en determinar si existe algún producto de descomposición que produzca un pico superpuesto al del analito y que no alcance a evidenciarse. Para esto es conveniente complementar este estudio con un método alternativo y la comparación de resultados, especialmente en cuanto al número y proporción de los componentes de la muestra degradada.

En este tipo de ensayos resulta muy ventajoso el empleo del detector de ordenamiento de fotodiodos, ya que complementa la información convencional con la relativa a la pureza de picos. Este detector tiene la ventaja *multiplex*, es decir, puede medir la señal no sólo a una longitud de onda discreta sino el espectro de absorción completo en tiempo real (centésimas o milésimas de segundo), de modo que a las dimensiones habituales de tiempo y absorbancia, se agrega una tercera, la longitud de onda, permitiendo apreciar detalles que escapan a detectores

convencionales. Expresado de otro modo, con un detector convencional se monitorea la separación a una longitud de onda, la estimada como más conveniente. Finalizado el ensayo, la información que pudiera haberse obtenido a otra longitud de onda estará perdida. Con el detector de ordenamiento de fotodiodos se monitorea y almacena (en un soporte magnético) la información relativa a todo el espectro de absorción, de modo que esa información puede ser posteriormente recuperada y manipulada. Un gráfico típico del detector de ordenamiento de fotodiodos es el topograma, en el cual se representan en forma tridimensional los parámetros tiempo, longitud de onda y absorbancia.

Uno de los criterios de pureza más difundidos consiste en la superposición de los espectros de absorción de los segmentos creciente, vértice y decreciente del pico en estudio. En general, estos espectros se grafican “normalizados”, es decir, corregidos en su escala de modo que ocupen la misma proporción de la imagen visual. Muchos softwares permiten además el cálculo de la correlación entre curvas espectrales, de modo de cuantificar el grado de similitud espectral. Por otra parte, es posible la comparación del o de los espectros obtenidos en la muestra con bibliotecas (archivos en soporte magnético) en las cuales se pueden almacenar los espectros de absorción de los estándares puros, productos de degradación, intermediarios, etc. Y el grado de correlación espectral permite, con ciertas limitaciones (tiempos de retención, influencia del pH sobre el espectro de absorción, etc.) asumir o presumir identidad.

Los ensayos de degradación artificial descritos permiten no sólo el mejor conocimiento y eventual corrección de la técnica empleada, sino que también orientan al desarrollo de nuevas formulaciones de productos, indicando las condiciones de mayor agresividad, las mejor soportadas por la sustancia, condiciones de almacenamiento, tipo de envase, etc. (pH, labilidad a la hidrólisis, fotólisis, oxidación, etc.).

En caso de un producto farmacéutico, deberá considerarse no sólo la inyección de droga y placebo por separado y en conjunto para asegurar la selectividad de la medición, sino también la preparación de un placebo degradado y la degradación del producto final, acondicionada en su envase definitivo.

En muchos casos, la determinación de la especificidad no puede seguir modelos tan sistemáticos y dependerá del arte o ingenio del analista, pudiéndose tomar como referencias:

1. Tiempo de retención: sirve como primera base para la identificación del pico, pero esto a veces no resulta suficiente. En el caso de disponer de estándares, la co-inyección de éstos y la comparación cuidadosa de los cromatogramas resultantes (observando la posible aparición de ensanchamiento de bandas, de hombros, si es posible por derivación de la señal, etc.) puede servir como primera aproximación.
2. La modificación de las condiciones cromatográficas (proporción de solventes o modificadores, pH, etc.) y la observación de los resultados complementan el ensayo anterior.
3. La caracterización espectral, por ejemplo de detectores de ordenamiento de fotodiodos o el barrido espectrofotométrico a caudal detenido o el empleo de cocientes de absorbancia brinda apoyo adicional.
4. Las reacciones degradativas (oxidación, reducción, fotólisis, etc.) empleadas para comprobar la disminución o desaparición de la señal del analito en el cromatograma pueden apoyar la hipótesis de la presencia de un compuesto con determinados grupos funcionales en el pico a evaluar.

Linealidad.

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta. Este paso de la validación es necesario si se va a trabajar con un solo estándar en las determinaciones de rutina, aunque pueden aceptarse métodos no lineales, si se opera con estándares múltiples cada vez. Además, conjuntamente se determina el rango lineal, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar el dosaje por interpolación en una curva estándar.

Para su determinación, se prepara una serie de al menos cinco diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo con un exceso de al menos 50% sobre el límite superior y un defecto de 50% debajo del límite inferior.

Estas soluciones se inyectan al menos por duplicado y se determina la curva de regresión $Y = bX + a$ sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los cuadrados mínimos. Posteriormente se grafica para su documentación.

89j7

$$b = \frac{\frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{n}}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}}{n}$$

$$a = \frac{\sum Y_i - b \sum X_i}{n}$$

Siendo **a** y **b** los estimadores de la ordenada al origen y pendiente respectivamente, **n** el número de mediciones, **X_i** el valor de la concentración e **Y_i** el valor medido en el ensayo **i**.

Resulta conveniente evaluar los estimadores de regresión en un intervalo de confianza dado (por ejemplo, $p=0,05$):

- **Coefficiente de regresión lineal (r)**: Se determina para evaluar el ajuste del modelo lineal propuesto, $Y = bX+a$.
- **Pendiente (b)**: Se determina como parámetro indicativo de la sensibilidad del método o para evaluar la correlación de diferentes métodos.
- **Ordenada al origen (a)**: se determina para evaluar la proporcionalidad de la función analítica, es decir, que la recta pase por el origen y que cualquier desviación pueda adjudicarse únicamente a un error aleatorio.

$$r = \frac{\frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \sum Y_i}{n}}{\sqrt{\left(\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n} \right) \left(\sum Y_i^2 - \frac{(\sum Y_i)^2}{n} \right)}}$$

El valor $r = 1$ indica una recta perfectamente lineal, $r = -1$ una recta perfectamente lineal de pendiente negativa y $r = 0$ la no correlación entre X e Y. En la práctica, r es generalmente mayor de 0,99 y los valores de 0,90 son raros. Sin embargo, el indicador del modelo lineal no es r sino un test estadístico, en el cual se calcula un valor de t_r con $n-2$ grados de libertad y se compara con el valor t tabulado para el nivel de confianza requerido.

En este caso, la hipótesis nula es la no correlación entre X e Y. Si el valor observado de t_r es mayor que t_{tabla} , se rechaza la hipótesis, siendo la correlación lineal significativa con la probabilidad calculada.

$$t_r = \frac{|r| \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Precisión.

La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea.

La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar, σ , estimada analíticamente por s o más comúnmente con la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV). El estimador s de la desviación estándar se calcula como:

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

Donde n es el número de medidas, X_i es el valor medido en el ensayo i y $\bar{X}$ es estimador de la medida poblacional μ , calculado como:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Por su parte, la desviación estándar relativa o coeficiente de variación se calcula como:

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} \cdot 100$$

Ambos estimadores, desviación estándar y desviación estándar relativa permiten evaluar la incertidumbre en la estimación de la medida (error aleatorio, correspondiente a la dispersión de datos alrededor de la media).

En el caso de muestras escasas que no permiten efectuar más de 2 ó 3 determinaciones, la estimación de la desviación estándar sería incierta. En estos casos, puede recurrirse a un “estimador agrupado”: se efectúan mediciones por duplicado o triplicado en diferentes muestras y se calcula la desviación estándar como:

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-g} \sum_{j=1}^g \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

Siendo **N** el número total de determinaciones, **g** el número de muestras y **n** el número de determinaciones sobre cada muestra.

La precisión de un método analítico deberá estudiarse sobre:

- a) **El sistema**, evaluando la dispersión de al menos 6 inyecciones del estándar.
- b) **El método**, evaluando la dispersión de varias preparaciones de la muestra final homogénea. La evaluación corresponde a todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento.

El criterio de aceptación puede ser variable y estará dictado por los objetivos buscados. Así, la USP indica en general una RSD del sistema de no más de 2%, inyectando 5 veces una solución estándar, aunque pueden obtenerse en condiciones apropiadas valores inferiores al 1% e incluso menores.

Exactitud.

La exactitud de un método, también conocida como error sistemático o tendencia, corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero.

Matemáticamente, suele expresarse de los siguientes modos:

Desviación:
$$B = \bar{X} - X^{\wedge}$$

Desviación relativa:
$$B\% = \frac{B}{\bar{X}} \cdot 100$$

Recuperación:
$$R = \frac{\bar{X}}{X^{\wedge}} \cdot 100$$

Donde $\bar{X}$ es el valor medio y $X^{\wedge}$ es el valor verdadero.

De todas ellas la más utilizada es, sin lugar a dudas, la recuperación. Si bien el valor verdadero de concentración no se conoce, sino que sólo puede estimarse, es posible preparar una muestra por un procedimiento más exacto que el evaluado (por pesada, dilución en peso, etc.) y utilizarla como referencia.

De hecho, la norma ASTM 456-83, al referirse a la exactitud de un método analítico habla de la concordancia entre el valor medio y el valor aceptado como referencia. De esta manera es posible independizarse del término “valor verdadero” usado en estadística cuyo significado es diferente.

La exactitud o bien podríamos llamarla “inexactitud”, debe ser tan pequeña como sea posible para que el valor medido se aproxime al de referencia. Dicho de otro modo, la recuperación del analito debe acercarse al 100%.

En el análisis de macrocomponentes, en general se requiere que el valor medido no difiera significativamente del aceptado como referencia. Para determinarlo puede utilizarse un ensayo *t* de Student, efectuando varias determinaciones de la muestra de concentración conocida y calculando el *t* experimental, t_{ob} , que se compara con el *t* de tablas para $n - 1$ grados de libertad en el nivel de confianza escogido, generalmente $p = 0.05$. El valor t_{ob} puede calcularse como:

$$t_{ob} = \frac{(\bar{X} - \hat{X})}{S} \times \sqrt{n}$$

Si t_{ob} resulta menor que el valor tabulado, el método tiene la exactitud requerida para ese ámbito de confianza.

Si t_{ob} resulta mayor que el valor tabulado, el método tiene un error sistemático, del signo resultante, para ese ámbito de confianza.

Otro diseño habitual emplea, al menos, 3 concentraciones del analito, preparadas por triplicado, comprendidas dentro del rango de linealidad del sistema: en general se estudian concentraciones correspondiente al 50-80, 100 y 120-150% del valor esperado. En este caso, el valor *t* se calcula como:

$$t_{ob} = \frac{(100 - R)}{RSD} \times \sqrt{n}$$

Siendo R la recuperación porcentual.

Los valores t_{ob} se comparan con los tabulados para el intervalo de confianza requerido con $n-1$ grados de libertad y la exactitud o inexactitud se evalúan para el promedio de recuperaciones de todas las concentraciones. Si $t_{ob} < t_{tabla}$, no existe diferencia significativa con el 100% de recuperación y la exactitud es apropiada.

Por otra parte, resulta conveniente graficar masa hallada versus masa agregada, rectificando por el método de los cuadrados mínimos. La pendiente deberá ser unitaria y la ordenada al origen deberá pasar por cero (estimando los parámetros de regresión, en general con $p = 0,05$).

Una pendiente significativamente diferente de 1 indica un error proporcional, por ejemplo, debido a la extracción de un porcentaje constante del componente. Una ordenada al origen significativamente diferente de cero indica un error de tendencia constante y se visualiza como una recta paralela a la teórica, en la cual el valor de la ordenada al origen corresponde a la magnitud del error.

Sensibilidad.

La sensibilidad de un método analítico corresponde a la mínima cantidad de analito que puede producir un resultado significativo. Se debe diferenciar claramente entre dos tipos de sensibilidad:

- a. **Sensibilidad de calibración**, correspondiente a la pendiente de la curva de calibración.

- b. **Sensibilidad analítica**, correspondiente al cociente entre la sensibilidad de calibración y la desviación estándar de la medida.

Resulta claro que dos técnicas o la misma técnica empleada para diferentes matrices, pueden tener la misma sensibilidad de calibración, pero diferente sensibilidad analítica debida a factores propios como necesidad de extracción, concentración, etc.

Los parámetros a definir al evaluar la sensibilidad de un método son los límites de detección y de cuantificación.

Límite de detección corresponde, según la USP, a la menor concentración de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra, en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración (% , ppm, ppb, etc.). Su determinación puede efectuarse por comparación con la respuesta de un blanco o placebo, siendo positiva cuando la señal supere la relación señal/ruido en un factor de 2 ó 3 (según el criterio del analista).

Límite de cuantificación corresponde, según la misma referencia, a la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables en las condiciones establecidas y se expresa también en unidades de concentración. En este caso, generalmente se mide la señal de fondo (relación señal/ruido), efectuando mediciones repetidas sobre un blanco o placebo, se mide su desviación estándar y se calcula el límite de cuantificación multiplicando esa desviación estándar por un factor, generalmente igual a 10. el valor resultante se valida por análisis de un número variable de muestras de concentración cercana al límite fijado.

Dado que la determinación de los límites de detección y cuantificación supone un trabajo importante, en general sólo se efectúa para el análisis de impurezas o trazas o cuando el rango analítico se encuentra muy próximo al límite de detección. En caso contrario, sólo se estudia la

precisión y exactitud en la menor concentración probable de analito, por extrapolación a concentración cero:

1. Se determina la pendiente de la curva de calibración (concentración / respuesta) en el rango apropiado: **b**.
2. Se obtiene otra curva de calibración, inyectando cada punto por triplicado, pero en este caso para concentraciones menores de analito, determinándose la ecuación de esta nueva recta de calibración y se extrapola la respuesta a concentración cero, obteniéndose un estimado de la respuesta del blanco: Y_{bl} .
3. Se determina la desviación estándar correspondiente a cada concentración del punto 2, se calcula la recta correspondiente a concentración / s y se extrapola como en el caso anterior la desviación estándar a concentración cero, obteniéndose el estimado S_{bl} , correspondiente a la desviación estándar del blanco.

Se calcula el límite de detección (3 desviaciones estándar del blanco) y el límite de cuantificación (10 desviaciones estándar del blanco) para n' medidas individuales como:

$$\text{Límite de detección} = \frac{Y_{bl} + 3 S_{bl}}{b} \cdot \frac{1}{\sqrt{n'}}$$

$$\text{Límite de cuantificación} = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b} \cdot \frac{1}{\sqrt{n'}}$$

Robustez.

La robustez de un método analítico corresponde a los estudios que indican el grado de confiabilidad del ensayo ante cambios de variables comunes (Youden, 1975). Estos cambios pueden ser ligeras diferencias operativas, de equipos, analistas, laboratorios, fuente de columnas, etc. Frecuentemente, este estudio se realiza retrospectivamente, a partir de los resultados históricos obtenidos en diferentes condiciones, pero en el caso de métodos nuevos, es conveniente que el estudio sea efectuado por el laboratorio emisor de la técnica.

Es evidente que un método debe ser “robusto” (reproducible) frente a cambios de analistas o instrumentos, pero no necesariamente debe serlo frente a todos los cambios que se estudien. Así, es de esperar que la modificación de algún factor, por ejemplo el pH de la fase móvil, produzca en algún caso cambios drásticos en la separación, en este caso, se intentará trabajar con un valor de pH tal que una ligera modificación no produzca cambios importantes. Si esto no es posible, se informará dentro del texto del método en cuestión que el valor de pH de la fase móvil es crítico para la separación, indicando el rango en el cual es posible variarlo sin producir alteraciones en los resultados.

En contrapartida, cuando algún factor no resulte crítico para la separación (típicamente el contenido de modificador orgánico de la fase móvil), es posible indicar dentro del texto del método que su proporción puede modificarse para asegurar la separación deseada.

En HPLC deberá estudiarse la eventual variación de resultados (precisión, resolución, eficiencia, asimetría, etc) ante cambios de variables tales como columna (fuente, tipo de películas, longitud, número de inyecciones), cambios de pH, de temperatura, de composición de la fase móvil, etc., así como el intervalo entre la preparación de la solución a inyectar y la inyección misma.

En la selección de variables a considerar debe utilizarse todo el conocimiento ya adquirido durante el desarrollo analítico para minimizar el número de ensayos a realizar. En un diseño normal de “una variable por vez”, el estudio de 5 variables resultaría en $2^5 = 32$ ensayos. Por eso, cuando los factores a evaluar en el estudio de robustez son muchos, se recurre a un diseño global que permite agruparlos, reduciendo el número de ensayos a efectuar.

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACELERADA: Disposiciones Generales.

Para los efectos de autorización y registro de todo producto farmacéutico que se importe, fabrique y distribuya en el país, es requisito indispensable la presentación de un estudio de estabilidad, el cual deberá cumplir en su totalidad las disposiciones que reglamentan esta actividad en nuestro país; las cuales están contenidas en el anteproyecto de la futura norma nacional (Anexo N° 1).

Al momento de someter el producto a registro, el interesado deberá presentar a la autoridad sanitaria el diseño del estudio de estabilidad para al menos 24 meses, adjuntando los resultados de al menos 6 meses de estudio.

El período de eficacia de un producto farmacéutico deducido de un estudio de estabilidad en condiciones aceleradas tendrá el carácter de tentativo.

El período de eficacia definitivo de un producto farmacéutico podrá ser deducido únicamente en un estudio de estabilidad a tiempo real y, cualquiera sea el método aplicado no podrá ser superior a 5 años, para cualquier forma farmacéutica.

Los estudios de estabilidad deberán realizarse en el lugar de fabricación del producto farmacéutico.

Para efectos de registro, los estudios pueden ser llevados a cabo en lotes de desarrollo, con el fin de obtener el período de eficacia tentativo. Posteriormente, se deberá presentar los estudios a tiempo real realizados en el laboratorio fabricante, acompañando el diseño respectivo.

El período de eficacia será probado para cada laboratorio fabricante.

Para los productos farmacéuticos que deban reconstituirse al momento de uso, se deberá presentar además un estudio de estabilidad de la forma reconstituida.

Para los productos farmacéuticos con la misma forma farmacéuticas y diferente dosificaciones y fórmulas cualitativas que la autoridad sanitaria considere equivalentes, se aceptará la presentación de estudios de estabilidad para la dosificación más alta y más baja, no necesitando estudios de estabilidad para las dosificaciones intermedias.

Para solicitar ampliación de período de eficacia se debe adjuntar resultados a tiempo real para el período solicitado de acuerdo al diseño presentado al momento de registro, o se puede presentar un estudio de estabilidad acelerado que permita deducir un período de eficacia tentativo.

Para productos ya registrados en el país al momento de entrar en vigencia la normativa, que soliciten ampliación de período de eficacia, el estudio de estabilidad debe cumplir con todos los requisitos expuestos a excepción del diseño.

Las modificaciones a la fórmula requieren cumplir con todas las presentes disposiciones para la asignación del período de eficacia a la nueva fórmula, salvo que se demuestre que la modificación no altera la estabilidad del producto.

Para optar a períodos de eficacia superiores al mínimo cuando se solicite un nuevo tipo de envase, será indispensable presentar un estudio de estabilidad que avale que el producto mantiene, sus condiciones físicas, químicas, biológicas y microbiológicas en el nuevo envase. La

presentación de estudios de estabilidad del principio activo es obligatoria para aquellos principios activos que sean innovadores en el país, con el fin de determinar la estabilidad intrínseca del mismo.

Realización de los estudios de estabilidad.

Se deben considerar los factores más importantes que pueden influir en el grado y velocidad de deterioro de los productos farmacéuticos. En el Anexo N° 3, Tablas 2 – 5, se muestran las diferentes características de estabilidad importantes a considerar para las distintas formas farmacéuticas que sean objeto de estudios de estabilidad.

Previo a la realización de un estudio de estabilidad se debe considerar la elaboración de un diseño de estabilidad que debe incluir los antecedentes de los lotes, de las condiciones del estudio y de las características a evaluar y tiempos de análisis proyectados. En el Anexo N° 3, Tabla 6, se presentan los modelos de diferentes estudios de estabilidad tipo.

Los estudios de estabilidad pueden estar dirigidos a analizar el principio activo o un producto terminado, cuyas condiciones para cada caso se muestran detalladamente en el Anexo N° 1, incluyendo los tipos de estudios, las condiciones de almacenamiento para cada caso, frecuencia de evaluación, la tolerancia de las condiciones de almacenamiento y los requisitos para la presentación formal del estudio de estabilidad ante el ISP.

Por último al momento de ser presentados los estudios ante la autoridad, éstos deben consignar todos los datos de estabilidad importantes recopilados a través de él y estar presentados de manera completa. En el Anexo N° 3, Tabla 7, se ejemplifica un modelo de tabla de resultados y los datos que ésta debe presentar.

MINOCICLINA: AGENTE ANTIMICROBIANO.

Historia de las Tetraciclinas.

El desarrollo de los antibióticos tetraciclínicos fue el resultado de una búsqueda sistemática en muchas partes del mundo de especímenes de microorganismos productores de antibióticos. El primero de estos compuestos, la clortetraciclina, fue introducida en 1948. Muy pronto luego de su desarrollo oficial, las tetraciclinas fueron reconocidas como altamente efectivas en contra de *rickettsiae*, un número de bacterias gram negativa y gram positivas y la especie de *chlamidia* responsable del linfogranuloma venéreo, conjuntivitis inclusión y psitacosis y desde entonces se llegaron a conocer como antibióticos de “amplio espectro”. Con el esclarecimiento de su actividad antibiótica in-vitro, efectividad en infecciones experimentales y propiedades farmacológicas, las tetraciclinas rápidamente llegaron a ser ampliamente utilizadas en terapia (Dowling, 1955; Lepper, 1956). Aunque hay diferencias específicas y útiles en el uso entre las diferentes tetraciclinas disponibles en la actualidad, existen suficientes similitud entre éstas para permitir una discusión acerca de ellas como un grupo. (Goodman Gilman, 1996).

Origen y química.

La tetraciclina es producida por el *streptomyces aureofaciens* (clortetraciclina) y de ella deriva el semisintético oxitetraciclina. Su nombre se origina por tener en su estructura 4 anillos bencénicos fusionados. Los diferentes representantes de este grupo se diferencian entre sí, por los radicales que contiene el grupo químico básico. (Goodman Gilman, 1996).

En el Anexo N° 2, Esquema 2, se muestra la estructura base de las tetraciclinas, así como los sustituyentes y su posición para cada congénere.

Efecto sobre microorganismos.

Las tetraciclinas poseen un amplio rango de actividad antibiótica, en contra de bacterias aeróbicas y anaeróbicas gram negativas y gram positivas. Son también efectivas en contra de algunos microorganismos con resistencia a agentes antimicrobianos activos sobre la pared celular tales como: *rickettsia*, *coxiella burnetii*, *micoplasma pneumoniae*, *chlamydia spp*, *legionella spp*, *ureoplasma*, algunas micobacterias atípicas y *plasmidium spp*; tienen escasa actividad contra fungi.

Estas drogas son generalmente bacteriostáticas y la sensibilidad o resistencia de un microorganismo particular es similar para cada uno de los congéneres. Se debe enfatizar que se encuentran disponibles para uso sistémico sólo demeclociclina, tetraciclina, minociclina y doxiciclina. La clortetraciclina y oxitetraciclina son usadas en preparaciones oftálmicas. La metaciclina esta disponible sólo en algunos países. (Goodman Gilman, 1996).

Las drogas más lipofílicas (minociclina, doxiciclina) usualmente son las más efectivas seguidas por la tetraciclina. Muchos tipos de bacterias que son inhibidos por $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ de tetraciclina son considerados sensibles. Excepciones a esta concentración mínima inhibitoria (CMI) son: *haemophilus influenzae* y *streptococcus pneumoniae*, ambos considerados sensibles a $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ y *nesisseria gonorrhoeae*, considerada sensible a $\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$. (Goodman Gilman, 1996).

Mecanismo de acción.

Son bacteriostáticos, inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas, se unen reversiblemente a la unidad 30S del ribosoma bacteriano, bloqueando el paso de aminoacil-ARNt al sitio aceptor en el complejo ribosomal, bloqueando la sumatoria de aminoácidos a los polipéptidos (Anexo N° 2, Esquema 3). Pueden llegar a bactericida en altas concentraciones.

Mecanismos de resistencia.

La resistencia bacteriana a las tetraciclinas se debe principalmente a que el antibiótico no se concentra en el interior del microorganismo. Esta incorporación alterada del antibiótico se relaciona con la síntesis de una proteína de membrana externa, la cual favorece la excreción activa del medicamento.

Absorción, distribución y excreción, vías de administración y dosis.

Existen diferencias en la actividad y farmacocinética de este grupo, siendo la doxicilina y la minociclina las con mayor actividad, vida media más prolongada y son mejores toleradas. La doxicilina y la minociclina son semisintéticos pero son más caros. La minociclina se usa un poco menos que la doxiciclina probablemente porque es un poco más tóxica, pudiendo producir en algunos casos un síndrome de depresión medular.

Se pueden administrar vía oral y parenteral. Es difícil conseguir para uso parenteral. El uso intramuscular no está indicado por ser muy irritativo y además errático.

Tienen amplia distribución, pasa a todos los tejidos y líquidos. Pasan a LCR pero necesitan una concentración plasmática mucho más alta para el paso eficaz y llegada a las meninges. En la encía y en el surco gingival alcanza concentraciones incluso superiores a las concentraciones plasmáticas.

Se absorben adecuada pero incompletamente, tanto en el estómago como en el intestino. No se biotransforman, el fármaco se elimina en forma activa. Al parecer un pequeñísimo porcentaje de minociclina se conjuga, pero no está comprobado. La tetraciclina pasa a la circulación enterohepática y en importante proporción a las heces; la doxiciclina al igual que la minociclina además tiene buena llegada a infecciones del ojo y mucosa bucal. Los alimentos

interfieren la absorción, por lo que deben administrarse lejos de la comidas (tetraciclina). La doxiciclina no se ve alterada en su absorción y la minociclina mejora su absorción con los alimentos. Con la leche y sus derivados (especialmente yogurt) se forman compuestos insolubles llamados quelatos de calcio, hierro, cinc, magnesio. Al formarse los quelatos de tetraciclina se pierde la actividad antibiótica. La doxiciclina también forma quelatos pero en menor proporción (Internet¹). En la Tabla 8 se presentan comparativamente los parámetros farmacológicos de las distintas tetraciclinas.

Usos terapéuticos

- Infecciones por Rickettsias (linfogranuloma venéreo).
- Es el tratamiento de elección en las infecciones producidas por *Brucella*.
- Tratamiento de mantención en bronquitis crónicas reagudizadas y de las neumonías intersticiales producidas por *Mycoplasma pneumoniae*.
- Infecciones por *Chlamydia*s, enfermedades de transmisión sexual.
- Epidemias de Cólera.
- Infecciones de tracto urinarios (como 3ª o 4ª indicación después de Penicilina, Cefalosporina y Quinolonas).
- Actinomicosis.
- Infecciones periodontales.
- Moderadamente eficaz en el tratamiento del acné vulgaris, en uso tópico.
- La Minociclina está indicada en el tratamiento de diversas formas de acné: quístico y pustuloso (grados II y III), celulitis, dermatitis infectadas y abscesos. Como

¹ Internet, http://www.lafacu.com/apuntes/medicina/clor_tetr/

clorhidrato de minociclina es un potente antibiótico semisintético con especificidad sobre gran variedad de microorganismos, gram positivos y gram negativos: se ha comprobado que tiene acción especial contra *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium acnes* y *Staphylococcus albus*, habitualmente agentes causales del acné.

OBJETIVOS GENERALES.

- Desarrollo de una técnica analítica para un principio activo aplicando parámetros de desempeño sugeridos por la USP 23, USP 24 u otra fuente bibliográfica confiable para la certificación y validación de dicha técnica con la finalidad de pronosticar el período de vida útil para una formulación farmacéutica en estudio.
- Desarrollo del Seminario de Investigación Científica: “Diseño, desarrollo y ejecución de un estudio de estabilidad acelerada para comprimidos de minociclina de 50mg y 100mg” desarrollando para este fin una técnica analítica validada y confiable para la determinación del principio activo por el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y pronosticar el período de vida útil para esta formulación en estudio, diseñada por el área de Desarrollo de Laboratorio Bagó S.A.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Desarrollar y validar una metodología analítica para el análisis del principio activo minociclina, que demuestre ser selectiva, exacta y precisa y que cumpla con los parámetros de desempeño exigidos por la Farmacopea de los Estados Unidos USP 23 y 24.
- Ofrecer evidencia documentada de que el método desarrollado realiza lo que se pretende, en forma fiable y reproducible lo cual es la base de un sistema de aseguramiento de la calidad en un laboratorio analítico.
- Interpretación de resultados y aplicación de metodología estadística para la evaluación de los parámetros considerados para la validación de la técnica.
- Entrenamiento en la preparación de muestras y uso de equipamiento existente en el laboratorio de Control de Calidad, con especial atención en el equipo HPLC con detector con arreglo de diodos, equipo de test de disolución, durómetro.
- Profundizar y actualizar los conocimientos referentes a:
 - Las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
 - Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
 - Espectrofotometría UV.

3. MATERIALES Y METODOS

MATERIALES.

1. Lotes piloto de comprimidos de minociclina:

Cuya composición esta descrita en el Anexo N° 3, Tablas 9 – 16, al igual que sus características de núcleo, características del comprimido recubierto y su tipo de envase primario.

2. Materias primas utilizadas para las determinaciones analíticas:

<u>Materia Prima:</u>	<u>Cantidad</u>
Estándar de Minociclina (como clorhidrato)	c.s.p.
N° de análisis 347; Cuaderno 33, folio 13 y 17	
Potencia: 83,43%	
Copovidona (Kollidon VA 64)	10 g.
Crospovidona (Kollidon CL)	10 g.
Celulosa microcristalina (Avicel PH 102)	10 g.
Estearato de magnesio	10 g.
Hidroxipropilmetilcelulosa (Methocel E 15)	10g.
Dioxido de titanio	10 g.
Polietilenglicol 4000	10 g.
Colorante laca alumínica amarillo N°6	2 g.

3. Equipos:

1.- Cromatógrafo líquido de alta resolución Hewlett Packard compuesto:

- Bomba modelo G1311A con sistema de gradiente
- Detector con arreglo de diodos modelo G1315B
- Automuestreador modelo G1313A
- Compartimento para columna termostatzado G1316A
- Software ChemStation A.08.01
- Columna: Luna RP C-18 300 mm x 4,6 mm (5 μ m).

2.- Cromatógrafo líquido de alta resolución Merck Hitachi LaChrom compuesto por:

- Bomba modelo L-7100 con sistema de gradiente.
- Detector con arreglo de diodos modelo L-7450.
- HPLC System Manager D-7000.
- Columna: Luna RP C-18 300 mm x 4,6 mm (5 μ m).

Los programas para el manejo del detector con arreglo de diodos tienen dos módulos:

- El módulo editor, que permite crear, editar y mantener una biblioteca de espectros de UV, obtenidos a partir de cromatogramas de compuestos conocidos o bien producto de reacciones controladas, en determinadas condiciones (composición de la fase móvil, pH, etc).
- El módulo de búsqueda que compara el espectro UV del compuesto desconocido con los de la biblioteca y lo califica con un factor de correlación que puede estar entre 1.000

(espectros idénticos) y 0.000. Así, un factor 0.990 indica una diferencia espectral del 1%, un factor 0.98 del 2%, etc.

- 3.- Durómetro Pharma Test modelo PTB 311.
- 4.- Equipos para Test de disolución:
 - Pharma Test modelo PTW3
 - Hansen Research modelo SR-8 PLUS 8-S
- 5.- Aparato para test de desintegración. Hanson Research modelo 64-700-136.
- 6.- Baño Ultrasonido.
 - Transsonic modelo T 460/H.
 - Aquasonic modelo 250D.
- 7.- Balanza analítica digital.
 - Sartorius modelo A 200 S.
 - Sartorius modelo BP 210 S.
- 8.- pH-metro
 - Metrohm modelo E 603/1.
 - Hanna modelo 8418.

4. Reactivos y Soluciones.

- 1.- Fosfato monopotásico p.a.
- 2.- Fosfato dipotásico p.a.
- 3.- HCl concentrado p.a.
- 4.- Metanol, grado HPLC.
- 5.- Acetonitrilo, grado HPLC.
- 6.- Ácido fosfórico concentrado.
- 7.- Peróxido de Hidrógeno 30%.
- 8.- Hidróxido de Sodio.

MÉTODOS:

▪ Para el Desarrollo del Método Analítico.

Para el diseño de un método analítico y su utilización para realizar un estudio de estabilidad acelerada de un nuevo producto, se procedió a hacer una revisión bibliográfica y discusión con los químicos farmacéuticos a cargo del área sobre literatura referente a cromatografía de alta resolución, los protocolos de validación de metodologías analíticas internos de Laboratorio Bagó Chile S.A., índices de análisis de drogas y otros textos tales como la USP 23 y 24 y textos relacionados. Esta etapa contempló una extensa revisión de las normativas nacionales vigentes, las cuales exigen que los medicamentos que se utilizan en el país cumplan con las condiciones de identidad, efectividad, potencia, pureza, inocuidad y otras especificaciones de su monografía durante el tiempo que se encuentre en el mercado y durante su período de uso. Todo esto a la par de un conocimiento del área de Control de Calidad y un manejo supervisado de sus equipos.

Para desarrollar una técnica analítica por el método HPLC es fundamental la identificación de las condiciones cromatográficas más adecuadas para el producto en análisis, en este caso comprimidos recubiertos de minociclina de 50mg y 100mg. Se deben aplicar los parámetros de desempeño de una técnica analítica según USP 24 con el fin de lograr validar la técnica, es decir, que ésta demuestre ser exacta, precisa, selectiva y lineal y por lo tanto apta para realizar el estudio analítico para la cual fue diseñada.

▪ **Para la Validación del Método Analítico.**

Una de las partes más importantes de la implementación de un método de análisis es la validación, que corresponde a la obtención de pruebas, convenientemente documentadas, demostrativas de que un método analítico es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de los intervalos definidos.

El validar un método analítico proporciona un alto grado de confianza y de seguridad en el método analítico y en la calidad de los resultados, así como también permite un conocimiento profundo de sus características de funcionamiento. Esto permite obtener una disminución de números fallos y repeticiones con el consiguiente ahorro de los costos asociados, así como también dar cumplimiento de los plazos previstos para el análisis. Al optimizar el método, por ejemplo, se mejora las características de practicabilidad y posibilidades de automatización. (Castro, 1995; Torroba, 2000).

Los parámetros generalmente considerados para la validación son: Linealidad, Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad), Exactitud/Recuperación, Sensibilidad (Límite de detección y Límite de cuantificación) y Selectividad. (Castro, 1995; Torroba, 2000).

Para lograr la validación de la metodología aplicada para la realización del estudio de estabilidad acelerado se procedió según el P.O.S. Instructivo de Control de Calidad: “Desarrollo y Validación de Metodología Analítica por HPLC”, documento incluido en el Anexo N° 4 del presente trabajo.

▪ **Para el Estudio de Estabilidad Acelerado.**

Las condiciones cromatográficas para determinar minociclina fueron establecidas a partir de la literatura de referencia consultada (Xu, Quanyun A.) la cual fue montada y adaptada según los resultados cromatográficos que se obtuvieron. De esta forma, se llegó a las condiciones definitivas, metodología sobre la cual se realizó la validación. En el Anexo 3 se presentan los distintos cromatogramas obtenidos desde el montaje de las condiciones originalmente descritas por la referencia, hasta la definitiva validada y las modificaciones que se le hicieron para mejorar sus resultados.

Posterior a la validación de la metodología analítica se realizó el estudio de estabilidad acelerada sobre comprimidos de minociclina de 50mg y 100mg.

Para la realización del estudio de estabilidad acelerada, el jefe de Desarrollo del laboratorio de Control de Calidad procedió a someter a condiciones de envejecimiento acelerado de los lotes piloto de minociclina elaborados por el área de Desarrollo e Investigación para este fin:

- Minociclina comprimidos recubiertos 100mg correspondiente a los lotes:
 - P00071201–1 (6 blister de 10 comprimidos c/u para cada condición de T°, T°/H.R. a los tiempos 1, 2 y 3 meses).

- P00071201-2 (6 blister de 10 comprimidos c/u para cada condición de T°, T°/H.R. a los tiempos 1, 2 y 3 meses).
- P00071201-3 (6 blister de 10 comprimidos para cada condición de T°, T°/H.R. a los tiempos 1, 2 y 3 meses).
- Minociclina comprimidos recubiertos 50mg correspondiente al lote:
 - P00071201-A (Condiciones Iniciales).

Todas las muestras para envejecimiento acelerado en su envase primario: Blister PVC ámbar / aluminio impreso.

Cada lote piloto, en adelante denominados lote (-1), lote (-2) y lote (-3) respectivamente, fueron sometidos a condiciones de temperatura (T°) y temperatura/humedad (T°/H.R.), condiciones de envejecimiento forzado controladas durante los períodos de tiempo determinados, tal como se indica en el Anexo N° 3, Tabla 17, para posteriormente ser analizados de acuerdo a la metodología analítica validada para realizar el estudio de estabilidad, la que a continuación se detalla:

Metodología Analítica: Minociclina 100mg Comprimidos Recubiertos

- **Determinación Minociclina por HPLC. Valoración.**

1. Preparación de soluciones.**Solución buffer pH 6,5**

Pesar exactamente alrededor de 11,41 g de $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ para un litro de buffer. Transferir a matraz volumétrico de 1 litro y disolver con 800 mL de agua destilada. Ajustar a pH 6,5 con ácido fosfórico concentrado y completar a volumen con agua destilada.

Solución buffer pH 4,0

Pesar exactamente alrededor de 1,38 g de $NaH_2PO_4 \times H_2O$ para 1 litro de buffer. Transferir a matraz volumétrico de 1 litro y disolver con 800 mL de agua destilada. Ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico concentrado y completar a volumen con agua.

Agua pH 8,0

Ajustar agua a pH 8,0 con gotas de KOH diluido.

Solución stock de minociclina clorhidrato

Pesar exactamente alrededor de 54,0mg de minociclina clorhidrato (equivalente a 50,071mg de minociclina base) estándar y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. disolver sonicando durante 15 minutos. Homogenizar, enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1. (conc.: 0,54mg/mL minociclina clorhidrato).

Solución estándar de minociclina clorhidrato

Tomar 5 mL de la solución stock de minociclina clorhidrato y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. mezclar y homogeneizar (conc. minociclina clorhidrato 0,054mg/mL).

Solución muestra

Tomar 20 comprimidos y reducirlos a polvo fino.

Pesar exactamente alrededor de 207,8mg de polvo (100mg minociclina base) y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 200 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. disolver sonicando durante 15 minutos. Homogeneizar, enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1. Tomar una alícuota de 5 mL y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Completar a volumen con agua ajustada a pH 8,0.

2. Condiciones cromatográficas:

- Columna: Luna RP C-18 300 mm x 4,6 mm (5 μ m).
- Fase móvil: Buffer fosfato pH 6,5 / Acetonitrilo (65:35).
- Detector UV: 254 nm.
- Flujo: 1 mL / minuto.
- Inyección: 20 μ L
- T_R minociclina clorhidrato: $\sim$ 2,5 minutos.
- Suitability: RSD menor de 2% para 3 inyecciones repetidas.

3. Cálculos:

$$\text{mg Minociclina base / cp} = \frac{\text{PS} \times \text{Pot'S} \times \text{Pc} \times \text{RM} \times 2}{\text{PM} \times \text{RS}} \times \frac{457,5}{493,9}$$

Donde:

PS: Peso estándar minociclina clorhidrato (mg)

Pot'S: Potencia del estándar minociclina clorhidrato.

PM: Peso muestra tomada (mg).

RM: Área peak muestra.

RS: Área peak estándar.

Pc: Peso promedio comprimido (mg).

457,5: Peso molecular minociclina base.

493,9: Peso molecular minociclina clorhidrato.

Límites: el contenido de minociclina debe estar comprendido entre 90% - 110% de la cantidad declarada.

- **Uniformidad de dosis por peso.**

Pesar individualmente 10 comprimidos y calcular el peso promedio. Del resultado obtenido en la valoración de minociclina, calcular el contenido de minociclina en cada uno de los 10 comprimidos, asumiendo distribución homogénea de la minociclina.

Cumple especificaciones USP 23 ed, pág. 1838.

- **Test de Disolución Comprimidos de Minociclina 100mg:**

- Pesar y analizar 6 comprimidos individualmente.
- Medio / Volumen: Agua destilada / 900 mL
- Tiempo: 45 minutos.
- Aparato 2: 50 rpm.
- Tolerancia: $Q > 75\%$ (mínimo 37,5 mg / cp de minociclina base).
- Volumen de Inyección: 100 μ L.

1. Preparación de soluciones

Solución stock de minociclina clorhidrato.

Pesar exactamente alrededor de 60,0mg de minociclina clorhidrato (equivalente a 55,578mg de minociclina base) estándar y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. Disolver sonicando durante 15 minutos. Homogeneizar. Enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1 (conc.: 0,6mg/mL).

Solución estándar de minociclina clorhidrato.

Tomar 5 mL de la solución stock de minociclina clorhidrato y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. mezclar y homogenizar (conc.: 0,06mg/mL).

Solución muestra.

Transferir cuantitativamente e individualmente un comprimido (100mg de minociclina base), a cada uno de los vasos del equipo Test de Disolución que contienen cada uno 900 mL de

medio de disolución. Extraer muestra utilizando filtros Pharma test. Tomar una alícuota de 5 mL del medio previamente filtrado y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 10 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. Mezclar y homogeneizar .

2. Condiciones cromatográficas:

Utilizar las mismas condiciones cromatográficas usadas en la valoración.

3. Cálculos:

$$\text{mg Minociclina base/cp} = \frac{\text{PS} \times \text{Pot'S} \times \text{RM} \times 9}{\text{RS} \times 5} \times \frac{457,5}{493,9}$$

Donde:

PS: Peso estándar minociclina clorhidrato (mg)

Pot'S: Potencia del estándar minociclina clorhidrato.

RM: Área peak muestra.

RS: Área peak estándar.

457,5: Peso molecular minociclina base.

493,9: Peso molecular minociclina clorhidrato.

Criterios de aceptación: De acuerdo a USP 24 pág 1941.

Metodología Analítica: *Minociclina 50mg Comprimidos Recubiertos*

- **Determinación Minociclina por HPLC. Valoración.**

1. Preparación de soluciones**Solución buffer pH 6,5**

Pesar exactamente alrededor de 11,41 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ para un litro de buffer. Transferir a matraz volumétrico de 1 litro y disolver con 800 mL de agua destilada. Ajustar a pH 6,5 con ácido fosfórico concentrado y completar a volumen con agua destilada.

Solución buffer pH 4,0

Pesar exactamente alrededor de 1,38 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ para 1 litro de buffer. Transferir a matraz volumétrico de 1 litro y disolver con 800 mL de agua destilada. Ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico concentrado y completar a volumen con agua.

Agua pH 8,0

Ajustar agua a pH 8,0 con gotas de KOH diluido.

Solución stock de minociclina clorhidrato

Pesar exactamente alrededor de 54,0mg de minociclina clorhidrato (equivalente a 50,071mg de minociclina base) estándar y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. disolver sonicando durante 15 minutos. Homogenizar, enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1. (conc.: 0,54mg/mL minociclina clorhidrato).

Solución estándar de minociclina clorhidrato

Tomar 5 mL de la solución stock de minociclina clorhidrato y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. mezclar y homogeneizar (conc. minociclina clorhidrato 0,054mg/mL).

Solución muestra

Tomar 20 comprimidos y reducirlos a polvo fino.

Pesar exactamente alrededor de 103,9mg de polvo (50mg minociclina base) y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. disolver sonicando durante 15 minutos. Homogeneizar, enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1. Tomar una alícuota de 5 mL y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Completar a volumen con agua ajustada a pH 8,0.

2. Condiciones cromatográficas:

- Columna: Luna RP C-18 300 mm x 4,6 mm (5 μ m).
- Fase móvil: Buffer fosfato pH 6,5 / Acetonitrilo (65:35).
- Detector UV: 254 nm.
- Flujo: 1 mL / minuto.
- Inyección: 20 μ L
- T_R minociclina clorhidrato: ~ 4,5 minutos.
- Suitability: RSD menor de 2% para 3 inyecciones repetidas.

3. Cálculos:

$$\text{mg Minociclina base / cp} = \frac{\text{PS} \times \text{Pot'S} \times \text{Pc} \times \text{RM}}{\text{PM} \times \text{RS}} \times \frac{457,5}{493,9}$$

Donde:

PS: Peso estándar minociclina clorhidrato (mg)

Pot'S: Potencia del estándar minociclina clorhidrato.

PM: Peso muestra tomada (mg).

RM: Área peak muestra.

RS: Área peak estándar.

Pc: Peso promedio comprimido (mg).

457,5: Peso molecular minociclina base.

493,9: Peso molecular minociclina clorhidrato.

Límites: el contenido de minociclina debe estar comprendido entre 90% - 110% de la cantidad declarada.

- **Uniformidad de dosis por peso.**

Pesar individualmente 10 comprimidos y calcular el peso promedio. Del resultado obtenido en la valoración de minociclina, calcular el contenido de minociclina en cada uno de los 10 comprimidos, asumiendo distribución homogénea de la minociclina.

Cumple especificaciones USP 23 ed, pág. 1838.

- **Test de Disolución Comprimidos de Minociclina 50mg:**

- Pesar y analizar 6 comprimidos individualmente.
- Medio / Volumen: Agua destilada / 900 mL
- Tiempo: 45 minutos.
- Aparato 2: 50 rpm.
- Tolerancia: $Q > 75\%$ (mínimo 37,5 mg / cp de minociclina base).
- Volumen de Inyección: 100 μ L.

1. Preparación de soluciones

Solución stock de minociclina clorhidrato.

Pesar exactamente alrededor de 60,0mg de minociclina clorhidrato (equivalente a 55,578mg de minociclina base) estándar y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con solución buffer pH 4,0. Disolver sonicando durante 15 minutos. Homogeneizar. Enfriar y filtrar utilizando filtros Whatman #1 (conc.: 0,6mg/mL).

Solución estándar de minociclina clorhidrato.

Tomar 5 mL de la solución stock de minociclina clorhidrato y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. mezclar y homogenizar (conc.: 0,06mg/mL).

Solución muestra.

Transferir cuantitativamente e individualmente un comprimido (50mg de minociclina base), a cada uno de los vasos del equipo Test de Disolución que contienen cada uno 900 mL de

medio de disolución. Extraer muestra utilizando filtros Pharma test. Tomar una alícuota de 5 mL del medio previamente filtrado y transferir cuantitativamente a matraz volumétrico de 10 mL. Llevar a volumen con agua a pH 8,0. Mezclar y homogeneizar .

2. Condiciones cromatográficas:

Utilizar las mismas condiciones cromatográficas usadas en la valoración.

3. Cálculos:

$$\text{mg Minociclina base/cp} = \frac{\text{PS} \times \text{Pot'S} \times \text{Pc} \times 9}{\text{PM} \times \text{RS} \times 10} \times \frac{457,5}{493,9}$$

Donde:

PS: Peso estándar minociclina clorhidrato (mg)

Pot'S: Potencia del estándar minociclina clorhidrato.

RM: Área peak muestra.

RS: Área peak estándar.

457,5: Peso molecular minociclina base.

493,9: Peso molecular minociclina clorhidrato.

Criterios de aceptación: De acuerdo a USP 24 pág 1941.

Finalmente, y luego de cumplir el método analítico diseñado con los parámetros de desempeño necesarios para la validación según la USP 24, éste se debe documentar. Se desarrolla la documentación donde se describe con todo detalle, paso a paso, las etapas del proceso de validación. De la misma manera se documenta la metodología analítica recién descrita a la vez que los resultados del estudio de estabilidad acelerada para las formas farmacéuticas estudiadas. Por último se deben documentar las especificaciones para el producto para el cual fue desarrollada la técnica tal como se muestra en el Anexo N° 5.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se pueden dividir según la etapa del proceso del trabajo realizado, consignándose cada uno de estos pasos en la tabla índice incluida como Anexo N° 6. En el Anexo N° 7 se presentan cromatogramas obtenidos por la técnica analítica montada. A partir de las condiciones iniciales se obtuvieron los resultados mostrados en el Cromatograma 1; modificaciones posteriores se hicieron a esta técnica, con el fin de mejorarla según los resultados cromatográficos que se obtuvieron. Estas adaptaciones se muestran en los Cromatogramas 2 – 4; la técnica final modificada a la que se llegó, fue posteriormente validada.

1) Resultados de la Validación de Método Analítico.

Donde se procedió de acuerdo a lo descrito en el segundo punto de Métodos, para la validación de una metodología analítica. Los resultados obtenidos para cada uno de los criterios o parámetros analíticos a estudiar son:

Linealidad.

En el Anexo N° 3, Tabla 18, se presentan los resultados de las pruebas de linealidad para la inyección de 5 muestras de solución estándar por cada nivel de concentración porcentual estimada (50, 75, 100, 125 y 150%). En el Anexo N° 8, Gráfico 1, se muestra la gráfica obtenida al determinar este criterio (curva de calibración) además de los valores de pendiente, regresión lineal e intercepto según corresponde.

Test de linealidad para r

$$t \text{ de tabla para } n-2 = 3,182$$

$$t_{\text{r experimental}} = r \cdot \sqrt{(n-2) / \sqrt{(1-r^2)}} = 3,47 \times 10^{13}$$

Criterio de aceptación

La recta es lineal cuando el t experimental es mayor que el t de tabla

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula de no correlación, lo que significa que existe una correlación lineal significativa.

Test de linealidad para b

$$t \text{ de tabla para } n-1 = 2,776$$

$$t_b \text{ experimental} = 42418,04$$

Criterio de aceptación

La pendiente es lineal cuando el t experimental es mayor que el t de tabla

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula, lo cual significa que la pendiente es significativamente diferente de 0.

Test de linealidad para a

$$t \text{ de tabla para } n-1 = 2,776$$

$$t_a \text{ experimental} = 0,008291315$$

Criterio de aceptación

Si $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$ no existe diferencia significativa entre el valor obtenido y 0.

Intervalo $(-0,2 - 0,2)$ incluye 0, por lo tanto se cumple la condición de proporcionalidad.

Precisión.

En el Anexo N° 3, Tabla 19, están presentados los valores de RSD para cada medición.

Con un criterio de aceptación de RSD no superior a 2% queda demostrada que la técnica es precisa para 5 inyecciones de solución estándar de minociclina. En el Anexo N° 9 se presentan ejemplo de los cálculo de los valores de RSD para exactitud.

Exactitud.

En el análisis de exactitud/recuperación, el porcentaje de recuperación del analito, como se puede apreciar en la Tabla 20, es de un 100.64%, lo cual para el nivel de concentración al cual se trabajó es aceptable, ya que el intervalo de aceptabilidad va de un 98 a un 102%. Por lo que se puede concluir que el método tiene una recuperación aceptable y por lo tanto una exactitud aceptable.

$$t_{\text{experimental}} = 2,021 \text{ (valor absoluto)}$$

$$t_{\text{tabla}} = 2,306$$

Criterio de aceptación

Si $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$ no existe diferencia significativa entre la media y el valor real, por lo que el método tiene la exactitud requerida.

Selectividad.

En el Anexo N° 3, Tabla 21, se muestran los resultados para los pruebas de selectividad realizadas; según éstos, éste método analítico es capaz de medir el analito en presencia de interferencias producto de la aparición de productos de degradación en la muestra.

De acuerdo a los resultados obtenidos se validó la técnica analítica, ya que se cumplieron los parámetros exigidos por la USP 24 para este fin.

2) Resultados del Estudio de Estabilidad Acelerada.

Se procedió de acuerdo a lo descrito en el tercero punto de Métodos, para el estudio de estabilidad acelerado. Los resultados obtenidos para el análisis por la técnica en HPLC validada para este fin para cada uno de los lotes pilotos de minociclina sometidos a las pruebas de envejecimiento acelerado a estudiar, están incluidos en el Anexo N° 3, Tablas 22 – 36. En ellas se describe el lote, la condición y el tiempo durante al cual fue sometido y los parámetros evaluados tales como: aspecto, dureza, valoración de minociclina (%) y valores obtenidos para los test de disolución efectuados sobre los lotes que fueron sometidos una condición dada durante 3 meses.

El procedimiento con el cual se obtuvieron los resultados presentados en este estudio de estabilidad está basado en las recomendaciones hechas por distintos organismos internacionales oficiales para estabilidad, tal como la OMS y su 34° Informe del Comité de Expertos en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas, documento fundamental en que se basa el nuevo anteproyecto de norma en que el ISP está trabajando en la actualidad para adoptar en nuestro país como se comenta en la introducción de este trabajo.

Finalmente en el Anexo N° 6 se presenta el índice de los análisis efectuados durante todo el proceso recién mencionado, incluyendo las fechas de realización, el número de análisis correspondiente, el nombre del operario y en nombre del ensayo en que se enmarca cada uno de los análisis llevados a cabo. En el Anexo N° 10 se incluye una hoja de registro de cálculos, utilizada durante todo el proceso de validación y estudio de estabilidad acelerado, perteneciente al área de Control de Calidad de Laboratorios Bagó de Chile S.A.

5. DISCUSION

Las normativas vigentes nacionales exigen que los medicamentos que se utilizan en el país cumplan con las condiciones de identidad, efectividad, potencia, pureza, inocuidad y otras especificaciones de su monografía durante el tiempo que se encuentre en el mercado y durante su período de uso y vida útil. Esta disposición es acorde con la premisa que se empleó al plantear este trabajo: el hecho de que las preparaciones farmacéuticas, aún cuando estén correctamente fabricadas, sufren alteraciones físicas y químicas a través del tiempo.

La importancia de predecir el período de vida útil, radica en que si aseguramos el tiempo en que el medicamento cumplirá con los parámetros de eficacia, potencia y seguridad con los cuales fue diseñado, cumplirá así la acción terapéutica deseada y no producirá posibles efectos adversos y/o toxicidad debido a la degradación de el o los principios activos incluidos en la formulación.

Los estudios de estabilidad, tanto de estantería (o de tiempo real), como acelerados son importantes ya que permiten predecir en forma estimada el tiempo durante el cual un producto farmacéutico conservará sus propiedades dentro de las especificaciones descritas para éste. Las pruebas de envejecimiento acelerado ayudan a deducir el período tal en que el producto mantendrá su vida útil, sin embargo, esta información no es concluyente, aunque si valiosa como orientación. De esta manera, los laboratorios farmacéuticos para obtener el registro sanitario y comercializar un nuevo producto, deben realizar una serie de estudios, pruebas y ensayos con el fin de obtener la autorización por parte del Instituto de Salud Pública.

El trabajo realizado se basó en el diseño y ejecución de uno de estos estudios de estabilidad para productos farmacéuticos, con lo cual se pudo poner a prueba la destreza obtenida tanto en el trabajo al interior del laboratorio analítico donde se realizó el internado como también

los conocimientos adquiridos a lo largo del estudio universitario de la carrera de Química y Farmacia, logrando cumplir los objetivos primordiales del seminario de investigación científica trazados en el anteproyecto formulado para este fin. Conjuntamente se ha profundizado en el trabajo de análisis químico, logrando un buen desempeño dentro de un laboratorio químico, en este caso uno de control de calidad.

Se logró profundizar en el conocimiento de que las formas farmacéuticas sufren alteraciones y que son factores críticos en este proceso las condiciones de almacenamiento a las cuales son sometidas. De esta manera se visualiza la gran importancia que tiene la labor de información a los pacientes-consumidores acerca del manejo adecuado que deben tener con un medicamento una vez que éste está en su poder, con el fin de mantener sus propiedades inalteradas y su potencia como fármaco. Es fin primordial entonces, la educación en este sentido como parte primordial de una buena y completa atención farmacéutica.

Se consignó en terreno que el laboratorio donde se realizó el trabajo se ciñe a las normas vigentes en este sentido y está en un proceso de constante actualización y mejoramiento con el objetivo como institución de cumplir con las disposiciones que rigen en este sentido en nuestro país.

De la misma manera, es provechoso para un alumno estar en un contexto de cambio y de mejoramiento constante, porque es de esta manera como queda clara la necesidad profesional y ética de estar siempre al tanto de las últimas innovaciones que buscan obtener como resultado productos de excelencia y de calidad. Un laboratorio productor de medicamentos es un eslabón muy importante en el proceso del cuidado de la salud en un país, fabricando medicamentos de alta calidad, que sean potentes y efectivos, en formas farmacéuticas estables y que retarden o

eviten posibles alteraciones en sus componentes, que puedan causar la ineffectividad del medicamento o la aparición de productos de degradación potencialmente tóxicos en ellos.

Por otra parte, la validación de una técnica analítica realizada fue exitosa al cumplir ésta con los parámetros y características de desempeño establecidos como necesarios para este fin, basándose en criterios sugeridos por diferentes fuentes oficiales, tales como USP 23, USP 24 e informes técnicos elaborados por comités de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El estudio de estabilidad llevado a cabo fue de tipo acelerado y se logró completar satisfactoriamente para la forma farmacéutica en estudio y elaborar un documento con las especificaciones del producto estudiado, en el cual figuran todas las características físicas del producto así como la técnica analítica por HPLC diseñada para su determinación. La técnica analítica queda registrada, siendo descrita con detalle, tanto en el aspecto instrumental de ella, como en el aspecto de preparación de las muestras para análisis. Toda la información obtenida queda documentada y pasa a formar parte del expediente sobre el nuevo producto solicitante de registro ante el ISP y de los archivos de producto del área de Control de Calidad de Laboratorio Bagó Chile S.A.

Basándose en los resultados del estudio de estabilidad realizado, para los comprimidos de minociclina recubiertos de 50mg y 100mg se puede aspirar a obtener una fecha de expiración de 24 meses; esto debido a las características propias de estabilidad de la forma farmacéutica estudiada (forma farmacéutica sólida) y por los criterios existentes en la actualidad para la evaluación y asignación de períodos de vida útil para éstas, siempre de acuerdo al modelo de estudio de estabilidad utilizado, en este caso el acelerado FDA, tal como está representado Anexo N° 3, Tabla 6. De esta manera, para el producto estudiado se puede optar a los 24 meses como

tiempo de vida útil, el cual, según el criterio utilizado, es el máximo posible para cualquier tipo de forma farmacéutica.

Finalmente, cabe destacar la importante experiencia adquirida en el manejo de equipos e instrumental propios de un laboratorio analítico, con especial atención en el HPLC, técnica en la cual se abordó la metodología para determinar el principio activo en estudio. Las destrezas adquiridas son valiosas tanto en la operación del equipo como en la profundización sobre los fundamentos de la técnica, así como de la forma correcta en que éstas se deben montar y los procedimientos adecuados de preparación de muestras. De la misma manera se perfeccionó en las técnicas de trabajo con solventes aptos para la preparación de las muestras, el uso de columnas y el manejo e interpretación de la información obtenida a través del instrumental y su terminal computacional.

CONCLUSIONES Y PROYECCIONES.

- Se desarrolló y validó un método cromatográfico por HPLC para la determinación y cuantificación de minociclina, que cumple con los parámetros exigidos para una técnica analítica tales como: Exactitud, Precisión, Linealidad, Selectividad, Especificidad.
- Se realizó un estudio de estabilidad acelerada para un nuevo producto con el principio activo minociclina en la forma farmacéutica comprimidos recubiertos de 50mg y 100mg, de acuerdo a los parámetros para la realización de estudios de estabilidad considerados en la elaboración de la futura norma que regirá la realización de este tipo de estudios, los cuales son requisito presentar ante el ISP para la solicitud de apertura de registro para una nueva forma farmacéutica o bien, la re-formulación de una ya existente.
- A partir de los resultados obtenidos se puede pronosticar el período de vida útil del producto estudiado que en este caso fue de mayor que 24 meses. Caso ante el cual se puede solicitar al ISP una fecha de expiración de 24 meses para el nuevo producto la cual quedará constatada en su registro sanitario.
- La importancia del trabajo realizado radica en que los estudios de estabilidad, tanto a tiempo real como acelerados, son una herramienta necesaria e indispensable en la determinación de las propiedades de las formas farmacéuticas, así como son un requisito fundamental para que un nuevo producto salga al mercado y pueda ser utilizado como un arma efectiva y segura en el proceso del cuidado de la salud.

- La apertura de registros de nuevos medicamentos está regida en nuestro país por la autoridad sanitaria, el ISP, que exige datos reales sobre los productos que los laboratorios nacionales e internacionales desean sacar a la venta en Chile. Con este fin, el ISP está pronto a sacar una nueva norma nacional en la cual han colaborado profesionales del área y con la cual se espera uniformar criterios acerca de la realización de estos estudios. Parte de este anteproyecto de norma está incluido en este trabajo, logrando convertirse en una buena referencia sobre lo que será el futuro marco regulador sobre este tema en nuestro país.
- Las condiciones de almacenamiento son críticas en lo que refiere a la estabilidad de medicamentos, es por esto que la industria farmacéutica debe preocuparse de elaborar formulaciones seguras y estables, así como de presentarlas en envases que aseguren que el medicamento entregado sea eficaz y potente y que cumpla con el período de vida útil establecido en los estudios de estabilidad realizados sobre él.
- La idea de este trabajo es que sirva a futuro como referencia a alumnos que deseen profundizar en temas relacionados al desarrollo de trabajos en el área profesional de industria farmacéutica, la cual está llena de desafíos para el futuro profesional, por ser esta un área en un constante proceso de mejoramiento de la calidad de los productos que elabora, lo que pone en un constante desafío a los profesionales químicos farmacéuticos que en ella se desempeñan.

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, Sección Catalana (1989). Validación de Métodos Analíticos.
- Castro, M., gascón, F., Pujol, M., Joseph, M., Sans, R., Pla, V. (1989). Validación de Métodos Analíticos. Monografía AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria). Barcelona, España.
- Clifford, N.; Managing the Analytical Laboratory. Interfarm Press Inc. Buffalo.
- Goodman Gilman, A. (1996). The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. McGraw Hill editorial. Texas USA. 1123 – 1130.
- Instituto de Salud Pública de Chile (2002). Norma para criterios para estabilidad y disposiciones generales para la autorización y registro de productos farmacéuticos.
- IUPAC (1974). Recommendations for Nomenclature for Chromatography. Pure Appl. Chem. 37, 447.
- Laboratorio Bagó Chile, Departamento de Control de Calidad (2001). Especificaciones de producto terminado.

- Laboratorio Bagó Chile, Departamento de Control de Calidad (2000). Validación de Metodología Analítica por HPLC.
- Ministerio de Salud, Instituto de Salud Pública de Chile (1995). Reglamento del Sistema de Control de Productos Farmacéuticos, Alimentos de Uso Médico y Cosméticos, D.S. 1876/1995. Título I, VI y VII.
- Organización Mundial de la Salud (1996). Informe 34° del Comité de expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas. 6 – 13, 71 – 89.
- Quattrocchi, O.; Abelaira, S.; Laba, R. (1992). Introducción a la HPLC aplicación y práctica. Merck Ed. Artes Gráficas Farra S.A. Argentina 1992. 302 – 369.
- Torroba, J.E., Vivino, E.C. (2000). Curso de Técnicas estadísticas de Validación de Métodos Químicos para el Control de Alimentos del instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ), Chile.
- United States Pharmacopoeia 23 Ed. National Formulary 18, pág 1982, 24 Ed. pág 1941. the United States Pharmacopoeial Convention Inc. 1994 – 1999.
- Xu, Quanyun A., Trissel L. (1999). Stability-Indicating HPLC Methods for Drugs Analysis. American Pharmaceutical Association Washington D.C. Pharmaceutical Press, England 1999.

- Youden, (1975). Statistical Manual of the AOAC, AOAC.

ANEXO 1. Criterios para estabilidad propuestos por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) incluidos en el anteproyecto de norma nacional para estudios de estabilidad.

1 Objetivos.

La finalidad de una norma es establecer los requisitos mínimos para la realización de estudios de estabilidad de productos farmacéuticos; guiar a los interesados en el desarrollo de programas de estudios de estabilidad y uniformar criterios referente a los parámetros que aportan real información respecto a la estabilidad de los productos farmacéuticos en estudio, para facilitar la presentación y evaluación de estos estudios en los trámites de autorización y registro de productos farmacéuticos. De esta forma el gran objetivo general es el de disponer de una norma de estudios de estabilidad propia, basada en recomendaciones internacionales, para regular el proceso de presentación y evaluación de dichos estudios dando cumplimiento al D.S. 1876/95.

2. Definiciones.

Para los efectos una norma nacional, se entenderá por:

Datos de estabilidad : Datos de una materia prima almacenada en el empaque propuesto bajo condiciones de almacenamiento que soportan la fecha de re-control propuesta.

Datos del producto almacenado en el envase para venta bajo condiciones que soportan la vida media propuesta.

Escala Piloto : Manufactura de principio activo o de producto por un procedimiento representativo y que simula lo que se aplicará a escala industrial.

Especificación para chequear Período de Eficacia : Combinación de requerimientos físicos, químicos, biológicos y microbiológicos que debe reunir un principio activo en su fecha de control, o que debe cumplir un producto a través de su período de eficacia.

Especificación para Liberación : Combinación de requerimientos físicos, químicos y microbiológicos que determinan si un producto es adecuado para ser liberado de su fabricación.

Estabilidad : Es la capacidad de un producto farmacéutico de mantener a través del tiempo todas las especificaciones señaladas en la monografía.

Estudio de Estabilidad : Es un conjunto de pruebas y/o ensayos, de las incluidas en la monografía, a que se somete un producto farmacéutico, en condiciones pre- establecidas y que permitirá pronosticar o establecer su período de eficacia.

Estudio de Estabilidad a Tiempo Real (Estantería) : Estudio de estabilidad realizado por el tiempo total del período de eficacia propuesto y en condiciones de temperatura y humedad determinadas por la naturaleza del producto, cuyos resultados permiten establecer su período real de eficacia.

Estudio de Estabilidad Acelerado : Es aquel realizado en productos farmacéuticos, bajo condiciones especialmente seleccionadas, por un período determinado, para acelerar el proceso de envejecimiento y cuyos resultados permitirán pronosticar su período de eficacia.

Estudio de Estabilidad de Extremo (Bracketing) : El diseño de un esquema de estabilidad tal que sólo son controladas las muestras de los extremos, por ejemplo, de tamaño de envase y/o dosis. El diseño supone que la estabilidad de las muestras de condiciones intermedias está representada por la de los extremos.

Excipiente : Cualquier materia prima utilizada en la manufactura de los productos farmacéuticos, incluyendo los principios activos.

Fecha de Expiración : Es la indicada por el mes y año calendario, en algunos casos, por el día y la hora, que fija el término del período de eficacia de un producto farmacéutico.

Fecha de re-control : Fecha en que las muestras de materia prima deben ser re-examinadas para asegurar que aún es adecuada para el uso

Monografía de un Producto Farmacéutico : Descripción técnica y científica de un producto farmacéutico, presentada por el interesado y aprobada por la autoridad sanitaria.

Período de Eficacia : Es el lapso de tiempo durante el cual un producto farmacéutico mantiene su estabilidad, bajo las condiciones de almacenamiento deducidas del estudio de estabilidad.

Período de Eficacia Tentativo : Período de eficacia proyectado según los datos obtenidos de estudios de estabilidad acelerados, susceptible de ser modificado.

Período de re-control : Período de tiempo durante el cual se puede considerar que el principio activo permanece dentro de las especificaciones y, por lo tanto, es aceptable para ser usado en la fabricación de un determinado producto, dado que ha sido almacenado bajo condiciones definidas. Después de este período de debería re-testear el cumplimiento de las especificaciones del lote para luego ser usado inmediatamente.

Preparación Farmacéutica : Un tipo de farmacéutico, por ejemplo comprimido, cápsula, solución, crema, etc., que contiene uno o más principios activos, con o son excipientes.

Principio Activo : Sustancia o mezcla de sustancias dotadas de efecto farmacológico específico, o bien, que sin poseer actividad farmacológica, al ser administradas al organismo, la adquieren.

Principio Activo Nuevo : Sustancia que no ha sido registrada previamente como principio activo por la autoridad sanitaria correspondiente.

Producto Farmacéutico : Es toda sustancia natural, sintética, semisintética o mezcla de ellas, que se destina a la administración al hombre o a los animales, con fines de curación, tratamiento, atenuación, prevención y diagnóstico de las enfermedades o de sus síntomas.

Producto Terminado : El que está en su envase definitivo, rotulado y listo para ser distribuido y comercializado.

Temperatura Media Cinética : Es la temperatura calculada por la ecuación de S.D. Haynes, que corresponde a un valor medio y es mayor que la temperatura media aritmética y toma en cuenta la ecuación de Arrhenius de la cual derivó Haynes su fórmula.

Test de Stress : Estos estudios se realizan para dilucidar las características de estabilidad intrínsecas del principio del principio activo del producto, que normalmente se llevan a cabo bajo condiciones más severas que las utilizadas para estudios acelerados.

3. Realización de los estudios de estabilidad.

Los factores más importantes que pueden influir en el grado y velocidad de deterioro de los productos farmacéuticos son:

- a) Factores ambientales tales como calor, humedad, luz, oxígeno y otras formas de stress y cambios físicos (como vibración o congelamiento).
- b) Factores relativos al producto, que pueden incluir:
 - Propiedades físicas y químicas del principio activo y de los excipientes, como la presencia de ciertas impurezas, la forma cristalina o polimórfica particular, el tamaño de partículas y la posible presencia de agua u otros solventes.
 - La forma farmacéutica y su composición.
 - El proceso de manufactura, incluyendo las condiciones ambientales y los procedimientos tecnológicos.
 - La naturaleza del envase con el cual el producto farmacéutico tiene contacto directo.

Es así como todos estos factores deben ser considerados cuando se determina la vida media de un producto.

Previo a la realización de un estudio de estabilidad se debe elaborar un diseño de estabilidad.

I. Diseño del estudio de estabilidad

El diseño del estudio de estabilidad a realizar debe incluir los siguientes antecedentes:

A) Antecedentes de los lotes:

- Lugar de fabricación.
- Fecha de fabricación
- Número de lote.
- Tamaño de lote.
- Tipo de envase.

B) Antecedentes de las condiciones del estudio:

- Condiciones de almacenamiento.
- Temperatura y margen de tolerancia.
- Humedad y margen de tolerancia (para envases no impermeables).

C) Características a evaluar y tiempos de análisis proyectados.

II. Estudios de estabilidad para principio activo.

Se entenderá como principio activo innovador aquél no registrado o que presente alguna característica química, cristalográfica, biológica, microbiológica u otras distinta a los ya registrados en el país. Para ello es necesario entregar una completa caracterización del principio activo que permita determinar si se trata o no de uno ya registrado.

Tipos de estudios

Test de stress:

Su objetivo es identificar los principales productos de descomposición del principio activo. Estos estudios deberían establecer las características de estabilidad inherentes de la molécula, así como las rutas de degradación.

Se sabe que algunas rutas de degradación pueden ser complejas y es probable que los productos de degradación observados bajo condiciones forzadas no se formen en estudios acelerados o de estantería.

Esta información puede ser útil en el desarrollo y validación de métodos analíticos adecuados, pero puede que no siempre sea necesario examinar específicamente todos los productos de degradación si se demuestra que en la práctica no se forman.

Estos estudios pueden ser realizados en un solo lote simple del principio activo y normalmente incluyen:

- Efecto de la temperatura en incrementos de 10° C (por ejemplo: 50° C, 60° C, etc.).
- Efecto de la humedad cuando es apropiado (por ejemplo: 75% H.R. o más).
- Oxidación.
- Fotólisis.

- Susceptibilidad a la hidrólisis a través de un amplio rango de valores de pH en solución o suspensión.

Estudios formales:

Lotes: Se deben realizar en al menos 3 lotes piloto.

Envase: El envase en que se realiza el estudio debe ser aquel que será destinado para el almacenamiento del principio activo.

Frecuencia: La frecuencia de análisis debe ser de cada 3 meses durante el primer año, cada 6 meses durante el 2º año y a continuación una vez al año.

Condiciones de almacenamiento

Para principios activos que no requieran condiciones especiales de almacenamiento

A tiempo real	:	$25^{\circ} \text{ C} \pm 2^{\circ} \text{ C} / 60\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses
Acelerado	:	$40^{\circ} \text{ C} \pm 2^{\circ} \text{ C} / 75\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses

Cuando se observa algún cambio significativo dentro de los 6 meses del estudio de estabilidad acelerado, se recomienda realizar un estudio en condiciones intermedias por un lapso de 6 meses.

Estudio intermedio	:	$30^{\circ} \text{ C} \pm 2^{\circ} \text{ C} / 75\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses
--------------------	---	---	---------

Entiéndase por cambio significativo para el principio activo, el no cumplimiento de alguna de las especificaciones.

Para principios activos que requieren refrigeración:

A tiempo real	:	$5^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$	6 meses
Acelerado	:	$25^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C} / 60\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses

Para principios activos que deben ser mantenidos en condiciones de congelación, el estudio debe realizarse:

A tiempo real	:	$-20^{\circ} \text{C} \pm 5^{\circ} \text{C}$	6 meses
Un lote	:	$5^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$ ó $25^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$	por un tiempo apropiado para determinar el efecto de excursiones por pequeños períodos fuera de la condición de almacenamiento propuesta.

Para principios activos a almacenar a temperaturas inferiores a -20°C , los requisitos necesarios se considerarán caso a caso.

III. Estudios de estabilidad para producto terminado.

Lotes.

El estudio se debe realizar en un mínimo de 3 lotes a escala piloto. Estos lotes deben ser de la misma fórmula propuesta para registro y deben ser fabricados mediante un proceso que simule aquel que será aplicado a escala industrial.

Envases.

El producto se debe almacenar en su(s) envases(s) de venta definitivo(s), para Chile.

Especificaciones.

Los controles deberían cubrir aquellas características susceptibles de cambiar durante el almacenamiento y que incluyen en la calidad, seguridad y/o eficacia del producto. En todo caso esta información debe cubrir tanto como sea necesario, características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas.

Los resultados de los controles deben encontrarse dentro de los límites aceptados declarados en las especificaciones de producto terminado.

Métodos de análisis.

Se debe señalar si los métodos empleados en el estudio de estabilidad son los mismos declarados en la metodología analítica del producto terminado. En caso de utilizar otros métodos de evaluación de las especificaciones a controlar, estos se deben adjuntar.

Frecuencia de evaluación.

La evaluación de las características de estabilidad debe realizarse con la frecuencia que se indica:

- El primer año cada 3 meses.
- El segundo año cada 6 meses.
- A partir del tercer año cada 12 meses, o más.

No obstante lo anterior la evaluación de esterilidad e inocuidad podrá realizarse a lo menos al comienzo y al término del estudio.

Condiciones de tratamiento

El producto se debe evaluar bajo condiciones de almacenamiento que permitan evaluar su estabilidad térmica y, cuando es aplicable, su sensibilidad a la humedad.

Para propósitos de registro se debe entregar datos tanto de estudios acelerados como a tiempo real.

Para productos que no requieren condiciones especiales de almacenamiento, al momento de ser sometidos a registro se debe presentar el resultado de al menos:

A tiempo real	:	$25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses
Acelerado	:	$40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 75\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses

Cuando se observa algún cambio significativo en el estudio de estabilidad acelerado se recomienda realizar un estudio en condiciones intermedias por un lapso de 6 meses.

Estudio intermedio	:	$30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 75\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses
--------------------	---	---	---------

Se entiende por cambio significativo en los parámetros de estabilidad, lo siguiente:

- Disminución del 5% en la valoración de el o los principios activos, comparando a tiempo cero.
- pH fuera de especificaciones.
- Cualquier producto de degradación no cumple su especificación.
- No cumple criterio de aceptación en el test de disolución para 12 unidades.
- No cumple criterio de aceptación para apariencia, atributos físicos y test de funcionalidad (por ejemplo: color dureza, separación de fases, resuspendibilidad, liberación de dosis pro

actuación, etc.); sin embargo, se puede esperar algunos cambios en atributos físicos como por ejemplo; ablandamiento de supositorios, fusión de cremas.

Para productos que requieren refrigeración, al momento de ser sometidos a registro, los estudios deben incluir datos:

A tiempo real	:	$5^{\circ} \text{ C} \pm 3^{\circ} \text{ C}$	6 meses
Acelerado	:	$25^{\circ} \text{ C} \pm 2^{\circ} \text{ C} / 60\% \text{ H.R.} \pm 5\% \text{ H.R.}$	6 meses

Para principios activos que deben ser mantenidos en condiciones de congelación, el estudio debe realizarse:

A tiempo real	:	$-20^{\circ} \text{ C} \pm 5^{\circ} \text{ C}$	6 meses
Un lote	:	$5^{\circ} \text{ C} \pm 3^{\circ} \text{ C}$ ó $25^{\circ} \text{ C} \pm 2^{\circ} \text{ C}$	por un tiempo apropiado para determinar el efecto de excursiones por pequeños períodos fuera de la condición de almacenamiento propuesta.

Para productos a almacenar a temperaturas menores a -20° C , los requisitos necesarios se considerarán caso a caso.

Tolerancia de las condiciones de almacenamiento.

Es la variación aceptable en la temperatura y en la humedad relativa de las instalaciones de almacenamiento.

El equipo debe ser capaz de controlar la temperatura a un rango de $\pm 2^{\circ} \text{ C}$ y la humedad relativa a $\pm 5\% \text{ H.R.}$ La temperatura y la humedad deberían ser monitoreadas durante el

almacenamiento para estabilidad. Se aceptan como inevitables, pequeños pics de temperatura debidos a apertura de puertas de las instalaciones. El solicitante debe señalar el efecto de excursiones debidas a fallas en el equipo y repostar si se cree que producen impacto en los resultados de la estabilidad. Las excursiones que excedan los rangos $\pm 2^{\circ}\text{C}$ y/o $\pm 5\%$ H.R. por más de 24 horas, deberían ser descritos en el informe del estudio y se debe evaluar su impacto.

4. Presentación del estudio de estabilidad

El estudio de estabilidad debe consignar la siguiente información:

- 1) Resumen del diseño del estudio de estabilidad.
- 2) Fórmula del producto farmacéutico cuya estabilidad se estudia.
- 3) Métodos analíticos empleados en el estudio.
- 4) Especificaciones con que debe cumplir el producto a lo largo de su vida útil.
- 5) Tabla de resultados a tiempo cero y a cada uno de los tiempos de evaluación, entregando resultados cuantitativos (promedio) cuando corresponda.
- 6) Cálculos para determinar el período de eficacia, cuando corresponda.
- 7) Evaluación y análisis de resultados.
- 8) Conclusiones y proposición del período de eficacia.

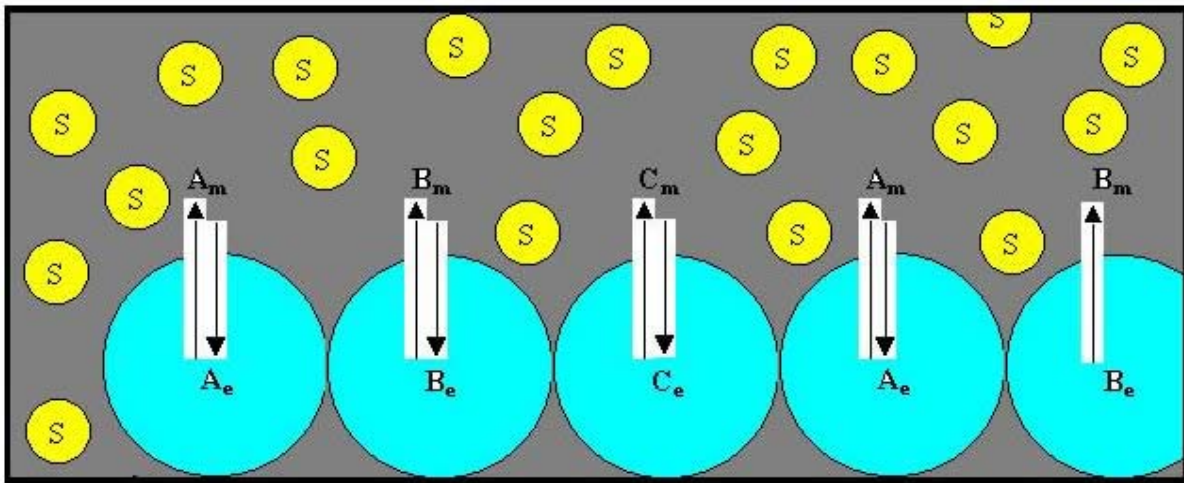
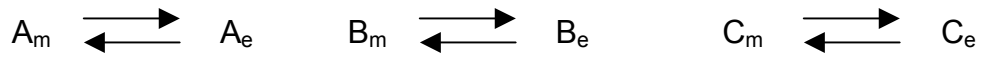
La tabla de resultados debe incluir los siguientes datos:

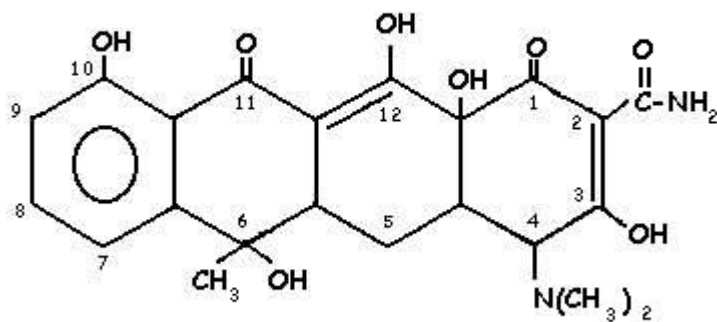
- 1) Nombre del producto.
- 2) Forma farmacéutica y dosis.
- 3) Nombre del laboratorio.
- 4) Número de lote.

- 5) Fecha de fabricación.
- 6) Tipo de envase.
- 7) Condiciones de almacenamiento.
- 8) Nombre y firma del profesional responsable.
- 9) Fecha de inicio.
- 10) Resultado de las evaluaciones a los diferentes tiempos, en valores cuantitativos.

ANEXO 2. Esquemas.

Esquema 1: “Separación hipotética de los solutos A, B y C en equilibrio entre la fase móvil (m) y la estacionaria (e). S representa las moléculas de la fase móvil”.

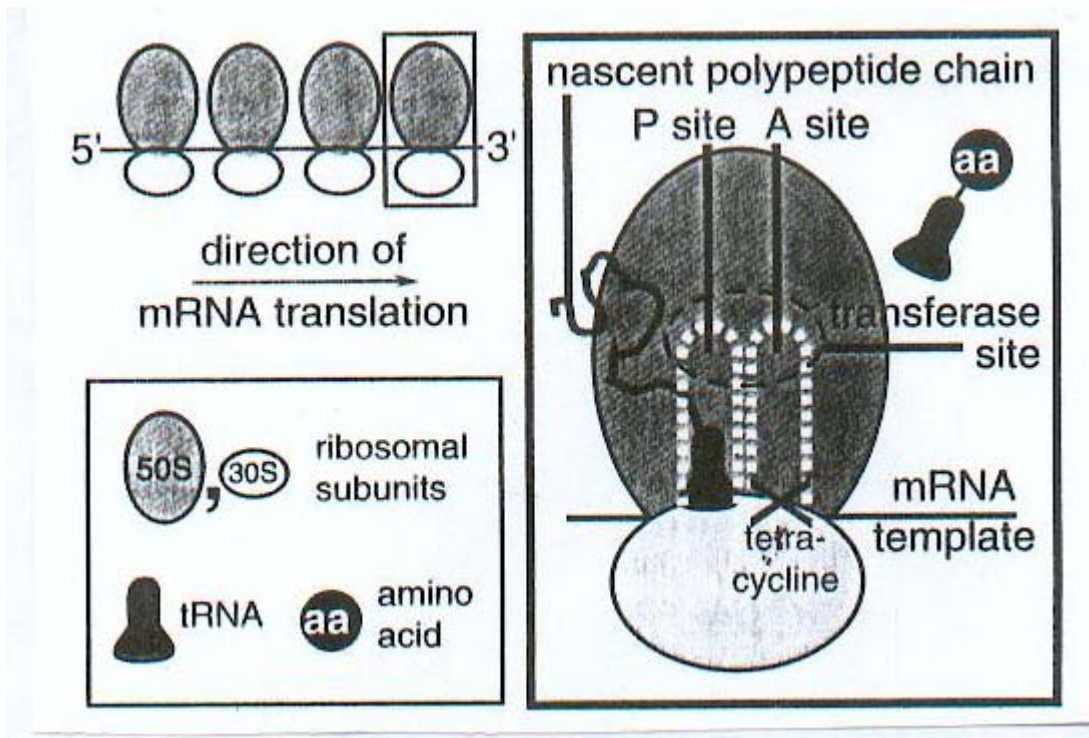


Esquema 2: “Forma estructural de las Tetraciclinas”.

CONGÉNERE	SUSTITUYENTE	POSICIÓN (ES)
Clortetraciclina	-Cl	(7)
Oxitetraciclina	-OH, -H	(5)
Demeclociclina	-OH, -H; -Cl	(6;7)
Metaciclina	-OH, -H; =CH ₂	(5;6)
Doxiciclina	-OH, -H; -CH ₃ , -H	(5;6)
Minociclina	-H, -H; -N(CH ₃) ₂	(6;7)

Esquema 3: “Mecanismo de Acción Tetraciclinas”.

Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica bacteriana:



El RNA mensajero (RNA_m) se une a las subunidad 30 S del RNA ribosomal. El sitio P (peptidil) de la sub unidad ribosomal 50 S contiene la cadena peptídica naciente; normalmente, el aminoacil RNA_t cargado con el próximo aminoácido (aa) que será agregado a la cadena se mueve hacia el sitio A (aceptor), con la base complementaria emparejada entre la secuencia anticodón de RNA_t y la secuencia codón del RNA_m . Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica bacteriana al unirse a la sub unidad 30 S, lo cual bloquea la unión del RNA_t al sitio A.

ANEXO 3. Tablas.

Tabla 1: “Calificación de los parámetros analíticos en función del tipo de test”.

Parámetro Analítico	Categoría I	Categoría II Cuantitativo	Categoría II Ensayos de límite	Categoría III
Selectividad/Especificidad	SI	SI	SI	*
Linealidad	SI	SI	NO	*
Precisión	SI	SI	NO	SI
Exactitud	SI	SI	*	*
Rango	SI	SI	*	*
Límite de detección	NO	NO	SI	*
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	*

* : Puede requerirse según la naturaleza de la prueba específica.

Tabla 2: “Características de estabilidad importantes para formas farmacéuticas sólidas con forma definida”.

Características de estabilidad	Comprimidos	Cápsulas	Grageas
Aspecto	+	+	+
Peso promedio	+	+	+
Ensayos de desintegración y/o Test de disolución	+	+	+
Identidad de principio(s) activo(s)	+	+	+
Detección de producto(s) de degradación.	+	+	+
Determinación cuantitativa de producto(s) de degradación .	x	x	x
Determinación cuantitativa de principio(s) activo(s)	+	+	+
Ensayo de inocuidad	o	o	o

Nota: Cuando se trate de formas farmacéuticas de acción retardada, entéricas o efervescentes, se debe demostrar esta propiedad a través de la evaluación de la característica de estabilidad que corresponda.

Tabla 3: “Características de estabilidad importantes para formas farmacéuticas sólidas en polvo y granulados”.

Características de estabilidad	Polvos para inyectables	Polvos para suspensión	Polvos efervescentes	Polvos para uso tópico	Granulados
Aspecto	+	+	+	+	+
Aspecto de la solución o suspensión reconstituida	+	+	+	-	+
pH de la solución o suspensión reconstituida	+	+	-	-	-
Identidad de principio(s) activo(s)	+	+	+	+	+
Detección de producto(s) de degradación	+	+	+	+	+
Determinación cuantitativa de producto(s) de degradación	x	x	x	x	x
Determinación cuantitativa de principio(s) activo(s)	+	+	+	+	+
Ensayo de contaminación microbiana (Recuento)	-	+	-	+	-
Ensayo de esterilidad	x	-	-	-	-
Ensayo de inocuidad	o	o	o	o	o
Humedad o contenido de agua	+	+	+	+	+

Tabla 4: “Características de estabilidad importantes para formas farmacéuticas semisólidas”.

Características de estabilidad	Geles	Cremas, Ungüentos, Pomadas, Pastas	Supositorios, Óvulos	Ungüentos Oftálmicos
Aspecto	+	+	+	+
Peso promedio	-	-	+	-
Punto de fusión	-	-	x	-
Ensayo de desintegración	-	-	x	-
Identidad de principio(s) activo(s)	+	+	+	+
Detección de producto(s) de degradación	+	+	+	+
Determinación cuantitativa de producto(s) de degradación	x	x	x	x
Determinación cuantitativa de principio(s) activo(s)	+	+	+	+
Contaminación microbiana (Recuento)	+	+	+	+
Ensayo de esterilidad	-	-	-	+
pH	+	+c	x	-

Tabla 5: “Características de estabilidad importantes para formas farmacéuticas líquidas”.

Características de estabilidad	Jarabes	Soluciones Inyectables	Soluciones Orales y Elixires	Soluciones Óticas y Colirios	Suspensiones	Soluciones parenterales de gran volumen	Soluciones Tópicas y Emulsiones	Spray
Aspecto	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	+	+	+	+	+	+	+	+
Identidad de principio(s) activo(s)	+	+	+	+	+	+	+	+
Detección de producto(s) de degradación	+	+	+	+	+	+	+	+
Determinación cuantitativa de producto(s) de degradación	x	x	x	x	x	x	x	x
Determinación cuantitativa de principio(s) activos	+	+	+	+	+	+	+	+
Ensayo de esterilidad	-	+	-	+	+ si.	+	-	-
Ensayo de pirógenos	-	-	-	-	-	+	-	-
Ensayo de inocuidad	o	o	o	o	o	o	o	o
Ensayo de contaminación microbiana (Recuento)	+	-	+	-	+ s.o.	-	+	+
Viscosidad	-	-	-	-	+	-	+ e	-

Simbología para Tablas 2 – 5.

- Signo “+” : Indica que dicha característica de estabilidad debe ser evaluada en todo estudio de estabilidad.
- Signo “-” : Indica que dicha característica de estabilidad no requiere ser evaluada.
- Signo “x” : Indica que dicha característica de estabilidad debe ser evaluada sólo cuando los textos oficiales y/o la monografía lo especifiquen y/o cuando el estudio de estabilidad lo requiera.
- Signo “o” : Indica que dicha característica de estabilidad debe ser evaluada sólo en productos biológicos cuando lo indique la monografía y/o los textos oficiales.
- + s.i. : Sólo para suspensiones inyectables.
- + s.o. : Sólo para suspensiones orales.
- + c. : Sólo para cremas.
- + e. : Sólo para emulsiones.

Tabla 6: “Modelos de diferentes estudios de estabilidad tipo”.

Acelerada Arrhenius	3 lotes 3 temperaturas (1 ambiente - 2 acelerada o 3 aceleradas) 3 meses Humedad : H.R. Ambiente o combinaciones	Si da ESTABLE se puede optar a: 36 m. Sólidos 24 m. Líquidos y Semisólidos
Acelerada FDA	1 Temperatura (37°C ó mayor) 1 HR (75% ó mayor)	Se puede optar a 24 m. para todas las formas farmacéuticas
Estantería	1) Si se informa realizado a T° AMBIENTE se considera a 25°C (T° predominante de trabajo). 2) Si se informa T° AMBIENTE y los rangos y mejor aún comparativo con T° de stress (30°C o más) podrían considerar 30°C	Sugún USP 23 Stability Test y OMS no aceptarán más no poner condición de almacenamiento en rótulos o poner lugar fresco CONSERVAR A NO MÁS DE 25°C o 30°C. Es lo que exigirán rotular.

Tabla 8: “Absorción, distribución, excreción, vías de administración y dosis de las Tetraciclinas”.

	Absorción	UPP	Vida media	Excreción	Dosis
Tetraciclina clorhidrato	60 – 80%	60%	6 – 8 h.	Riñón 60% Hígado 40%	500mg 4 veces/día
Doxicilina	95%	80 – 85%	16 – 18 h.	Heces	100mg c/12 h
Minociclina	100%	75%	16 h.	Heces, Lágrimas, Saliva	200mg. 2 veces/día

Tabla 9: “Composición Núcleos MINOCICLINA 100mg. Lote Piloto N° 00071201”

COMPOSICIÓN NÚCLEO		
CÓDIGO	N° ANÁLISIS	NOMBRE DE LA SUSTANCIA
508056-8	347 – 0	MINOCICLINA (Minociclina Clorhidrato equivalente Lote:9911023 CX2)
699138-6	206 – 0	COPOVIDONA (KOLLIDON VA 64)
699150-5	677 – 9	CROSPVIDONA (KOLLIDON CL)
699028-2	140 – 0	CELULOSA MICROCRISTALINA (AVICEL PH 102) c.s.p.
699055-K	199 – 0	ESTEARATO DE MAGNESIO

Tabla 10: “Características del Núcleo Minociclina 100mg”.

Peso	200mg
Color	Amarillo
Punzón	9 mm circular ranurado sin logo
Dureza	6 Kp (ISP 4 – 8).

Tabla 11: “Composición recubrimiento acuoso MINOCICLINA 100mg. Comprimidos Recubiertos Piloto N° 00071201”.

COMPOSICIÓN RECUBRIMIENTO ACUOSO		
CÓDIGO	N° ANÁLISIS	NOMBRE DE LA SUSTANCIA
6999076 – 2	588 – 9	HIDROXIPROPILMETILCELULOSA (METHOCEL E 15)
699044 – 4	198 – 0	DIOXIDO DE TITANIO
699021 – 5	299 – 4	POLIETILENGLICOL 4000
671014 – K	148 – 6	COLORANTE LACA ALUMÍNICA AMARILLO N° 6
700000 – 6	N.D.	AGUA

Tabla 12: “Características del Comprimido Recubierto Minociclina 100mg”.

Peso	207,8 mg
Color	Anaranjado.
Punzón	9 mm circular ranurado sin logo.
Dureza	6 Kp (ISP 4 – 8).

Envase Primario:

- PVC 250 micrones ámbar.
- Aluminio impreso.

Tabla 13: “Composición Núcleos MINOCICLINA 50mg. Lote Piloto N° 00071201 A”

COMPOSICIÓN NÚCLEO		
CÓDIGO	N° ANÁLISIS	NOMBRE DE LA SUSTANCIA
508056-8	347 – 0	MINOCICLINA (Minociclina Clorhidrato equivalente Lote:9911023 CX2)
699138-6	206 – 0	COPOVIDONA (KOLLIDON VA 64)
699150-5	677 – 9	CROSPVIDONA (KOLLIDON CL)
699028-2	140 – 0	CELULOSA MICROCRISTALINA (AVICEL PH 102) c.s.p.
699055-K	199 – 0	ESTEARATO DE MAGNESIO

Tabla 14: “Características del Núcleo Minociclina 50mg”.

Peso	100 mg
Color	Amarillo
Punzón	7,5 mm circular ranurado sin logo
Dureza	6 Kp (ISP 4 – 8).

Tabla 15: “Composición recubrimiento acuoso MINOCICLINA 50mg. Comprimidos Recubiertos Piloto N° 00071201”.

COMPOSICIÓN RECUBRIMIENTO ACUOSO		
CÓDIGO	N° ANÁLISIS	NOMBRE DE LA SUSTANCIA
6999076 – 2	588 – 9	HIDROXIPROPILMETILCELULOSA (METHOCEL E 15)
699044 – 4	198 – 0	DIOXIDO DE TITANIO
699021 – 5	299 – 4	POLIETILENGLICOL 4000
671014 – K	148 – 6	COLORANTE LACA ALUMÍNICA AMARILLO N° 6
700000 – 6	N.D.	AGUA

Tabla 16: “Características del Comprimido Recubierto Minociclina 50mg”.

Peso	103,9 mg
Color	Anaranjado.
Punzón	9 mm circular ranurado sin log o.
Dureza	6 Kp (ISP 4 – 8).

Envase Primario:

- PVC 250 micrones ámbar.
- Aluminio impreso.

Tabla 17: “Condiciones de envejecimiento acelerado utilizadas para realizar el estudio de estabilidad acelerado en comprimidos recubiertos de minociclina de 100mg y 50mg”.

Condición (T°/HR)	Tiempo (meses)		
Condición Inicial (*)	----	----	----
40° C	1	2	3
45° C	1	2	3
50° C	1	2	3
40° C / 75%	1	2	3
45° C / 90%	1	2	3

(*) Condición Inicial, es decir, sin ser sometidos a condiciones de temperatura ni humedad.

Tabla 18: “Linealidad Minociclina”.

Concentración en porcentaje del valor teórico a cuantificar	Porcentaje corregido	Área	Área Promedio
50 %	47,3 %	513,76935 514,01624 515,83453 514,99567 516,84875	515,093
75 %	72,8 %	786,95221 790,44208 791,26947 798,51147 795,04724	792,444
100 %	106,3 %	1156,25110 1155,12488 1157,84131 1161,37793 1159,23132	1157,965
125 %	126,9 %	1378,12805 1382,89307 1380,93628 1385,73560 1382,88501	1382,116
150 %	147,7 %	1601,11450 1605,17859 1609,29272 1612,92117 1613,97498	1608,496

Coefficiente de regresión lineal : 1,000000224

Pendiente : 10,892

Intercepto : -0,1981

Número de repeticiones : 5

Tabla 19: “Precisión Minociclina”.

Concentración en porcentaje del valor teórico a cuantificar	Área	RSD
47,3 %	513,76935 514,01624 515,83453 514,99567 516,84875	0,25 %
72,8 %	786,95221 790,44208 791,26947 798,51147 795,04724	0,56 %
106,3 %	1156,25110 1155,12488 1157,84131 1161,37793 1159,23132	0,21 %
126,9 %	1378,12805 1382,89307 1380,93628 1385,73560 1382,88501	0,20 %
147,7 %	1601,11450 1605,17859 1609,29272 1612,92117 1613,97498	0,33 %

Tabla 20: “Exactitud Minocilcina”.

Exactitud	Pesado		
Concentración mas baja	35.00	37.10	35.70
Concentración media	49.80	54.60	49.90
Concentración mas alta	65.40	64.30	65.10
N	9		
Cantidad teórica Cp	50mg	41.715mg (Pot: 83.43%)	

	Cantidad encontrada /Cp		
70	29.21	31.34	30.07
100	41.73	44.95	41.75
130	55.59	54.00	55.16

% Agregado	% Encontrado			Promedio	D. Standard
70.05	58.42	62.68	60.14	60.41	2.14
100.26	83.46	89.90	83.50	85.62	3.71
126.58	111.18	108.00	110.32	109.83	1.64

% Teórico	Recuperación			Promedio	D. Standard
70	100.03	101.25	100.96	100.75	0.64
100	100.44	98.68	100.28	99.80	0.98
130	101.88	100.66	101.56	101.37	0.63

Porcentaje de recuperación media					
n = 9				100.64	
Desviación standard				0.95	
Coeficiente de variación				0.95	

Tabla 21: “Selectividad Minociclina y calibración de instrumental para análisis”.

PRODUCTO	MINOCICLINA	Nº Analisis	001
F. FARMACÉUTICA	COMPRIMIDOS REC,	FECHA INICIO ANÁLISIS	15/05/01
SERIE	P00071201	FECHA TÉRMINO ANÁLISIS	09/08/01
MÉTODO ANALÍTICO	HPLC	CUADERNO / PÁGINA	

1. Calibración Instrumental

<i>St. 1 teórico</i>	101,28400 mg	Inyección	Area		
<i>St. 2 teórico</i>	108,12500 mg	<i>St1</i> 1	1278,04712	Promedio	1282,690867
Area <i>St. 2</i>	1384,7402	<i>St1</i> 2	1284,67432	D.S.	4,04
<i>St. 2 obtenido</i>	109,34 mg	<i>St1</i> 3	1285,35116	RSD	0,31
Recuperación					
%	101,13				

ENSAYO	RESULTADOS				
Selectividad	(Descripción de solución degradada, Presencia de productos de degradación, reducción del área del pic, pureza)				
DROGA	1. PLACEBO				
	Señales observadas en placebo				
	2. DEGRADACIÓN FORZADA				
		Aspecto solución (color, pp, transparencia)	Reducción de intensidad o área de pic (0 a +++)	Productos de degradación (tiempos de retención)	Pureza
	Hidrólisis ácida	Aspecto incoloro ligeramente amarillento translúcido sin pp	++	3,17	0,99225
	Hidrólisis básica	Amarilo oscuro translúcido sin pp	+	2,00-3,057-3,462	0,99982
	Reducción	Amarillento anaranjado opaco no translúcido y con pp de color blanco	++++	NO	-----
	Oxidación	Aspecto verdoso transparente (se pierde) sin presencia inicial de pp	VAR.	2,00-3,10-3,60	0,99237
	Termólisis	Amarillo oscuro negruzco con pp de color negro en suspensión	0,00	NO	0,99840
	Fotólisis	Amarillo claro translúcido sin pp	0,00	NO	0,99857

"-: no hay reducción en area; +: red. hasta 25 %; red. hasta 50%; red. hasta 75%; red. hasta 100%

Tabla 22: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 1****CONDICIÓN: 40° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	3,9	3,8	3,6	3,9
Valoración (%) Minociclina	103,63	100,39	100,21	98,19
Disolución (%) Minociclina	84,99	-----	-----	79,93

Tabla 23: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 2****CONDICIÓN: 40° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	4,6	3,7	4,2	4,2
Valoración (%) Minociclina	106,24	99,41	102,53	97,25
Disolución (%) Minociclina	91,90	-----	-----	86,85

Tabla 24: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE :** 00071201 – 3**CONDICIÓN:** 40° C.

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	4,2	3,5	3,9	4,1
Valoración (%) Minociclina	104,71	101,02	101,68	101,89
Disolución (%) Minociclina	95,93	-----	-----	85,92

Tabla 25: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE :** 00071201 – 1**CONDICIÓN:** 45° C.

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	3,9	3,7	3,7	4,0
Valoración (%) Minociclina	103,63	97,73	101,92	100,36
Disolución (%) Minociclina	84,99	-----	-----	79,35

Tabla 26: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE :** 00071201 – 2**CONDICIÓN:** 45° C.

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	4,6	3,7	3,7	3,8
Valoración (%) Minociclina	106,24	100,05	99,48	98,65
Disolución (%) Minociclina	91,90	-----	-----	88,24

Tabla 27: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 3****CONDICIÓN: 45° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.
Dureza Kp	4,2	4,0	3,9	3,6
Valoración (%) Minociclina	104,71	101,27	102,11	99,81
Disolución (%) Minociclina	95,93	-----	-----	82,24

Tabla 28: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 1****CONDICIÓN: 50° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	3,9	3,6	3,3	3,7
Valoración (%) Minociclina	103,63	100,06	99,41	98,42
Disolución (%) Minociclina	84,99	-----	-----	81,29

Tabla 29: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 2****CONDICIÓN: 50° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	4,6	3,7	4,0	3,8
Valoración (%) Minociclina	106,24	102,29	96,78	95,83
Disolución (%) Minociclina	91,90	-----	-----	79,48

Tabla 30: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 3****CONDICIÓN: 50° C.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	4,2	3,8	3,7	4,0
Valoración (%) Minociclina	104,71	101,19	98,45	97,18
Disolución (%) Minociclina	95,93	-----	-----	78,78

Tabla 31: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 1****CONDICIÓN: 40° C / 75 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	3,9	4,2	4,3	4,3
Valoración (%) Minociclina	103,63	100,67	98,74	97,04
Disolución (%) Minociclina	84,99	-----	-----	91,09

Tabla 32: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos”.**LOTE : 00071201 – 2****CONDICIÓN: 40° C / 75 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	4,6	4,4	4,4	4,7
Valoración (%) Minociclina	106,24	95,83	96,60	95,77
Disolución (%) Minociclina	91,90	-----	-----	85,35

Tabla 33: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos EEA”.**LOTE : 00071201 – 3****CONDICIÓN: 40° C / 75 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro con manchas café.
Dureza Kp	4,2	4,7	4,5	4,2
Valoración (%) Minociclina	104,71	99,20	100,26	97,10
Disolución (%) Minociclina	95,93	-----	-----	91,14

Tabla 34: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos EEA”.**LOTE : 00071201 – 1****CONDICIÓN: 45° C / 90 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.
Dureza Kp	3,9	2,3	2,4	2,4
Valoración (%) Minociclina	103,63	99,66	98,61	99,22
Disolución (%) Minociclina	84,99	-----	-----	44,10

Tabla 35: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos EEA”.**LOTE : 00071201 – 2****CONDICIÓN: 45° C / 90 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.
Dureza Kp	4,6	2,7	2,4	2,4
Valoración (%) Minociclina	106,24	95,24	94,59	91,33
Disolución (%) Minociclina	91,90	-----	-----	53,52

Tabla 36: “Minociclina 100mg. Comprimidos Recubiertos EEA”.**LOTE : 00071201 – 3****CONDICIÓN: 45° C / 90 % HR.**

	Iniciales	1 mes	2 meses	3 meses
Aspecto	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color naranja claro.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.	Comprimido circular con ranura, biconvexo, recubierto con laca de color café.
Dureza Kp	4,2	2,5	2,9	2,6
Valoración (%) Minociclina	104,71	98,84	94,11	91,63
Disolución (%) Minociclina	95,93	-----	-----	29,72

ANEXO 4. INSTRUCTIVO DE CONTROL DE CALIDAD**LABORATORIO BAGÓ CHILE S.A. ASEGURAMIENTO DE CALIDAD*****“DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA POR HPLC”*****TABLA DE CONTENIDOS**

1. Objetivos.
2. Alcances.
3. Definiciones.
4. Referencia.
5. Responsabilidades.
6. Descripción de la actividad.
7. Elementos necesarios.
8. Anexos.
9. Distribución.

1. **Objetivos.**

Desarrollar y validar las metodologías analíticas por HPLC.

2. **Alcance.**

Este instructivo es aplicable a todos los métodos de análisis utilizados en el control de productos en proceso, terminados y estudios de estabilidad en estantería y acelerado.

3. **Definiciones.**

Método analítico: Conjunto de operaciones necesarias para efectuar un análisis concreto.

Validación de método analítico: Es el proceso mediante el cual se establece que las características de desempeño del método cumplen con los requerimientos para las aplicaciones analíticas deseadas.

4. **Referencia.**

4.1. Método de análisis de producto terminado, CC-APT-03-1260.

4.2. Procedimiento: “Desarrollo Analítico”, CC-POS-03-01.

5. **Responsabilidad.**

El jefe de Control de Calidad es responsable de verificar el cumplimiento de este instructivo, cálculos y resultados de las pruebas realizadas. El analista de desarrollo analítico es responsable de cumplir con las actividades de este instructivo.

6. Descripción de la Actividad.

6.1. Frecuencia de Realización.

El analista de desarrollo ejecuta este instructivo cada vez que un producto nuevo entre a estudio de estabilidad acelerado, cada vez que sea necesario modificar una metodología analítica existente, de acuerdo a los criterios de revalidación o cuando sea necesario validar un método analítico existente no validado.

6.2. Desarrollo de Método Analítico.

El analista de investigación y desarrollo analítico desarrolla las actividades de:

- 6.2.1. Búsqueda de información: Recopila información relativa al análisis (Características físico-químicas, métodos de análisis similares y estudios de estabilidad del principio activo), en fuentes tales como farmacopeas, publicaciones técnicas entregadas por el proveedor de los principios activos, etc.
- 6.2.2. Ensayos: Ejecuta los ensayos HPLC, efectuando pruebas con distintas columnas y fases móviles, para definir las condiciones de operación.
- 6.2.3. Selecciona inicialmente un método analítico: Evalúa los parámetros para la selección inicial de un método analítico, usando los siguientes criterios:
 - Repetibilidad de área y tiempo de retención (menor al 2%).
 - Simetría de la señal cromatográfica (entre 0,66 y 2).

6.3. Validación de Método Analítico.

El analista de investigación y desarrollo analítico comienza la validación del método seleccionado inicialmente. Para ello desarrolla las siguientes etapas:

6.3.1. Confirmación de identidad.

I. Del estándar.

- a) Prepara una solución con estándar de referencia del analito de interés y determina su espectro UV en solvente adecuado (normalmente fase móvil).
- b) Prepara una muestra conteniendo el estándar para ser inyectada al cromatógrafo líquido, obtiene su espectro UV y compara su espectro (máximos y mínimos) con el obtenido para el estándar en el punto anterior.
- c) Procura separar el componente de interés mediante técnica adecuada (por ejemplo: TLC), en el caso que el estándar de referencia no sea puro y contenga otros componentes. Si no es posible aislar el principio activo de interés, obtiene el espectro UV de la literatura.
- d) Obtiene el tiempo de retención, una vez confirmada la identidad de la señal cromatográfica de retención.

II. De la muestra.

- a) Prepara una solución muestra del producto conteniendo el analito de interés para ser inyectada al cromatógrafo líquido.
- b) Obtiene su espectro UV y compara éste con el del estándar.

6.3.2. Selectividad.

La actividad incluye las muestras para verificar la selectividad frente:

I. Al medio de disolución (blanco).

- a) Inyecta primero el medio de disolución de la muestra y estándares.
- b) Deja correr la cromatografía durante aproximadamente 30 minutos y,

- c) Determina la contribución del medio de disolución al cromatograma.

II. A componentes de la matriz.

- a) Prepara una solución de placebo diez veces más concentrada que la de trabajo.
- b) Inyecta la solución al cromatógrafo.
- c) Deja correr la cromatografía durante aproximadamente 30 minutos.
- d) Determina la contribución del placebo al cromatograma.

III. A potenciales productos de degradación.

Somete a degradación forzada el principio activo con el objetivo de obtener los potenciales productos de degradación.

- a) Soluciones sometidas a degradación forzada: Prepara una solución conteniendo un analito de interés diez veces más concentrada que la concentración de trabajo y procede de la siguiente forma:
- Adiciona al matraz N° 1, 25 mL de una solución de HCl 0,5 N y somete a reflujo durante 1 hora.
 - Adiciona al matraz N° 2, 25 mL de una solución de NaOH 0,5 N y somete a reflujo durante 1 hora.
 - Agrega al matraz N° 3, 25 mL de una solución de HCl 0,5 N y granallas de zinc y somete a reflujo durante 1 hora.
 - Agrega 5 mL de peróxido de hidrógeno al 30%, mezcla y deja reposar durante 30 minutos.

Transfiere las muestras a matraz volumétrico de 100 mL y las neutraliza con 25 mL de HCl 0,5 N o NaOH 0,5 N, según corresponda. Afora con fase móvil u otro solvente según esté escrito en la metodología analítica desarrollada.

b) Materia prima en estado sólido sometida a degradación forzada.

Colocar aproximadamente entre 5 a 10 gramos de principio activo en 2 placas petri cerradas e identificadas y proceder de la siguiente forma:

- Somete la placa N° 1 a la acción del calor exponiéndola a 105° C durante 1 semana.
- Somete la placa N° 2 a la acción de la luz solar o de una lámpara que simule la radiación UV durante una semana.

Prepara soluciones de muestra de degradación forzada de acuerdo a la metodología analítica desarrollada, como si fuera un estándar.

c) Muestras y análisis.

Inyecta 3 veces el estándar del analito de interés recién preparado y verifica la repetibilidad del área y del tiempo de retención, las cuales debe ser menor a 2%, para el área y menor al 1% para el tiempo de retención.

Inyecta al medio de disolución y deja correr el cromatograma por tiempo mayor al tiempo de retención del principio activo, hasta que haya eluido completamente.

Inyecta las muestras de degradación forzada obtenidas en el punto III. Deja eludir las muestras durante 30 minutos y reporta la aparición de cualquier peak diferente a las señales del medio de disolución y del principio activo de interés. Cuando observe la aparición de una señal a un tiempo de retención similar a algún otro principio activo, el analista prepara una solución conteniendo el principio activo y verifica la pureza y separación cromatográfica.

NOTA: El procedimiento descrito para determinar la selectividad de la metodología analítica es realizado por separado para cada uno de los principios activos presentes en la formulación.

Criterios de aceptación:

- a) El blanco o el medio de disolución no debe presentar señal al tiempo de retención del principio activo. Si existe señal, el analista lava el loop con medio de disolución e inyecta nuevamente. No inyecta el medio de disolución hasta que el loop se encuentra totalmente limpio.
- b) El medio de disolución no debe presentar peaks al tiempo de retención del principio activo.
- c) Los productos de degradación deben aparecer a tiempos de retención distintos al del principio activo.
- d) En caso de que por efecto de la degradación desaparezca el principio activo, el analista adiciona un exceso de droga directamente a la muestra obtenida de la degradación forzada para verificar si las condiciones cromatográficas aún se mantienen (existe la posibilidad que la droga se degrade completamente sin mostrar peaks cromatográficos, debido a que los productos de degradación no absorben luz ultravioleta-visible o absorban a otra longitud de onda).
- e) En un HPLC con arreglo de diodos, el analista compara los espectros UV de varias secciones del peak (purity). La pureza del peak obtenida debe tener un valor lo más cercano posible al valor 1,0. En este mismo equipo compara los espectros UV de las

muestras con el espectro UV del estándar para verificar la identidad y correlación de los espectros de la muestra y el estándar.

Si no se cumple el criterio de aceptación ir al punto 6.6.

6.3.3. Linealidad.

I. Muestras y análisis.

- a) Prepara soluciones estándar que contengan aproximadamente 50%, 75%, 100%, 125% y 150% de la concentración teórica (mínimo 5 puntos) y las inyecta en quintuplicado.
- b) Grafica la señal obtenida (área del peak) versus su correspondiente concentración.
- c) Obtiene la pendiente, intercepto y coeficiente de regresión lineal.
- d) Realiza análisis estadísticos para establecer la significancia de la regresión lineal.
- e) Analiza los residuos por medio de la determinación de la bondad de ajuste del modelo o cualquier otro método adecuado.

Criterios de aceptación:

- a) El coeficiente de regresión lineal debe ser mayor a 0,98.
- b) El análisis estadístico para el coeficiente de regresión lineal debe mostrar linealidad.
- c) El análisis estadístico de la proporcionalidad debe demostrar que la recta pasa por cero.
- d) El análisis de los residuales mediante el análisis de la bondad de ajuste o mediante cualquier otro método adecuado debe demostrar la independencia y distribución normal de los residuales para sustentar el análisis estadístico paramétrico y, por lo tanto, la bondad del modelo ajustado.

Si no se cumple el criterio de aceptación ir al punto 6.6.

6.3.4. Exactitud.

I. Muestras y análisis.

El jefe de Control de Calidad solicita muestras de los excipientes en cantidad necesaria para la elaboración de placebo de acuerdo a la fórmula cuali-cuantitativa al jefe de materias primas o Gerente de Investigación y Desarrollo Galénico según corresponda, con sus respectivos certificados de análisis o números de análisis para aquellas materias primas ya en uso.

El analista prepara 9 placebos y agrega a los placebos tres cantidades diferentes a cada nivel de concentración: 70%, 100% y 130% y calcula el porcentaje obtenido -la recuperación de las 9 muestras en base a lo agregado- la recuperación media, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Criterio de aceptación:

El valor promedio encontrado debe encontrarse entre el 98% y el 102%.

Si no se cumple el criterio de aceptación ir al punto 6.6.

6.3.5. Precisión.

Para muestras y análisis:

I. Repetibilidad de inyección (Precisión del sistema).

El analista de Investigación y Desarrollo obtiene la precisión del sistema mediante la inyección repetida de una muestra homogénea expresada por medio del RSD o CV.

Obtiene los datos de la inyección repetida de estándares realizadas en la obtención de la curva de calibración a cada nivel de concentración.

II. Repetibilidad de análisis o de ensayo (Precisión del método).

El analista obtiene la precisión del método de una muestra homogénea (desde un inicio) expresada por medio del RSD o el CV. Por lo tanto, esta expresión representa toda la variabilidad incorporada durante el tratamiento de la muestra.

El analista obtiene este dato del análisis de la exactitud donde se repite el análisis para nueve muestras de concentración conocida.

Criterio de aceptación:

- a) El RSD de las inyecciones repetidas (Precisión del sistema) no debe ser superior al 2%, de acuerdo al criterio de la USP 24.
- b) El RSD para la repetición de muestras (Precisión del método) no debe ser superior al 2,8%.

Si no se cumple el criterio de aceptación ir al punto 6.6.

6.3.6. Estabilidad de las muestras y estándares.

Para muestras:

El analista divide en 2 fracciones, 2 muestras y de dos soluciones estándar de cualquier ensayo de cuantificación durante la evaluación de la estabilidad acelerada y almacena alguna de las fracciones a temperatura ambiente y la otra en el refrigerador (aproximadamente 4° C).

Para el análisis:

El analista inyecta por duplicado al cromatógrafo y cuantifica las muestras así obtenidas contra un estándar recién preparado.

Criterio de aceptación y rechazo:

Las muestras son estables si la variación experimentada es menor al 2% respecto de lo pesado para el estándar y de lo obtenido el día anterior para las muestras.

Si no se cumple el criterio de aceptación ir al punto 6.6.

6.4. Desarrollo de la Documentación.

Una vez validado el método analítico, es decir, que el método haya cumplido con todos los parámetros antes descritos el analista de investigación y desarrollo entrega al jefe de control de calidad:

- Un informe con los resultados de validación.
- Una descripción completa del método validado.

6.5. Revisión de la Documentación.

El jefe de control de calidad aprueba el informe de resultados de la validación y la descripción del método de análisis para continuar con la evaluación de la estabilidad acelerada, del producto en cuestión.

6.6. Ante el Incumplimiento de un Criterio de Aceptación de la Validación.

Si los resultados de la validación del método analítico son insatisfactorios se detiene la validación y se redesarrolla la metodología analítica.

Si existe falla en la exactitud y se confirma que esto es debido a la absorción de principio activo a algún excipiente, lo cual dificulta también la disolución, se detiene la validación y el jefe de control de calidad informa vía correo electrónico al gerente de investigación y desarrollo para evaluar rediseño del producto y éste a su vez informa al comité de investigación y desarrollo, se detiene la validación y se redesarrolla.

7. **Elementos necesarios.**

Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución.

8. **Anexos.**

8.1. Formulario Informe de Resultados de Validación, CC-FOR-10.

8.2. Formulario Descripción de Método Analítico, CC-FOR-11.

ANEXO 5. ESPECIFICACIONES PRODUCTO**LABORATORIO BAGÓ CHILE S.A. ASEGURAMIENTO DE CALIDAD***Minociclina 100mg Comprimidos Recubiertos*

ASPECTO: Comprimido circular, biconvexo, ranurado, amarillento, recubierto con una película de color anaranjado.

Diámetro: Aprox. 9.0 mm.

Espesor: Aprox. 3.7 mm.

PESO PROMEDIO: 207,8mg $\pm$ 5% (Teórico según fórmula).

IDENTIFICACIÓN: Positivo para minociclina.

VALORACIÓN: Cada comprimido contiene: Minociclina base 100mg.

Límites: El contenido de minociclina no debe ser mayor que 90% ni mayor que 110% de los declarado.

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO Cumple especificaciones USP 23 Ed. pág. 1838.

TEST DE DISOLUCIÓN Medio / Volumen: Agua / 900 mL.

Tiempo: 45 minutos

Aparato / r.p.m.: 2 / 50 r.p.m.

Tolerancia: Q > 75%

ENVASE

Envase Primario: Blíster PVC Aclar ámbar/aluminio impreso.

Envase Secundario: Estuche de cartulina impreso o caja de cartón rotulada.

1.0 COMPOSICIÓN CUALICUANTITATIVA:

Cada comprimido contiene:

Núcleo:

Minociclina	100,000mg
(como minociclina clorhidrato 107.956mg)	
Copovidona	6,000mg
Crospovidona	10,000mg
Celulosa microcristalina	55,658mg
Estearato de magnesio	2,000mg

Recubrimiento:

Hidroxipropilmetilcelulosa	3,750mg
Dióxido de titanio	2,500mg
Polietilenglicol 4000	1,250mg
Colorante laca aluminica amarillo N° 6	0,300mg

2.0 PRESENTACIÓN:

- **Venta:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.
Envase secundario: Estuche de cartulina impreso.
- **Muestra Médica:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.
Envase secundario: Estuche de cartulina impreso.
- **Clínica:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.
Envase secundario: Estuche de cartulina impreso o caja de cartón rotulada.

3.0 MÉTODOS DE CONTROL

3.1 CONTROL DE MATERIAS PRIMAS

Minociclina	USP 23, pág. 1029
Copovidona	<i>Ph. Eur.</i> 1997, pág. 680
Crospovidona	USP 23, pág. 2239
Celulosa microcristalina	USP 23, pág. 2231
Estearato de magnesio	USP 23, pág. 2262
Hidroxipropilmetilcelulosa	USP 23, pág. 774
Dióxido de titanio	USO 23, pág. 1557
Polietilenglicol 4000	USP 23, pág. 2281
Colorante laca aluminica Amarillo N°6	<i>Monografía de Materias Primas</i>

3.2 CONTROL DE PRODUCTOS INTERMEDIOS

3.2.1 Granulado.

Antes de comprimir el granulado deberá cumplir con los ensayos de identificación y valoración de minociclina como se indica en el producto terminado.

3.2.2 Núcleos.

- a) Aspecto: Comprimido circular, biconvexo, ranurado de color amarillento.

Diámetro: Aprox. 9,0 mm.

Espesor: Aprox. 3,7 mm.

- b) Peso: 200mg $\pm$ 5%.

Variación de Peso: Se procederá de acuerdo a la USP 23, pág. 989.

Pesar en forma individual 20 unidades escogidas al azar y determinar el peso promedio.

No más de 2 unidades podrán diferir en más de un 5% del peso promedio y ninguno deberá hacerlo más del doble de este porcentaje.

- c) Dureza: Se determina con Durómetro Pharma Test modelo PTB 311. Debe estar comprendida entre 4,0 – 8,0 kp.

- d) Friabilidad: Se determina con el probador de desgaste por fricción de comprimidos de marca Pharma Test tipo PTF.

El ensayo se efectúa sobre 20 núcleos con un tiempo de rotación de 4 minutos a 25 rpm.

El desgaste no será mayor que 1%.

- e) Desintegración: Se realiza con el aparato indicado en la USP 23 ed. pág. 1791 empleando agua mantenida a 37° C. El tiempo de desintegración deberá ser menor que 30 minutos.

- f) Identificación: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.

- g) Valoración: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.
- h) Uniformidad de Dosis: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.

3.3 CONTROL PRODUCTO TERMINADO

- a) Aspecto. Comprimido circular, biconvexo, ranurado, amarillento, recubierto con una película de color anaranjado.

Diámetro: Aprox. 9,0 mm.

Espesor: Aprox. 3,7 mm.
- b) Peso: $207,8\text{mg} \pm 5\%$ (teórico según fórmula).
- c) Identificación: El tiempo de retención del peak de minociclina en el cromatograma de la muestra corresponde respectivamente al peak de la solución estándar obtenidos en la valoración.
- d) Valoración por HPLC (Ver Métodos).
- e) Uniformidad de dosis (Ver Métodos).
- f) Test de Disolución (Ver Métodos).

ESPECIFICACIONES: *Minociclina 50mg Comprimidos Recubiertos*

ASPECTO: Comprimido circular, biconvexo, ranurado, amarillento, recubierto con una película de color anaranjado.

Diámetro: Aprox. 6,5 mm.

Espesor: Aprox. 3,1 mm.

PESO PROMEDIO: 103,9mg $\pm$ 5% (Teórico según fórmula).

IDENTIFICACIÓN: Positivo para minociclina.

VALORACIÓN: Cada comprimido contiene: Minociclina base 100mg.

Límites: El contenido de minociclina no debe ser mayor que 90% ni mayor que 110% de los declarado.

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO: Cumple especificaciones USP 23 Ed. pág. 1838.

TEST DE DISOLUCIÓN: Medio / Volumen: Agua / 900 mL.

Tiempo: 45 minutos

Aparato / r.p.m.: 2 / 50 r.p.m.

Tolerancia: Q > 75%

ENVASE: Envase Primario: Blíster PVC Aclar ámbar/aluminio impreso.

Envase Secundario: Estuche de cartulina impreso o caja de cartón rotulada.

1.0 COMPOSICIÓN CUALICUANTITATIVA:

Cada comprimido contiene:

Núcleo:

Minociclina	50,000mg
(como minociclina clorhidrato 107.956mg)	
Copovidona	3,000mg
Crospovidona	5,000mg
Celulosa microcristalina	27,829mg
Estearato de magnesio	1,000mg

Recubrimiento:

Hidroxipropilmetilcelulosa	1,875mg
Dióxido de titanio	1,250mg
Polietilenglicol 4000	0,625mg
Colorante laca aluminica amarillo N° 6	0,150mg

2.0 PRESENTACIÓN:

- **Venta:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.
Envase secundario: Estuche de cartulina impreso.
- **Muestra Médica:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.
Envase secundario: Estuche de cartulina impreso.
- **Clínica:** Envase primario: Blíster PVC Aclar ámbar / aluminio impreso.

Envase secundario: Estuche de cartulina impreso o caja de cartón rotulada.

3.0 MÉTODOS DE CONTROL

3.1 CONTROL DE MATERIAS PRIMAS

Minociclina	USP 23, pág. 1029
Copovidona	<i>Ph. Eur.</i> 1997, pág. 680
Crospovidona	USP 23, pág. 2239
Celulosa microcristalina	USP 23, pág. 2231
Estearato de magnesio	USP 23, pág. 2262
Hidroxipropilmetilcelulosa	USP 23, pág. 774
Dióxido de titanio	USO 23, pág. 1557
Polietilenglicol 4000	USP 23, pág. 2281
Colorante laca aluminica Amarillo N°6	<i>Monografía de Materias Primas</i>

3.2 CONTROL DE PRODUCTOS INTERMEDIOS

3.2.1 Granulado.

Antes de comprimir el granulado deberá cumplir con los ensayos de identificación y valoración de minociclina como se indica en el producto terminado.

3.2.2 Núcleos.

- a) Aspecto: Comprimido circular, biconvexo, ranurado de color amarillento.

Diámetro: Aprox. 6,5 mm.

Espesor: Aprox. 3,1 mm.

- b) Peso: 100 mg $\pm$ 5%.

Variación de Peso: Se procederá de acuerdo a la USP 23, pág. 989.

Pesar en forma individual 20 unidades escogidas al azar y determinar el peso promedio.

No más de 2 unidades podrán diferir en más de un 5% del peso promedio y ninguno deberá hacerlo más del doble de este porcentaje.

- c) Dureza: Se determina con Durómetro Pharma Test modelo PTB 311. Debe estar comprendida entre 4,0 – 8,0 kp.
- d) Friabilidad: Se determina con el probador de desgaste por fricción de comprimidos de marca Pharma Test tipo PTF.
- El ensayo se efectúa sobre 20 núcleos con un tiempo de rotación de 4 minutos a 25 rpm.
- El desgaste no será mayor que 1%.
- e) Desintegración: Se realiza con el aparato indicado en la USP 23 ed. pág. 1791 empleando agua mantenida a 37° C. El tiempo de desintegración deberá ser menor que 30 minutos.
- f) Identificación: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.
- g) Valoración: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.
- h) Uniformidad de Dosis: Se procede de acuerdo a como se describe en Producto Terminado.

3.3 CONTROL PRODUCTO TERMINADO

- a) Aspecto. Comprimido circular, biconvexo, ranurado, amarillento, recubierto con una película de color anaranjado.

Diámetro: Aprox. 6,5 mm.

Espesor: Aprox. 3,1 mm.
- b) Peso: $103,9\text{mg} \pm 5\%$ (teórico según fórmula).
- c) Identificación: El tiempo de retención del peak de minociclina en el cromatograma de la muestra corresponde respectivamente al peak de la solución estándar obtenidos en la valoración.
- d) Valoración por HPLC (Ver Métodos).
- f) Uniformidad de dosis (Ver Métodos).
- g) Test de Disolución (Ver Métodos).

ANEXO 6

**ÍNDICE DE ANÁLISIS Y ENSAYOS GENERALES REALIZADOS PARA
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO Y ESTUDIO ES ESTABILIDAD
ACELERADA.**

PRODUCTO	MINOCICLINA 100 mg	SERIE	P 00071201
F. FARMACÉUTICA	COMPRIMIDOS	MÉTODO ANALÍTICO	HPLC

Nº DE ANÁLISIS	ENSAYO	MUESTRAS (Nombre,Serie, Proveedor)	DIA	REALIZADO POR
001	Selectividad	Degradación Fotolítica	15/05/2001	Leonardo Manque
		Degradación Termolítica	15/05/2001	Leonardo Manque
		Degradación Forzada :		
		Hidrólisis Ácida	09/08/2001	Leonardo Manque
		Hidrólisis Básica	09/08/2001	Leonardo Manque
		Reducción	09/08/2001	Leonardo Manque
002	Linealidad	Oxidación	09/08/2001	Leonardo Manque
		Estandares de Minociclina:		
		50 %	04/06/2001	Leonardo Manque
		75 %	05/06/2001	Leonardo Manque
		100 %	05/06/2001	Leonardo Manque
		125 %	05/06/2001	Leonardo Manque
003	Exactitud	150 %	06/06/2001	Leonardo Manque
		Muestras de Minociclina + excipientes a :		
		70 %	26/06/2001	Leonardo Manque
		100 %	27/06/2001	Leonardo Manque
004	Precisión	130 %	27/06/2001	Leonardo Manque
		Estandares de Minociclina:		
		50 %	04/06/2001	Leonardo Manque
		75 %	05/06/2001	Leonardo Manque
		100 %	05/06/2001	Leonardo Manque
		125 %	05/06/2001	Leonardo Manque
		150 %	06/06/2001	Leonardo Manque

N° DE ANALISIS	ENSAYO	MUESTRAS (Nombre,Serie, Proveedor)	DIA	REALIZADO POR
005	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 1ª mes 40°C LoteS: 1-2	04/07/2001	Marilén Cárdenas
		Muestras 2ª mes 40°C Lotes: 1	04/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 40°C Lote: 1	04/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 40°C Lote: 2	04/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 40°C Lote: 3	04/07/2001	Leonardo Manque
006	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 2ª mes 50°C Lote : 2-3	06/07/2001	Marilén Cárdenas
		CM 2ª mes 50°C Lote: 2-3	06/07/2001	Marilén Cárdenas
		Muestras 1ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		CM 1ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		Muestras 2ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		CM 2ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		Muestras 3ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
007	Valoración de Minociclina EEA	CM 3ª mes 40°C/75%HR	06/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		Muestras 1ª mes 45°C/90%HR	09/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		CM 1ª mes 45°C/90%HR	09/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		
		Muestras 2ª mes 45°C/90%HR	09/07/2001	Leonardo Manque
		Lotes: 1 - 2 - 3		

N° DE ANALISIS	ENSAYO	MUESTRAS (Nombre,Serie, Proveedor)	DIA	REALIZADO POR
008	Valoración de Minociclina EEA	CM 2ª mes 45°C/90%HR Lotes: 1 - 2 - 3	09/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 45°C/90%HR Lotes: 1 - 2 - 3	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 45°C/90%HR Lotes: 1 - 2 - 3	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 40°C Lote: 1	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 40°C Lote: 1	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 40°C Lote: 2	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 40°C Lote: 3	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 1ª mes 45°C Lote: 2	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 1ª mes 45°C Lote: 3	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 45°C Lote: 1	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 45°C Lote: 2	10/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 45°C Lote: 2	10/07/2001	Leonardo Manque
009	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 1ª mes 45°C Lote: 2	11/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 1ª mes 45°C Lote: 3	11/07/2001	Leonardo Manque
010	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 2ª mes 45°C Lote :1	12/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 2ª mes 45°C Lote :2	12/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 2ª mes 45°C Lote : 3	12/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 45°C Lotes: 1	12/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 45°C Lotes: 2	12/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 45°C Lotes: 3	12/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 45°C Lote: 3	12/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 45°C Lote: 3	12/07/2001	Leonardo Manque

N° DE ANALISIS	ENSAYO	MUESTRAS (Nombre,Serie, Proveedor)	DIA	REALIZADO POR
011	Valoración de Minociclina EEA	CM 1ª mes 40°C Lotes: 1-2	13/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 2ª mes 40°C Lote : 2	13/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 40°C Lote: 2	13/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 45°C Lote: 1	13/07/2001	Leonardo Manque
012	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 3ª mes 50°C Lotes: 1-3	17/07/2001	Marilén Cárdenas
		CM 3ª mes 50°C Lote: 1-3	17/07/2001	Marilén Cárdenas
013	Valoración de Minociclina EEA	Muestras Iniciales 100 mg Lotes: 1 - 2 - 3	24/07/2001	Marilén Cárdenas
014	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 1ª mes 40°C Lote: 3	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 1ª mes 40°C Lote: 3	27/07/2001	Leonardo Manque
015	Valoración de Minociclina EEA	Muestras 2ª mes 40°C Lote : 3	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 40°C Lote: 3	27/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 1ª mes 45°C Lote: 1	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 1ª mes 45°C Lote: 1	27/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 1ª mes 50°C Lote: 1-2-3	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 1ª mes 50°C Lote: 1-2-3	27/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 2ª mes 50°C Lote : 1	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 2ª mes 50°C Lote: 1	27/07/2001	Leonardo Manque
		Muestras 3ª mes 50°C Lote: 2	27/07/2001	Leonardo Manque
		CM 3ª mes 50°C Lote: 2	27/07/2001	Leonardo Manque

N° DE ANALISIS	ENSAYO	MUESTRAS (Nombre, Serie, Proveedor)	DIA	REALIZADO POR
016	Test de Disolución	50 mg Muestras Iniciales Lote A	17/07/2001	Leonardo Manque
017	Test de Disolución	100 mg Muestras Iniciales Lote: 1 Muestras Iniciales Lotes: 2 - 3	17/07/2001 18/07/2001	Leonardo Manque Leonardo Manque
018	Test de Disolución	3° mes 40°C Lotes: 1 - 2 3° mes 40°C Lote: 3 3° mes 45°C Lote: 1 3° mes 45°C Lotes: 2 - 3 3° mes 50°C Lotes: 1 - 2 - 3 3° mes 40°C / 75% HR Lotes: 1 - 2 - 3 3° mes 45°C / 90% HR Lotes: 1 - 2	18/07/2001 18/07/2001 18/07/2001 18/07/2001 19/07/2001 19/07/2001 19/07/2001 19/07/2001	Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque Leonardo Manque
019	Test de Disolución	3° mes 45°C / 90% HR Lote: 3	20/07/2001	Marilén Cárdenas
020	Dureza	Muestras Iniciales Lote: 1-2-3 M 1° 2° 3° mes 40°C Lotes: 1-2-3 M 1° 2° 3° mes 45°C Lotes: 1-2-3 M 1° 2° 3° mes 50°C Lotes: 1-2-3 M 1° 2° 3° mes 40°C/75% Lotes: 1-2-3 M 1° 2° 3° mes 45°C/90% Lotes: 1-2-3	25/07/2001 25/07/2001 25/07/2001 25/07/2001 25/07/2001 25/07/2001	Marilén Cárdenas Marilén Cárdenas Marilén Cárdenas Marilén Cárdenas Marilén Cárdenas Marilén Cárdenas
021	Valoración de Minociclina EEA	50 mg Muestras Iniciales Lote A	25/09/2001	Leonardo Manque

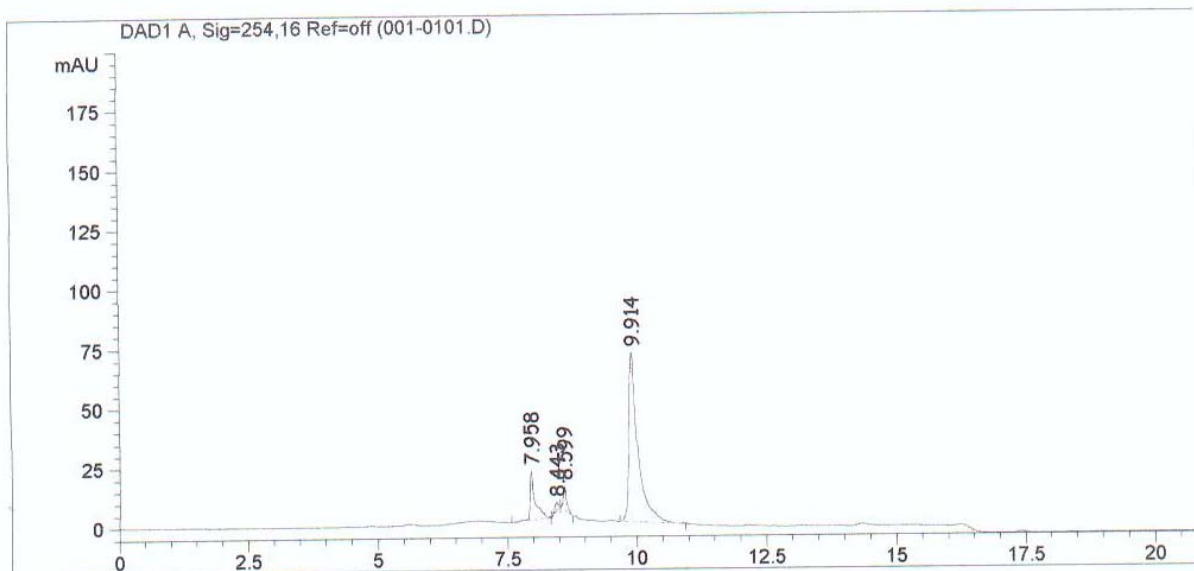
ANEXO 7. CROMATOGRAMAS.

Cromatograma 1: Original obtenido al montar la técnica descrita en la referencia utilizada (Xu, Quanyun A.,1999).

```
=====
Injection Date   : 26-04-2001 01:01:08 p.m.      Seq. Line :    1
Sample Name      : St Mino 25/4                  Vial       :    1
Acq. Operator    : Leonardo                      Inj        :    1
                                           Inj Volume : 20 µl

Sequence File    : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\MINOCI.S
Method           : C:\HPCHEM\1\METHODS\MINOCI.M
Last changed     : 26-04-2001 01:22:23 p.m. by Leonardo
                  (modified after loading)

Prueba Minociclina St.
=====
```



External Standard Report

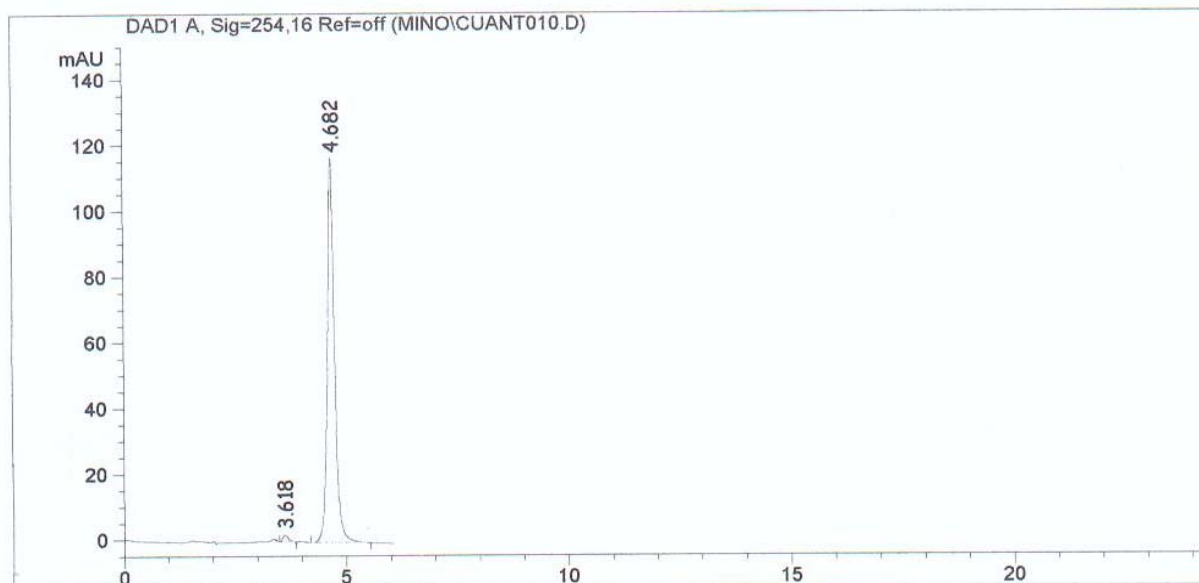
```
=====
Sorted By       : Signal
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
1 Warnings or Errors :
```

Warning : Recalibration not done: Level 1 doesn't exist

Cromatograma 2: Obtenido al modificar la proporción de fase móvil (Buffer Fosfato/Acetonitrilo, 65:35), con el fin de disminuir el tiempo de retención del peak de minociclina y eliminar otros peak interferentes.

```
=====
Injection Date   : 13-07-2001 08:23:35 a.m.      Seq. Line :    8
Sample Name     : CM 1/40°C -3                  Vial      :    8
Acq. Operator   : Leonardo                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File    : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\MINCUANT.S
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\MINOCI.M
Last changed    : 13-07-2001 08:22:02 a.m. by Leonardo
Cuantificación Minociclina.
=====
```



External Standard Report

```
=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : Friday 13 13e July 13e 2001 07:02:52 a.m.
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
=====
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=254,16 Ref=off

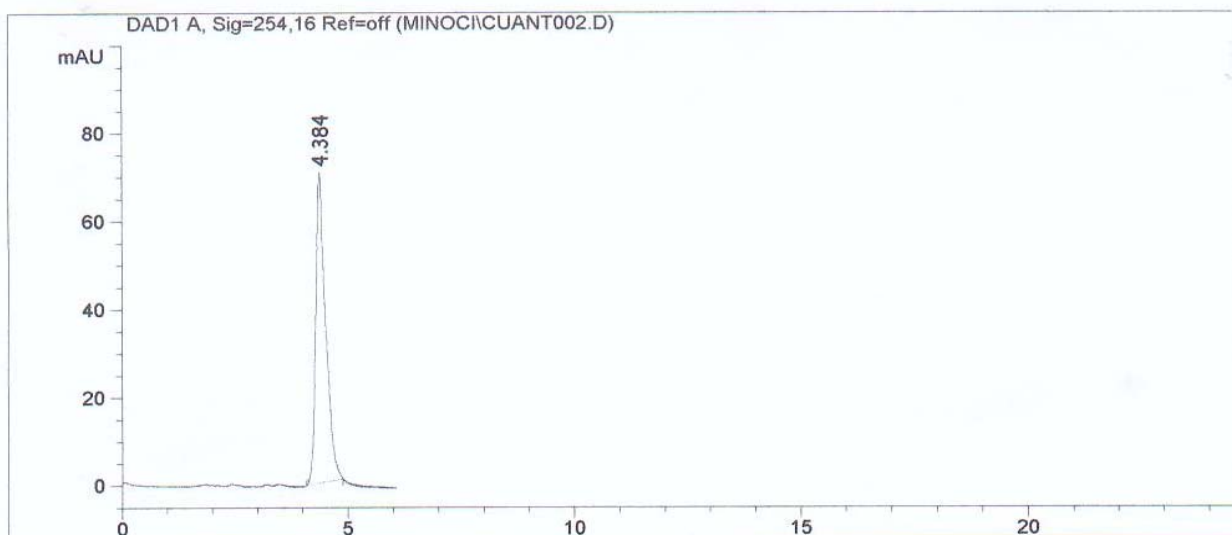
RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg]	Grp	Name
4.682	BBA	1313.25391	7.78398e-2	102.22348		MINOCICLINA

Totals : 102.22348

Results obtained with enhanced integrator!

Cromatograma 3: Cromatograma de minociclina por HPLC bajo condiciones finales de tratamiento de muestra y condiciones cromatográficas. El método mediante el cual se obtuvo este cromatograma fue el cual se validó.

```
=====
Injection Date   : 05-07-2001 08:01:44 p.m.      Seq. Line :    1
Sample Name     : St. 1                          Vial      :    1
Acq. Operator   : Leonardo                       Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl
=====
```



```
=====
Calibration Table (after recalibration)
=====
```

Calib. Data Modified : Thursday 5 5e July 5e 2001 08:08:06 p.m.

Level 1 calibrated: Average Response Factors of all calibrations,
Floating Average of Retention Times, New 75%

Signal 1: DAD1 A, Sig=254,16 Ref=off

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [mg]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
4.409	1 1	4.19650e-2	1107.86816	3.78791e-5	MINOCICLINA

Rel. Reference Window : 10.000 %
 Abs. Reference Window : 3.100 min
 Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
 Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
 Uncalibrated Peaks : not reported
 Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
 Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear
 Origin : Included
 Weight : Equal

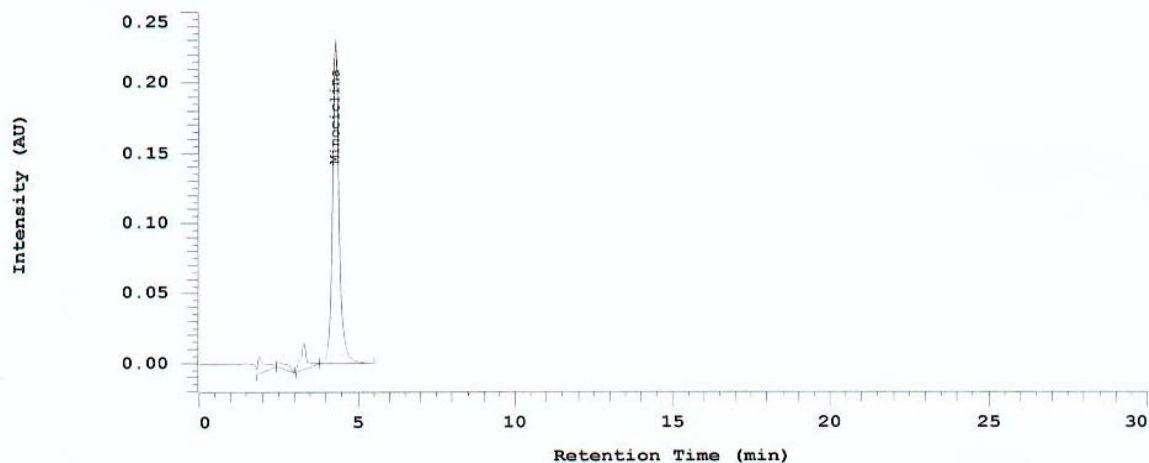
Cromatograma 4: Cromatograma de minociclina por HPLC obtenido bajo condiciones finales del método desarrollado, en ensayo realizado en equipo de HPLC alternativo.

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 06/06/01 07:25 AM
 Processing Method: Minociclina
 System (acquisition): Inv + Des
 Application(reporting): Minociclina
 Sample Name: Muestra 125%
 Injection from this vial: 1 of 5
 Sample Description: Linealidad

Reported: 06/06/01 07:31 AM

Series: 0003
 Vial Number: 6
 Vial Type: UNK
 Volume: 20.0 ul



No.	RT	Area	Conc 1 mg	Name	BC	Purity
4	4.31	1500260	0.066	Minociclina	BB	1.000
		1500260	0.066			

Peak rejection level: 0

RT	Name	k'	Asym	N
4.31	Minociclina	429.67	1.23	3248

RT	Name	Alpha	S/N
4.31	Minociclina	---	---

Asymmetry warning outside the range of: 0.660 to 2.000
 No. of theoretical plates warning at less than: 500
 Resolution warning at less than: 1.500
 Signal to noise ratio warning at less than: 3

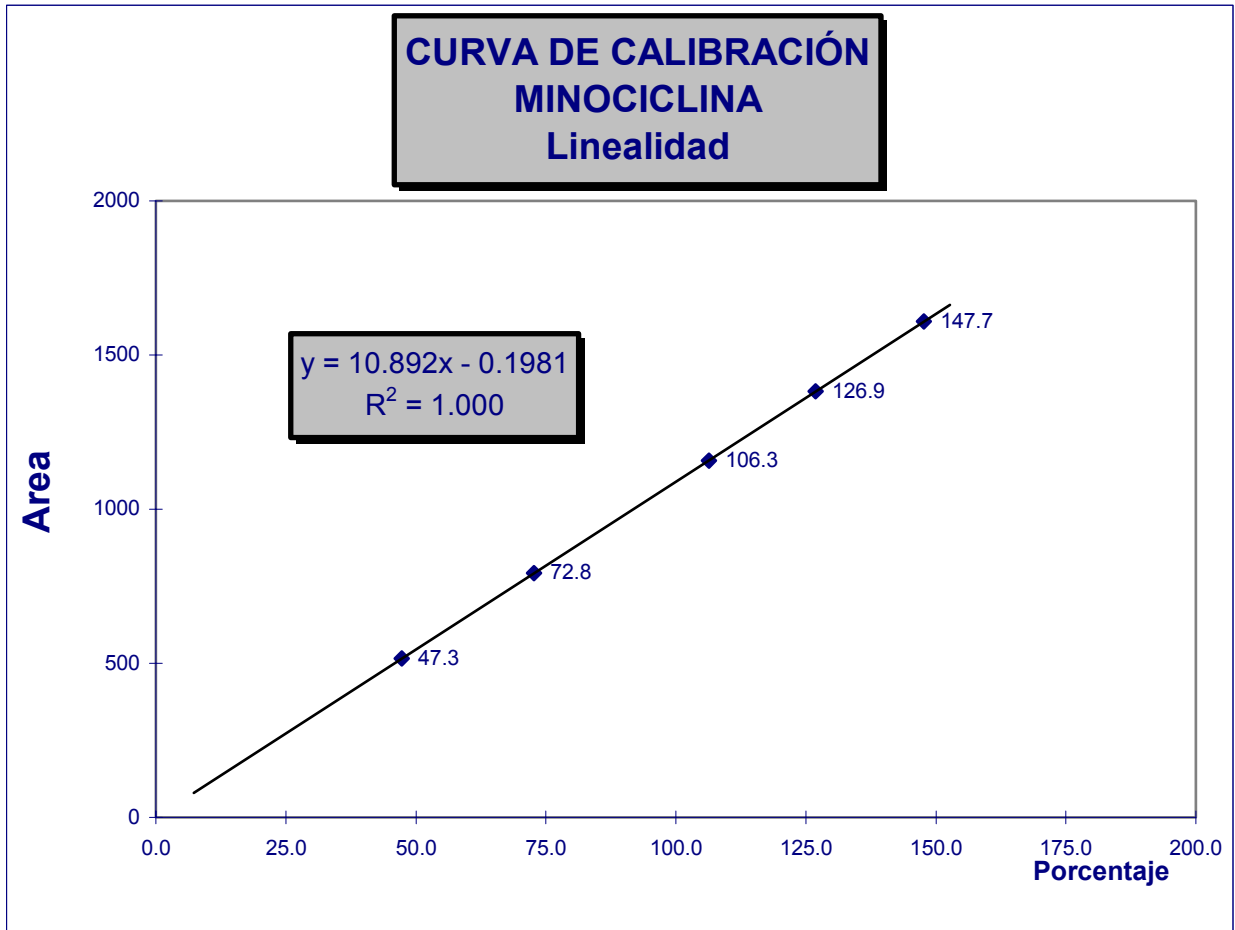
ANEXO 8. GRAFICOS

Grafico 1: “Gráfica de la curva de calibración obtenida para la linealidad de Minociclina”.

ANEXO 9. EJEMPLO DE CÁLCULO

Resultados tablas de Exactitud , Linealidad y Precisión.

	Porcentaje	Area Promedio			
	X	Y	X*Y	X ²	Y ²
	47.290	515	24358.744	2236.344	265320.704
	72.750	792	57650.337	5292.563	627968.276
	106.310	1158	123103.292	11301.816	1340883.655
	126.890	1382	175376.649	16101.072	1910243.537
	147.670	1608	237526.662	21806.429	2587260.643
Suma	500.910	5456	618015.7	56738.224	6731676.815
Cuadrado	250910.828	29769188			

$$S_{xy^2} = 0.0$$

$$S_b = 0.000256787$$

$$b \pm t \cdot S_b = 0.000712841 \quad \begin{array}{l} + \quad 10.89311179 \\ - \quad 10.89168611 \end{array}$$

$$S_a = 0.08$$

$$a \pm t \cdot S_a = 0.21 \quad \begin{array}{l} + \quad 0.211426769 \\ - \quad -0.210167557 \end{array}$$

Conc. %	Area	Conc. % ²	Area ²	Conc. % x Area
47.3	513.76935	2236.3441	263958.945	24296.15
47.3	514.01624	2236.3441	264212.695	24307.83
47.3	515.83453	2236.3441	266085.2623	24393.81
47.3	514.99567	2236.3441	265220.5401	24354.15
47.3	516.84875	2236.3441	267132.6304	24441.78
72.8	786.95221	5292.5625	619293.7808	57250.77
72.8	790.44208	5292.5625	624798.6818	57504.66
72.8	791.26947	5292.5625	626107.3742	57564.85
72.8	798.51147	5292.5625	637620.5677	58091.71
72.8	795.04724	5292.5625	632100.1138	57839.69
106.3	1156.2511	11301.8161	1336916.606	122921.05
106.3	1155.12488	11301.8161	1334313.488	122801.33
106.3	1157.84131	11301.8161	1340596.499	123090.11
106.3	1161.37793	11301.8161	1348798.696	123466.09
106.3	1159.23132	11301.8161	1343817.253	123237.88

para n-2 grados de libertad

$$t_r = \frac{1.000000224 \times \sqrt{(5-2)}}{(1 - 1.000000224)} = 3,45 \times 10^{13}$$

Precisión

$$\begin{array}{r} 513,76935 \\ 514,01624 \\ 515,83453 \\ 514,99567 \\ \underline{516,84875} \end{array} \quad \begin{array}{l} - \\ X = \frac{2575,46454}{5} = 515,0929 \end{array}$$

$$\Sigma = 2575,46454$$

$$\begin{array}{rclcl} 513,76935 & - & 515,0929 & = & -1,32355^2 & = & 1,7518 \\ 514,01624 & - & 515,0929 & = & -1,07667^2 & = & 1,1592 \\ 515,83453 & - & 515,0929 & = & 0,74162^2 & = & 0,5500 \\ 514,99567 & - & 515,0929 & = & -0,09724^2 & = & 0,0095 \\ 516,84875 & - & 515,0929 & = & 1,7558^2 & = & \underline{3,0830} \end{array}$$

$$\Sigma = 6,5534$$

$$s = \sqrt{(6,5534/4)} = 1.27998$$

$$RSD = (1,27998 \times 100)/515,0929 = 0,2485 \approx 0,25\%$$

Exactitud

En este caso la recuperación media (R) para n=9 medidas es de 100,64% (Tabla 20).

$$t_{\text{tabla}} (p=0.5, g.l= n-1) = 2,306$$

$$t_{\text{ob(exp)}} = (| 100 - 100,64 | \times \sqrt{9}) / 0.95 = 2,021 < 2,306 , \text{ por lo que no existen diferencias significativas}$$

ANEXO 10. HOJA DE REGISTRO DE CÁLCULOS

	<i>Aseguramiento de Calidad</i>	SERIE: 90210
	<i>REGISTRO DE CALCULOS</i>	

PRODUCTO	_____	Nº Analisis	_____
F. FARMACÉUTICA	_____	FECHA INICIO ANÁLISIS	_____
SERIE	_____	FECHA TÉRMINO ANÁLISIS	_____
MÉTODO ANALÍTICO	_____	REALIZADO POR	_____

Nombre :	Nº de Analisis :	Potencia Estándar :	Nombre :	Nº de Analisis :	Potencia Estándar :
----------	------------------	---------------------	----------	------------------	---------------------

Pesos

1. Calibración Instrumental

Dilución del Estándar :

2. Muestra

Dilución de la Muestra :

3. Calculo de Resultados

Ejemplo de un resultado (en cantidad y porcentaje)

Pg. 1 de 1