

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



VERIFICACION DEL METODO FARMACOPEICO PARA LA
DETERMINACION DEL COMPUESTO RELACIONADO "A" DE
GABAPENTINA CAPSULAS.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

ERIKA JOSETTE BARRERA DE HERNANDEZ
KATHERIN AZUCENA BENITEZ DE LA ROSA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

JUNIO 2017

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNÁN RÍOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL EVALUADOR

COORDINADOR DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y COSMÉTICOS:

MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía

COORDINADORA DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y COSMÉTICOS:

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

DOCENTES ASESORES:

Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

Lic. Nancy Elizabeth Sánchez Muñoz

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos y dedicamos este trabajo de graduación en primer lugar a Dios todo poderoso, quien nos guió con mucha sabiduría y paciencia durante nuestra carrera.

A nuestras familias por tener siempre palabras de aliento todo el tiempo, dándonos ánimos para continuar y por todos los sacrificios realizados muchas gracias.

A nuestras docentes asesoras: Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, Licda. Nancy Elizabeth Sánchez Muñoz, por darnos esta gran oportunidad para cumplir nuestra meta, por todo el tiempo dedicado, por sus consejos y por guiarnos en este trabajo muchas gracias.

Al Laboratorio Farmacéutico Nacional por todas las facilidades que nos brindaron para llevar a cabo la realización de nuestro trabajo de graduación.

Y también agradecemos al jurado calificador: MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía y MSc. Rocío Ruano de Sandoval que nos evaluaron y nos dieron su ayuda para realizar un mejor trabajo.

Muchas gracias y que Dios derrame infinitas bendiciones

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios por ser siempre la mano que me ayudo a levantarme en los momentos más difíciles, por ser mi guía y darme las fuerzas necesarias para afrontar todos los retos que surgieron en toda mi carrera, porque sin el nada hubiese sido posible.

A mis padres Azucena de Benítez y Arístides Benítez por ser ambos el motor más importante de vida, los mentores que me enseñaron a luchar por mis objetivos, su apoyo incondicional y por tantos sacrificios realizados para que yo pudiera cumplir mi sueño, son un pilar importante en mi vida, los amo

A mi familia por brindarme siempre su apoyo en cada momento que lo necesite especialmente mi hermano mayor Jaime Benítez que gracias a su apoyo he logrado parte de mis objetivos; así mismo a mi sobrinito Leonardo Benítez que aun siendo un niño al ver su mirada angelical y esa alegría me motivó a seguir adelante para cumplir esa meta y ser un ejemplo para su vida.

A Josué Enrique Murcia por ser la persona incondicional que siempre ha sido, por ser mi novio, mejor amigo, compañero gracias por su amor, por apoyarme siempre aun en mis peores momentos y por darme esa alegría día a día

A mi compañera de tesis Erika Barrera por ser una excelente compañera, darme su confianza y poner su empeño para que ambas finalicemos este gran proyecto que iniciamos con el objetivo de superarnos como futuros profesionales.

Y a todos mis amigos y personas que formaron parte de esta etapa, muchas gracias y Bendiciones.

Katherin Azucena Benítez De La Rosa

DEDICATORIA

Primeramente al Dios Todopoderoso por ser quien me dio sabiduría, salud y fuerzas durante los años de estudio de mi carrera. Fue quién me mantuvo en pie luchando en medio de obstáculos hasta lograr mi meta, mi proveedor aun en momentos difíciles. Gracias Dios por todo lo que me has dado. Puedo decir que hasta aquí me ayudo Jehová, sin Él nada hubiera sido posible.

A mis amados padres, Patricia Soledad Girón y Herbert Jeovani Barrera quienes siempre me dieron su apoyo y amor incondicional. Por sus muchos sacrificios para que pudiera culminar mi carrera y llegar a ser alguien en la vida. Hoy aquí está el fruto de esos sacrificios papis. Los amo mucho.

A mi hermana menor Katherine Andrea por ser darme su apoyo y palabras de ánimo y por ser siempre aquella persona que me daba alegría aun en momentos de aflicción.

A mi amado esposo, William Mauricio Hernández por su amor y apoyo incondicional para culminar este trabajo de graduación y por las palabras de aliento que me daba cuando sentía que ya no podía más.

A mi compañera Katherin Benitez que estuvo luchando conmigo para superar los obstáculos que enfrentamos y por no abandonarme en este trabajo que iniciamos y ahora finalizamos juntas con mucho orgullo y satisfacción.

A mis compañeras de trabajo que me brindaron su apoyo y me dieron ánimos para seguir y salir adelante con este trabajo de graduación.

Erika Josette Barrera de Hernández

ÍNDICE

	Pág. N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xx
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	25
3.1 Generalidades de la Gabapentina	25
3.1.1 Propiedades farmacocinéticas	26
3.1.2 Mecanismo de acción	27
3.1.3 Usos terapéuticos	27
3.1.4 Dosis	28
3.1.5 Tratamiento epilepsia	28
3.1.6 Reacciones Adversas	29
3.1.7 Contraindicaciones y precauciones	29
3.2 Impurezas en fármacos y productos farmacéuticos	29
3.3 Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	31
3.3.1 Patente 482	33
3.4 Formas farmacéuticas sólidas (cápsulas)	34
3.5 Estándares de Referencia USP	37
3.5.1 Uso y almacenamiento de los estándares	38
3.6 Método Analítico	39
3.7 Validación y Verificación	40

3.7.1	Proceso de verificación	41
3.7.2	Requisitos para una verificación	42
3.7.3	Los parámetros de desempeño que se consideran en una validación	43
3.7.3.1	Precisión del sistema	43
3.7.3.2	Adecuabilidad del sistema	43
3.7.3.3	Exactitud (Recobro)	44
3.7.3.4	Precisión del método	45
3.7.3.5	Linealidad del Sistema	47
3.7.3.6	Especificidad o selectividad	49
3.7.3.7	Límite de Detección	49
3.7.3.8	Límite de cuantificación	50
3.7.3.9	Robustez	50
3.8	Clasificación de los métodos analíticos	51
3.9	Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)	51
3.10	Protocolo de Validación o Verificación	56
Capítulo IV		
4.0	Diseño Metodológico	59
4.1	Tipo de Estudio	59
4.2	Investigación Bibliográfica	59
4.3	Investigación de Campo	60
4.4	Parte Experimental	60
4.4.1	Método de Análisis	61
4.5	Parámetros de desempeño evaluados para la verificación del método farmacopéico de Determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	69
4.5.1	Exactitud	69
4.5.2	Precisión del método	72

4.5.3 Precisión Intermedia	72
4.5.4 Especificidad	73
4.5.5 Límite de Cuantificación	73
Capítulo V	
5.0 Resultados	76
5.1 Prueba de ensayo del activo de Gabapentina lote 1	77
5.2 Prueba de ensayo del activo de Gabapentina lote 2	77
5.3 Prueba de ensayo del activo de Gabapentina lote 3	78
5.4 Elaboración de protocolo de verificación	79
5.5 Parámetros de Desempeño evaluados	92
5.5.1 Análisis de Lote 1 de Gabapentina cápsula	93
5.5.2 Análisis de Lote 2 de Gabapentina cápsula	99
5.5.3 Análisis de Lote 3 de Gabapentina cápsula	104
Capítulo VI	
6.0 Resultados	120
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	123
Bibliografía	
Anexos	

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág. N°
1. Estructura química de Gabapentina	25
2. Dolor fisiológico vs dolor neuropático	27
3. Estructura química del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	32
4. Tamaño y volúmenes de cápsulas	35

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº	Pág. Nº
1. Propiedades Fisicoquímicas de Gabapentina	25
2. Propiedades Farmacocinéticas de la Gabapentina	26
3. Propiedades físicas de la Lactama de Gabapentina	32
4. Ventajas y Desventajas de las formas farmacéuticas sólidas	34
5. Ventajas y Desventajas de las formas farmacéuticas de cápsulas	35
6. Controles realizados en producto terminado	37
7. Datos requeridos para la validación	41
8. Parámetros de Desempeño que se evalúan en una Verificación	43
9. Fase Móvil en gradiente para el análisis del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina.	64
10. Resultados del ensayo de Gabapentina para lote 1	77
11. Resultados del ensayo de Gabapentina para lote 2	78
12. Resultados del ensayo de Gabapentina para lote 3	78
13. Proporciones de fase móvil en gradiente para compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	89
14. Parámetro a evaluar en la verificación del método analítico	90
15. Resultados de la precisión del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	93
16. Resultado del analista 1 y 2 para 6 pesadas de muestra de Gabapentina Cápsula.	94
17. Resumen de resultado de la precisión Intermedia del método Para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	94

18. Datos para determinación de Coeficiente de determinación (r^2) Y Coeficiente de correlación (r)	95
19. Porcentajes de recobro para tres niveles de concentración	96
20. Resumen de resultado de la exactitud del método para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.	97
21. Resultados de la especificidad del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	97
22. Resultados de los cinco niveles de concentración del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	98
23. Respuesta señal-ruido de blancos	98
24. Resultados de la precisión del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	99
25. Resultado del analista 1 y 2 para 6 pesadas de Gabapentina Cápsula.	100
26. Resumen de resultado de la precisión Intermedia del método Para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	100
27. Datos para determinación de Coeficiente de determinación (r^2) y Coeficiente de correlación (r)	101
28. Porcentajes de recobro para tres niveles de concentración	101
29. Resumen de resultado de la exactitud del método para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.	102
30. Resultados de la especificidad del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	102
31. Resultados de los cinco niveles de concentración del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	103
32. Respuesta señal-ruido de blancos	103

33. Resultados de la precisión del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	104
34. Resultado del analista 1 y 2 para 6 pesadas de Gabapentina Cápsula.	105
35. Resumen de resultado de la precisión Intermedia del método Para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina	105
36. Datos para determinación de Coeficiente de determinación (r^2) y Coeficiente de correlación (r)	106
37. Porcentajes de recobro para tres niveles de concentración	106
38. Resumen de resultado de la exactitud del método para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.	107
39. Resultados de la especificidad del método para el Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	107
40. Resultados de los cinco niveles de concentración del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula	108
41. Respuesta señal-ruido de blancos	108
42. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación	112
43. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula lote 1	113
44. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula lote 2	115
45. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula lote 3	116

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Monografía de USP 38 para Gabapentina cápsula
2. Guía de Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos del Organismo Salvadoreño de Acreditación
3. Preparación de soluciones reactivo
4. Formato de protocolo de verificación para el análisis del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina
5. Marchas analíticas de parámetros de desempeño
6. Tabla de fórmulas para cálculos
7. Formato de informe de verificación para el análisis del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina
8. Cromatograma del estándar de Gabapentina para la prueba de ensayo de Gabapentina cápsula
9. Cromatograma del estándar del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina para determinación de impureza
10. Cromatograma de blanco y placebo para prueba de ensayo de Gabapentina
11. Cromatograma de producto farmacéutico Gabapentina cápsula
12. Cromatograma de las tres muestras de Gabapentina cápsula para prueba de ensayo de Gabapentina
13. Cromatograma de la precisión del método del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula
14. Cromatograma de estándar y muestra de la precisión Intermedia del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula
15. Cromatograma de la exactitud del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula

16. Cromatograma de la especificidad del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula
17. Cromatograma de límite de cuantificación blanco y muestra del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula
18. Equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) marca Thermo Scientific.

RESUMEN

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal verificar el método farmacopéico para la determinación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula para conocer si el método analítico funciona correctamente en condiciones de trabajo reales en un Laboratorio Farmacéutico Nacional y si es adecuado para su uso previsto. El proceso de verificación del método analítico se realizó evaluando los parámetros de desempeño: precisión del método, precisión intermedia, exactitud, especificidad y límite de cuantificación.

Para la investigación, se realizó un muestreo dirigido y puntual a tres lotes de Gabapentina de 300 mg, en la forma farmacéutica de cápsulas fabricadas en un Laboratorio Farmacéutico Nacional las cuales fueron analizadas en el periodo de julio a octubre del año 2016.

Para la precisión del método y la precisión intermedia de los lotes 1, 2 y 3 se obtuvo 0.32 % de compuesto relacionado "A" de Gabapentina presente en las cápsulas de Gabapentina con coeficientes de variación menor a 10.0 %. En la exactitud del método se obtuvieron valores de coeficiente de determinación y coeficiente de correlación entre 0.997 y 0.999 con porcentajes de recobro entre 100%-105%. En el parámetro de especificidad, no se encontró interferencia de los excipientes del producto farmacéutico y la respuesta obtenida fue únicamente del analito en estudio. Para el límite de cuantificación, se determinó que la mínima cantidad aceptable que puede ser cuantificada de compuesto relacionado "A" de Gabapentina es de 2.0 ppm.

En conclusión, el método analítico evaluado para la determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula cumplió con las especificaciones establecidas en la normativa de la Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA), por lo tanto; el método es adecuado para su uso

previsto. Finalmente, se recomienda que todo Laboratorio Farmacéutico Nacional tenga métodos analíticos validados y/o verificados para asegurar que un determinado método proporciona datos confiables.

CAPÍTULO I
1.0 INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCIÓN

Un producto farmacéutico es toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tiene efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio y que se presenta en una forma farmacéutica definida. En estos productos farmacéuticos pueden estar presentes impurezas y productos de degradación, a los cuales se les debe de controlar el límite máximo para asegurar la calidad e inocuidad de un medicamento.

En los productos farmacéuticos existen compuestos o sustancias denominados compuestos relacionados, los cuales están vinculados estructuralmente con el principio activo. Estos compuestos pueden ser impurezas que surgen del proceso de síntesis o productos de degradación que resultan de los procesos de fabricación o pueden surgir también durante el almacenamiento de un producto farmacéutico.

Para evaluar la detección y cuantificación de compuestos relacionados, se debe de contar con un método analítico validado que establezca evidencia documentada para demostrar que dicho método es adecuado para un determinado compuesto.

Los métodos analíticos farmacopéicos no requieren ser validados, sin embargo se deben verificar para comprobar que funcionan correctamente bajo condiciones reales de trabajo; por lo que, en el presente trabajo, se realizó la verificación del método analítico farmacopéico descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38) para la determinación del compuesto relacionado "A" (2-Aza-espiro[4,5]decan-3-ona) de Gabapentina en capsulas que contienen 300 mg de Gabapentina, con la finalidad de demostrar que dicho método cumple

para las condiciones del caso y es el indicado para ser empleado bajo condiciones de uso reales en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.

En la verificación del método se utilizaron 3 lotes diferentes y de cada lote se tomaron 40 cápsulas como muestra. Primero, se elaboró un protocolo en el cual se detallaron las pruebas específicas a realizar y todo lo requerido para llevar a cabo el proceso de verificación. Luego, se evaluaron los parámetros de desempeño de exactitud, especificidad, precisión del método, precisión Intermedia y límite de cuantificación utilizando el método Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) con un detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 210 nm. Finalmente, se elaboró el informe detallando los resultados obtenidos que fueron comparados con criterios establecidos por la Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA) para demostrar que el proceso de verificación cumple y que es el adecuado para ser empleado en futuros análisis de determinación y cuantificación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina.

Esta investigación se llevó a cabo durante los meses de julio a octubre del año 2016 en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.

CAPÍTULO II
2.0 OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Verificar el método farmacopéico para la determinación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Realizar un protocolo para la verificación del método farmacopéico para el ensayo del Compuesto Relacionado "A" del producto farmacéutico de Gabapentina cápsula.

2.2.2 Evaluar los parámetros de desempeño exactitud, precisión del método, precisión intermedia, especificidad y límite de cuantificación del método analítico por Cromatografía Líquida de Alta presión para prueba de cuantificación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

2.2.3 Comparar los parámetros de desempeño evaluados del apartado <1226> de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38) con los criterios de aceptación establecidos por el reglamento de la Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA).

2.2.4 Elaborar el informe final de los resultados obtenidos de los parámetros de desempeño evaluados.

CAPÍTULO III
3.0 MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades de la Gabapentina

La Gabapentina pertenece a un grupo de medicamentos llamados anticonvulsivantes o antiepilépticos. La epilepsia es un trastorno cerebral en el cual una persona tiene crisis epilépticas repetidas durante un tiempo. Las crisis epilépticas son episodios de actividad descontrolada y anormal de las neuronas que puede causar cambios en la atención o el comportamiento. Los medicamentos antiepilépticos son químicamente heterogéneos actuando así sobre el sistema nervioso central mediante diferentes mecanismos para el control de la actividad neuronal. ^{(8) (6)}

La Gabapentina es conocida químicamente como ácido 1-(aminometilciclohexano acético) como lo indica su estructura química:

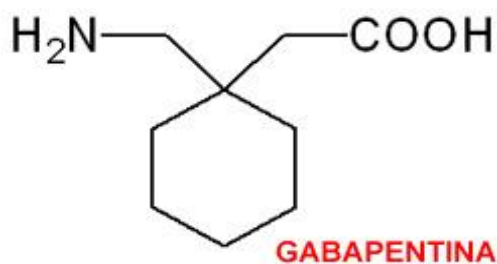


Figura N° 1. Estructura química de Gabapentina

Tabla N° 1. Propiedades fisicoquímicas de Gabapentina ⁽⁷⁾

Formula Molecular	$C_9H_{17}NO_2$
No. CAS	60142-96-3
Peso molecular	171.24 g/mol
Aspecto	Polvo cristalino
Color	Blanco
Olor	Inodoro

Tabla N° 1. (Continuación)

Sabor	Sabor amargo
Soluble en	Agua, soluciones acidas y básicas
Punto de fusión	164-167°C

3.1.1 Propiedades farmacocinéticas.

La Gabapentina es absorbida a nivel gastrointestinal; como punto principal el intestino delgado; no interfiriendo así los alimentos en el proceso de absorción, posee una vida media de 5-7 horas. El fármaco es eliminado a través de la orina sin interferencias ni modificaciones debido a que no es metabolizado en el organismo.

La gabapentina contiene un índice terapéutico amplio y parece ser segura inclusive si existiere una sobredosificación, esto debido a que se absorbe rápidamente y parcialmente por el sistema de transporte saturable L-aminoácido conformado principalmente por L-fenilalanina y L-leucina cuando la dosis se incrementa su biodisponibilidad disminuye.

Las propiedades farmacocinéticas de la gabapentina indican que su biodisponibilidad aumenta al ser disminuida la dosis, y esto se debe a la saturación del transportador utilizado por el mismo fármaco para atravesar la membrana, se caracteriza por la baja unión a proteínas que posee. ⁽⁸⁾⁽⁹⁾

Tabla N° 2. Propiedades farmacocinéticas de la Gabapentina ⁽⁹⁾

Dosis diaria/Biodisponibilidad	Unión a proteínas	Tiempo de vida media	Volumen de distribución	Sitio de absorción	Vía de eliminación
900mg/60% 1200mg/47% 2400mg/34% 3600mg/33% 4800mg/21%	Menor al 3%	5-7 horas	58 a 61 L	Del 50% al 60% en el tracto gastrointestinal superior	76-81% se elimina vía renal y 10-23% vía fecal

3.1.2 Mecanismo de acción.

El mecanismo de acción de la Gabapentina no es bien comprendido a pesar de que estructuralmente es similar al neurotransmisor GABA, no se une a sus receptores, además los efectos antinociceptivos (inhibición del dolor) en modelos de dolor neuropático no son revertidos con la administración de antagonistas de los receptores GABA_A y GABA_B.

El mecanismo de acción más aceptado hasta el momento es la interacción existente con las subunidades de los canales de calcio α -2-6, esta subunidad expresa cuatro isoformas de los cuales la 1 y la 2, expresan alta afinidad por la gabapentina. Estas acciones son llevadas a cabo de manera presináptica por eso la disminución en el flujo de calcio a este nivel, reduciendo así la presencia de glutamato, sustancia P y norepinefrina en la sinapsis. (8)(9)

3.1.3 Usos terapéuticos.

La Gabapentina fue aprobada por la FDA en 1993 para su comercialización en el tratamiento de crisis convulsivas en adultos y niños mayores de 12 años, pero fue hasta el 2005 que la FDA aprobó la Gabapentina para tratar un tipo de dolor neuropático el cual se define como aquel dolor iniciado o causado por la lesión o disfunción del sistema nervioso central iniciado mediante sensación de hormigueo, dolor, ardor, quemazón también puede ser punzante y de gran intensidad. (3)(9)

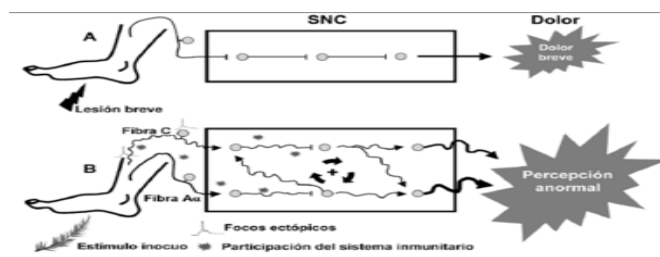


Figura N° 2. Dolor fisiológico vs dolor neuropático

3.1.4 Dosis.

Tratamiento del dolor neuropático. (Incluyendo el debido a la neuropatía diabética, dolor neuropático mixto y dolor neuropático de origen canceroso)

Administración oral: en adultos se recomienda iniciar el tratamiento con una dosis única de 300 mg, dos dosis de 300 mg el segundo día y tres dosis de 300 mg el tercer día. Seguidamente las dosis se pueden ir aumentando para conseguir un alivio del dolor hasta los 1800 mg/día. En la mayor parte de los estudios clínicos la eficacia del fármaco fue evaluada en el rango comprendido entre los 1800 y 3600 mg/día. Las dosis superiores a los 1800 mg/día no mostraron beneficios adicionales. ⁽⁶⁾⁽¹²⁾

3.1.5 Tratamiento de Epilepsia.

Administración oral en niños mayores de 12 años: las dosis efectivas de gabapentina son de 900 a 1800 mg/día repartidos en 3 administraciones. Las dosis de partida son de 300 mg tres veces al día. Se han utilizado dosis de hasta 2.400 mg/kg siendo bien toleradas. Las dosis no se deben espaciar más de 12 horas en el régimen de 3 dosis/día.

Niños de 3 a 12 años: las dosis de partida deben ser de 10-15 mg/kg repartidos en tres administraciones al día y la dosis efectiva se alcanza aumentando estas a lo largo de un período de 3 días. Las dosis efectivas de gabapentina en los pacientes 5 años o más son de 25-25 mg/kg repartidos en 3 administraciones al día. En los niños más pequeños, las dosis efectivas suelen ser de 40 mg/kg/día. En los estudios clínicos a largo plazo, se han tolerado muy bien dosis de hasta 50 mg/kg/día. ⁽⁶⁾⁽¹²⁾

3.1.6 Reacciones adversas.

Es un agente bien tolerado, con lo cual no se han reportado reacciones adversas graves, puede producir en forma dosis dependiente sueño, mareos, náuseas vómitos, cefalea, temblor, visión borrosa, sequedad en la boca, depresión y ataxia los cuales son comunes a los demás antiepilépticos. ⁽¹²⁾

3.1.7 Contraindicaciones y precauciones.

Contraindicada en pacientes con hipersensibilidad a la gabapentina, en padecimientos de insuficiencia renal, durante el embarazo y lactancia. Los antiácidos disminuyen su absorción, el alcohol y otros depresores del sistema nervioso central aumentan sus efectos sedantes. Al suspender la administración se debe disminuir progresivamente la dosis. ⁽¹²⁾

3.2 Impurezas en fármacos y productos farmacéuticos

Las impurezas o productos de degradación en fármacos pueden surgir durante el proceso de fabricación o durante el almacenamiento del fármaco. Los productos de degradación en productos farmacéuticos pueden surgir a partir de fármacos o productos de reacción del fármaco con el ambiente, con un excipiente o un sistema de envase-cierre primario. Se considera una impureza aquel componente de un fármaco que no es la entidad química definida como el fármaco, para un producto farmacéutico es cualquier componente que no sea un ingrediente de formulación. Un producto de degradación es una impureza que resulta de un cambio químico en el fármaco ocurrido durante la fabricación y/o almacenamiento del producto farmacéutico por el efecto de la luz, temperatura, pH, agua, o por reacción con un excipiente y/o sistema de envase-cierre primario. ⁽⁵⁾

Las impurezas en un fármaco se clasifican en 3 categorías:

1. Impurezas orgánicas (de proceso y del fármaco)
2. Impurezas inorgánicas
3. Disolventes residuales

Las impurezas orgánicas pueden surgir durante el proceso de fabricación y/o almacenamiento del fármaco. Estas pueden ser identificadas o no identificadas, volátiles, o no volátiles, e incluyen las siguientes:

1. Materiales iniciales
2. Subproductos
3. Productos intermedios
4. Productos de degradación
5. Reactivos, ligando y catalizadores
6. Isómeros geométrico y estereoisómeros

Las impurezas inorgánicas pueden resultar del proceso de fabricación y por lo regular se conocen e identifican. Estos incluyen:

1. Reactivos, ligando y catalizadores
2. Metales pesados u otros metales residuales
3. Sales inorgánicas
4. Otros materiales

El principio básico para establecer límites consiste en que los niveles de impurezas o de productos de degradación en un fármaco se deben controlar durante su desarrollo para garantizar su seguridad y calidad de uso en un producto farmacéutico. Por lo tanto, se debe de establecer evidencia documentada de que el método analítico usado para evaluar las impurezas o productos de degradación este validado y es adecuado para la detección y cuantificación de estos. ⁽⁵⁾

Para un producto farmacéutico, las especificaciones incluyen una lista de productos de degradación que se espera que estén presentes durante la fabricación del producto comercial y en las condiciones de almacenamientos recomendadas. ⁽⁵⁾

Para los productos de degradación que se reconocen como inusualmente potentes o que producen efectos farmacológicos tóxicos e inesperados, el límite de cuantificación/ detección de los procedimientos analíticos debe de ser proporcional al nivel que se deben controlar los productos de degradación. El concepto para establecer límites de productos de degradación se basa en aplicar un juicio científico bien establecido a los disponibles sobre la seguridad y estabilidad de un producto farmacéutico. Estos datos pueden incluir rutas de degradación del fármaco, el proceso de fabricación, interacciones conocidas del excipiente, cualquier estudio de evaluación de seguridad, estudios de estabilidad realizados en las condiciones de almacenamiento recomendadas y estudios auxiliares que puedan proporcionar información adicional sobre el perfil de estabilidad de un producto farmacéutico. Las impurezas que no son productos de degradación, por ejemplo, impurezas de proceso derivadas del fármaco, no se controlan en el producto farmacéutico, ya que se controlan en el fármaco y por lo consiguiente no se espera que estas impurezas aumenten con el paso del tiempo. ⁽⁵⁾

3.3 Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina

El Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina también conocido como Lactama de Gabapentina es una sustancia tóxica que se forma durante el almacenamiento o síntesis de las formulaciones de Gabapentina. Los primeros estudios realizados sobre la Gabapentina después de su descubrimiento a mediados de 1970s por Warner-Lambert demostraron que la Gabapentina está

propensa a sufrir una reacción química que resulta en la impureza conocida como Lactama de Gabapentina la cual es 25 veces más tóxica que la Gabapentina. Según los estudios que fueron realizados, la Lactama de Gabapentina causaba en vez de prevenir las crisis epilépticas. ⁽¹³⁾⁽⁷⁾

Estudios subsecuentes, revelaron que ambos la pureza de la Gabapentina inicial y los efectos catalíticos de algunos ingredientes o adyuvantes mezclados contribuían a la producción de la Lactama de Gabapentina. Posteriormente, dado los riesgos severos provocados por la Lactama, The Food and Drug Administration (FDA) restringió la Lactama de Gabapentina. Es por ello, que existe dificultad en preparar formulaciones estables de Gabapentina debido a las reacciones catalíticas que sufre con algunos adyuvantes. ⁽⁷⁾⁽¹³⁾

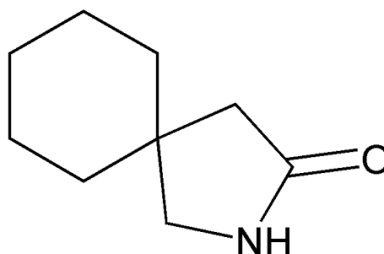


Figura N° 3. Estructura química del Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina (2-Aza-espiro[4,5]decan-3-ona)

Tabla N° 3. Propiedades físicas de la Lactama de Gabapentina ⁽⁷⁾

Nombre químico	Lactama de Gabapentina
Sinónimos	Gabapentin-lactam; Gabapentin USP RC A; Gabapentin EP Impurity A; 3-azaspiro[4.5]decan-2-one; Gabapentin impurity A; Pentamethylene pyrrolidinone
Descripción	Sólido color blanco
Formula química	$C_9H_{15}NO$
Peso molecular	153.22 g/mol

Tabla N° 3. (Continuación)

Punto de fusión	84-89 °C
Punto de ebullición	181 °C / 13mmHg
Categoría de riesgo	Irritante
Temperatura de almacenamiento	-20 °C congelador

3.3.1 Patente 482

La patente 482 de la Gabapentina brinda información sobre las condiciones necesarias para crear formulaciones estables de Gabapentina. Una composición pura farmacéutica y estable consiste esencialmente de: ⁽¹³⁾

1. Un ingrediente activo el cual es la Gabapentina libre de amino-ácidos en forma anhidra cristalina conteniendo menos del 0.5% de peso de su correspondiente lactama y menos de 20ppm de un anión de un ácido mineral.
2. Uno o más adyuvantes farmacéuticamente aceptables que no promuevan la conversión de más del 0.2% de peso de Gabapentina y su correspondiente forma lactamica cuando es almacenada a 25°C y una humedad atmosférica de 50% por 1 año.

La descripción de la patente 482 explica los esfuerzos de investigación acerca de la función de ciertos adyuvantes en el proceso de la conversión de la Lactama de Gabapentina. La formación de la lactama en las formulaciones de Gabapentina es causada en parte por efectos catalíticos de los ingredientes o adyuvantes que son combinados con la Gabapentina para hacer una formulación. El poloxamer NF es el único adyuvante que no afecta la estabilidad de la Gabapentina. ⁽¹³⁾

La especificación de la patente 482 también indica que un adyuvante puede ser aceptable bajo una condición pero no aceptable bajo diferente condición. En un

ensayo usando polietilenglicol (PEG) como adyuvante, la ciclización de la lactama tomo lugar a una extensión considerable; mientras que, cuando se usó con sustancias activas muy puras como Gabapentina pura, el polietilenglicol se encontró efectivamente usable como un excipiente. La especificación va más allá de explicar que para establecer cuales adyuvantes promueven la formación de la Lactama, se llevó a cabo una investigación laboriosa.

Los siguientes materiales adyuvantes, por ejemplo redujeron la estabilidad de los compuestos y deben de ser evitados en la composición de preparaciones farmacéuticas: almidón de maíz modificado, croscarmelosa sódica, copolímeros del ácido metacrilico (tipo A y C), intercambiadores anionicos, dióxido de titanio y gel de silicio como Aerosil 200.

Finalmente, la patente resume las condiciones que se deben de mantener para alcanzar una pura y estable composición farmacéutica de Gabapentina para no exceder el límite máximo de 0.5% de peso de lactama de Gabapentina el cual es considerado como permisible, y para asegurar la estabilidad de almacenamiento no solo del activo pero también de las preparaciones correspondientes de las formas farmacéuticas. ⁽¹³⁾

3.4 Formas Farmacéuticas sólidas (Cápsulas)

Las formas farmacéuticas sólidas se caracterizan por tener un alto grado de estabilidad física, química y microbiológica. Así también por ser de fácil administración y dosificación exacta de acuerdo a lo declarado en el empaque.

Tabla N° 4. Ventajas y Desventajas de las formas farmacéuticas sólidas ⁽¹⁵⁾

Ventajas	Desventaja
Mayor estabilidad y fácil administración	Problemas de biodisponibilidad
Dosificaciones exactas, fáciles y adecuadas	Resistencia de algunos principios activos a la compresión
Facilidad de identificación	Dificultad de deglución por algunos pacientes
Costo de producción competitivo	Mal sabor y olor desagradable

Las formas farmacéuticas solidas se clasifican de la siguiente manera:

- Polvos farmacéuticos
- Cápsulas
- Grageas
- Supositorios
- Óvulos
- Comprimidos

Como ya se mencionó anteriormente la clasificación de las formas farmacéuticas solidas dentro de las cuales se encuentran las cápsulas, las cuales se conforman de dos piezas dura o suave compuesta de gelatina, siendo de administración oral y dosis unitaria. Pueden contener polvos, gránulos esferas, líquidos o geles. ⁽¹⁵⁾

Existen dos tipos de cápsula las cuales son:

- Gelatina blanda: Su composición contiene gelatina, agua, plastificante y tintura
- Gelatina dura: Su composición contiene gelatina, lubricante (ácido esteárico, estearato de magnesio, polietilenglicoles), desintegrantes (almidón derivados de celulosa, PVP), humectantes (polisorbato, compuestos de amonio cuaternario, polisorbato 80). ⁽¹⁵⁾

Tabla N° 5. Ventajas y Desventajas de la forma farmacéutica de capsulas ⁽¹⁵⁾

Ventajas	Desventaja
Insípidas y permiten enmascarar características organolépticas desagradables del principio activo como sabor amargo y olor.	No pueden fraccionarse, la fabricación de esta es más costosa que las tabletas
La composición dentro de la formulación es sencilla requieren pocos excipientes	Requieren condiciones especiales de conservación en cuanto a humedad y temperatura

Tabla N° 5. (Continuación)

Protegen al fármaco de agentes externos como polvo, aire, luz humedad.	No se pueden fabricar formulaciones que sean incompatibles con la cubierta como higroscópica y eutéctica, salvo que sea necesario su uso.
Permiten administrar una sola forma farmacéutica con uno o más fármacos en la dosis exacta	Limitaciones en el uso y su administración no indicados en niños y ancianos.
Facilita al paciente la identificación mediante el color que estas poseen	Difícil de dosificar ya que dependerá de la preparación en la formulación.

Las cápsulas de gelatina dura están constituidas por dos partes cilíndricas llamadas cuerpo o caja la más larga en la cual se deposita en fármaco y la más pequeña se llama tapa la cual actúa como cierre de la cápsula, se utilizan diversidad de tamaños de cápsulas numerados desde 000 (de mayor capacidad) hasta el 4 (el de menor capacidad). ⁽¹⁵⁾

Las cápsulas deben tener la capacidad de desintegrarse y disolverse en el tracto gastrointestinal ejerciendo así una acción a nivel local o sistémico.

Escala numérica del 000 al 4	
Tamaño	Volumen (ml) Masa (mg)
000	0,95 570 a 1140
0	0,60 400 a 816
1	0,50 300 a 600
2	0,37 222 a 444
3	0,30 180 a 360
4	0,21 126 a 252

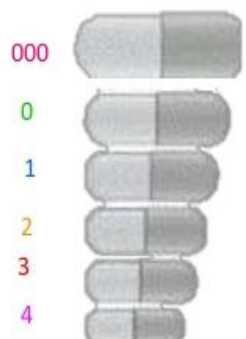

Figura N° 4. Tamaños y volúmenes de cápsulas ⁽¹⁵⁾

Tabla N° 6. Listado de controles realizados en producto terminado ⁽¹⁵⁾

Organolépticos	Geométricos	Físicos	Posológicos	Químico
Color	Largo o Diámetro	Dureza	Peso medio	Identificación
Olor	Ancho	Friabilidad	Contenido uniforme	Valoración
Sabor	Espesor		Desintegración	
Aspecto			Disolución	

3.5 Estándares de referencia USP

Son muestras físicas altamente caracterizadas que son usadas en análisis para ayudar a garantizar la identidad, potencia, la calidad y pureza de medicamentos. Existen diferentes tipos de estándares, entre los cuales están los Estándares de Referencia de Impurezas y Estándares de Referencia para los artículos oficiales en USP o NF que son de importancia para este trabajo de investigación. ⁽⁴⁾⁽¹⁸⁾

Estándares de Referencia de Impurezas: pueden presentarse como materiales purificados de un solo componente o como mezclas de más de una impureza. Dentro de estos pueden incluir los siguientes: ⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾

- Impurezas Orgánicas que pueden surgir durante los procesos de fabricación o durante la vida útil de un artículo y pueden incluir materiales iniciales, productos intermedios, subproductos, reactivos, catalizadores y/o productos de degradación.
- Impurezas inorgánicas normalmente resultan de un procesos de síntesis y pueden incluir reactivos, catalizadores, metales pesados o sales inorgánicas.
- Disolventes residuales pueden ser líquidos orgánicos o inorgánicos que se usan para preparar soluciones o suspensiones durante la síntesis de un artículo.

En ediciones anteriores de la farmacopea, las impurezas se designaban por sus nombres químicos. Por lo tanto, para facilitar la búsqueda y el orden en el índice, los nombres químicos de las impurezas se han reemplazado por la denominación "ER Compuestos Relacionado Y de X" donde X es el nombre del artículo oficial e Y es una letra secuencial del alfabeto. ⁽⁴⁾

Estándares de Referencia para los artículos oficiales en USP o NF: se ofrecen como materiales puros o como mezclas de sustancias químicas que constituyen un reflejo de los fármacos o excipientes correspondientes. Este tipo de estándar es usado para la valoración y/o las pruebas de identificación en un determinado producto. ⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾

3.5.1 Uso y almacenamiento de los estándares

Para cumplir con el propósito por el cual fueron creados los estándares, estos deben de almacenarse, manipularse y utilizarse de forma correcta. Al momento de usar un estándar, se debe de asegurar que sea un "lote vigente" o un "lote previo" que se encuentre dentro de la fecha válida de su uso. Los Estándares de Referencia de USP no están previstos para ser usados como fármacos, suplementos dietéticos o dispositivos médicos.

Las indicaciones de almacenamiento y uso se encuentran en la etiqueta de cada Estándar de Referencia. Estas indicaciones son específicas para cada lote y prevalecerán sobre cualquier otra indicación en los estándares de documentación correspondientes. La etiqueta incluye advertencias de seguridad, información exigida para las sustancias controladas y valores de cálculo para estándares con aplicaciones cuantitativas.

Se debe de asegurar de que los Estándares de Referencia de USP se guarden en sus envases cerrados con tapón originales, lejos del calor y de la humedad, y protegidos contra la luz. Es importante seguir todas las instrucciones especiales incluidas en la etiqueta. También se debe de asegurar de que las sustancias del Estándar de Referencia sean pesadas con exactitud, tomando en cuenta los errores relativamente importantes que pueden asociarse con el peso de masas pequeñas, cuando se dan instrucciones para que una solución o preparación estándar sean preparadas para una determinación cuantitativa.

(18)(19)

3.6 Método Analítico

Un método analítico es la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico (analito) de una muestra. ⁽¹¹⁾

Los métodos analíticos se clasifican en:

1. Función de su estado regulatorio.
 - a. Métodos farmacopéicos: son aquellos que aparecen en cualquier farmacopea.
 - b. Métodos no farmacopéicos: son aquellos que no están establecidos en una farmacopea.
2. Función de su aplicación:
 - a. Métodos para productos a granel
 - b. Métodos para productos terminado
 - c. Métodos para materia prima
 - d. Métodos indicadores de estabilidad
3. Función de la naturaleza de la respuesta analítica:
 - a. Métodos físico-químicos. Cuando la respuesta es de carácter físico o químico.

- b. Métodos biológicos. Cuando la respuesta es de carácter biológico.
4. Función de su propósito analítico:
 - a. Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia)
 - b. Métodos para establecer la presencia del analito a un límite
 - c. Métodos para identificar el analito.
 5. Función de la naturaleza del sistema de medición:
 - a. Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica permite medir una señal de ruido (cromatografía líquido, gases, espectrofotómetro.)
 - b. Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido.

3.7 Validación y Verificación

Validación y Verificación de un método analítico son dos procesos que se utilizan para evaluar las características de desempeño de un método analítico específico. Sin embargo, existe una diferencia entre una validación y una verificación de un método analítico. ⁽⁵⁾

La validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. En cambio, una verificación consiste en la evaluación de las características de desempeño analíticas seleccionadas de una validación. Según el apartado <1226> de la USP 38 "Verificación de Procedimientos Farmacopéicos", los métodos de análisis oficiales no requieren validarse, sin embargo se deben verificar de forma documentada que el método funciona correctamente en el laboratorio bajo las condiciones de uso reales. Una verificación se requiere antes de implementar un procedimiento oficial en un laboratorio. ⁽⁵⁾

El objetivo de una verificación es para determinar si un procedimiento genera datos relevantes, adecuados y confiables para puede ser utilizado condiciones bajo condiciones de uso reales en un Laboratorio Farmacéutico.

El objetivo de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que es apropiado para el uso previsto. En el apartado <1225> de la USP 38 Validación de Procedimientos Farmacopéicos establece que una validación se requiere cuando: a) el procedimiento analítico se emplea para el análisis de un artículo no oficial y b) un artículo oficial es analizado utilizando un procedimiento diferente al establecido por la farmacopea.

Tabla N° 7. Datos requeridos para la Validación. ⁽⁵⁾

Parámetro de Desempeño analítico	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Prueba limite cuantitativa	Prueba limite cualitativa		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad/Selectividad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de Detección	No	No	Si	*	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Intervalo	Si	Si	*	*	No

* Pueden requerirse, dependiendo de la naturaleza de la prueba específica.

3.7.1 Proceso de Verificación

El proceso de verificación de procedimientos de prueba farmacopéicos es la evaluación que sirve para determinar si el procedimiento puede ser utilizado para su propósito previsto, en las condiciones de uso reales para un fármaco específico y/o matriz de un producto farmacéutico determinado.

Los analistas deben contar con la experiencia, conocimientos y capacitación adecuada para entender y estar en condiciones de llevar a cabo los procedimientos farmacopéicos tal y como han sido escritos. Se debe realizar la verificación de manera que los resultados proporcionen suficiente confianza de que el procedimiento farmacopéico será llevado a cabo con la aptitud requerida.

(5)

3.7.2 Requisitos para una verificación ⁽⁵⁾

Para verificar la aptitud de un procedimiento analítico en las condiciones reales de uso no se requiere la revalidación completa del método farmacopéico, sin embargo, para el proceso de verificación se pueden usar algunas de las características de desempeño analítico que se emplean para una validación. Se deben evaluar las características que se consideran adecuadas para la verificación del procedimiento específico. El grado y el tiempo que se emplee para llevar a cabo el proceso de verificación depende de:

1. Nivel de formación y experiencia del analista.
2. Del tipo de procedimiento y los equipos o instrumentos asociados.
3. Pasos en específicos del procedimiento.
4. Tipo del producto farmacéutico en análisis.

La verificación debe evaluar si el procedimiento farmacopéico es apto para el fármaco o matriz del producto farmacéutico. También debe evaluar diversos elementos como el efecto de la matriz sobre la recuperación de impurezas y fármacos, la aptitud de las columnas y condiciones cromatografías, la adecuada respuesta de la señal del detector, entre otros. Por ejemplo, la evaluación de especificidad es un parámetro clave en la verificación de que un procedimiento farmacopéico es apto para ser usado en la valoración de fármacos y productos farmacéuticos. También la evaluación del límite de detección o cuantificación y

precisión de procedimiento para impurezas pueden ser muy útiles para demostrar la aptitud del procedimiento farmacopéico en las condiciones de uso reales.

Tabla N° 8. Parámetros de Desempeño que se evalúan en una Verificación.

Parámetro de Desempeño analítico	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Prueba limite cuantitativa	Prueba limite cualitativa		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad/Selectividad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de Detección	No	No	Si	*	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	*	No

En la verificación de un método se evalúan algunos parámetros de una validación ya que el método a evaluar es farmacopéico y no se requiere repetir todo el proceso de validación, sino solo demostrar que es adecuado para su uso previsto. Una verificación no es una validación completa.

3.7.3 Los parámetros de desempeño analítico que se consideran en una validación son. ⁽⁵⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾

3.7.3.1 Precisión del sistema

Este parámetro se determina preparando por sextuplicado soluciones a la concentración del analito que represente la concentración de la solución de referencia utilizada. Posteriormente, se calcula el coeficiente de variación de las seis inyecciones, y éste no debe de ser mayor de 2.0% para sistemas cromatográfico. ⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾

3.7.3.2 Adecuabilidad del sistema

Es la verificación de que el sistema opera con base a criterios que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico. ⁽⁹⁾

La adecuabilidad del sistema se determina inyectando por quintuplicado la solución de adecuabilidad. El Coeficiente de variación debe de ser menos o igual a 2.0%. ($CV \leq 2.0\%$). ⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾

3.7.3.3 Exactitud

Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante el método analítico y el valor verdadero. La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación o recobro de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza. ⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾

Especificación: el Intervalo de Confianza IC (μ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del porcentaje de recobro incluya en el intervalo de 98%-102%. El coeficiente de variación $CV \leq 2.0\%$. ⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾

Media aritmética

n= número de mediciones

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

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Dónde:

X_i = valor individual

\bar{X} = promedio

n = número de mediciones

Coeficiente de variación

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

Dónde:

S = varianza

\bar{Y} = promedio de los datos

Intervalo de confianza

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

Dónde:

\bar{Y} = promedio

S = desviación estándar

n = número de mediciones

t = valor de la tabla t-student

3.7.3.4 Precisión del método

Es la cercanía o grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el método repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un procedimiento analítico se expresa como la desviación estándar (S), varianza (S^2) o Coeficiente de Variación (CV), desviación estándar relativa (RSD) de una serie de mediciones. También se relaciona 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. ⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾

Existen tres niveles de la precisión:

1. Repetibilidad: se refiere a la utilización del procedimiento analítico en un laboratorio durante un periodo corto por el mismo analista con el mismo equipo. Es la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método.
2. Precisión intermedia: expresa la variación dentro de un laboratorio, empleando diferente día, analista y equipo.
3. Reproducibilidad: se refiere a la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

Especificación: el coeficiente de variación debe de ser $CV \leq 2\%$ para métodos Cromatográfico. ⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾

Media aritmética

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

Desviación estándar

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

Coeficiente de variación

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

3.7.3.5 Linealidad del sistema

La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado. También se refiere a la relación entre la concentración y la medida de valoración.

El intervalo de es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior en la cual se puede determinar el analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad del método. ⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾

Especificación: b_1 , b_0 y $r^2 \geq 0.98$, el intervalo no incluye el cero. ⁽¹¹⁾

Pendiente

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

Ordenada al origen

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

Dónde:

b_1 = pendiente

n = número de mediciones

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

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

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

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

Dónde:

b_1 = pendiente

b_0 = ordenada al origen

S_{b1} = desviación de la pendiente

$S_{y/x}$ = desviación de y sobre x

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

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

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b0}$$

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

Coeficiente de variación de regresión

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

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

3.7.3.6 Especificidad o Selectividad

Es la capacidad de evaluar de manera inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz como lo son los excipientes y vehículo de un producto farmacéutico.

La demostración de la especificidad requiere de evidencia de que el método no resulta afectado por la presencia de impurezas o excipientes. ⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾

Especificación: la respuesta del método únicamente debe ser debida al analito. No debe haber interferencia significativa de los excipientes. ⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾⁽¹⁴⁾

3.7.3.7 Límite de Detección

Es una característica de las pruebas de límite. Es la cantidad mínima de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, en las condiciones experimentales indicadas. Las pruebas de límite comprueban que la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un nivel determinado. El límite de detección se expresa habitualmente como concentración de analito en la muestra.

Para procedimientos instrumentales y procedimientos no instrumentales, el límite de detección, se determina mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito, estableciendo el nivel mínimo del analito que puede detectarse confiablemente. ⁽⁵⁾⁽¹¹⁾⁽²⁰⁾

Este parámetro consiste en comparar las señales medidas a partir de las muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con las muestras blancas. Las relaciones señal-ruido habitualmente aceptables son de 2:1 o 3:1

3.7.3.8 Límite de Cuantificación

Es la concentración mínima del analito en una muestra, que debe de ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo condiciones de operación establecidas. Es una característica de las valoraciones cuantitativas de compuestos que se encuentran en baja concentración en la matriz de una muestra, tales como: impurezas en fármacos a granel y productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. ⁽⁵⁾⁽¹¹⁾

Para procedimientos instrumentales y procedimientos no instrumentales, el límite de detección, se determina mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito, estableciendo el nivel mínimo del analito que puede detectarse con exactitud y precisión aceptables. ⁽⁵⁾

Este parámetro consiste en comparar las señales medidas a partir de las muestras con bajas concentraciones conocidas de analito con las muestras blancos. Las relaciones señal-ruido habitualmente aceptable es de 10:1. ⁽⁵⁾⁽²⁰⁾

3.7.3.9 Robustez

Es la capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método. También, investiga las influencias de pequeños cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método, localizando los factores que originan fluctuaciones menores y los que necesitan una mayor atención. ⁽⁵⁾⁽¹¹⁾

Especificación: $|d_i| \leq 2 \%$

Media aritmética de la condición de operación

$$y_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

Media aritmética de análisis de cada condición de operación diferente a la condición normal.

$$y_1 = \frac{\sum y_1}{n_1}$$

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

$$d_i = |y_1 - y_0|$$

Dónde:

Y_1 = media de la condición normal

Y_0 = media de la condición evaluada

3.8 Clasificación de los métodos analíticos

Existen cuatro categorías de las pruebas analíticas USP, para las cuales se exigen datos de validación (Ver tabla N°7). ⁽⁵⁾⁽¹¹⁾

Categoría I – procedimientos analíticos para la cuantificación de los componentes principales de fármacos a granel o ingredientes activos (incluyendo conservantes) en productos farmacéuticos terminados. Su objetivo es medir el analito presente en una muestra dada. Se enfoca en la determinación de los componentes principales de un medicamento.

Categoría II – procedimientos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos procedimientos incluyen análisis cuantitativos y pruebas de límite que están orientados a reflejar con exactitud las características de pureza en la muestra.

Categoría III – procedimientos analíticos para la determinación de las características de desempeño por ejemplo, Disolución.

Categoría IV – pruebas de identificación. Su objetivo es asegurar la identidad de un analito en una muestra. Se obtienen por comparación de una propiedad de la muestra respecto a un estándar de referencia.

3.9 Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)

Es una técnica muy conocida por basarse en la cuantificación, identificación y separación de los componentes de una mezcla mediante una fase móvil líquida y una fase estacionaria sólida. ⁽¹⁾

La separación por cromatografía es el resultado de las interacciones específicas entre las moléculas de la muestra en ambas fases, a diferencia de otras técnicas de separación, la cromatografía HPLC no está limitada por la volatilidad o estabilidad térmica de la muestra, por lo cual es capaz de separar macromoléculas y especies iónicas, productos naturales lábiles, materiales poliméricos. Así también puede ser usado para fines médicos, por ejemplo, para la detección de vitamina en sangre, drogas en orina, entre otros. ⁽¹⁾

La cromatografía HPLC se distingue de la tradicional debido a que las presiones con las que se trabajan son mayores ya que la tradicional se basa en la fuerza de la gravedad para poder pasar la fase móvil a través de la columna,

en cambio HPLC se basa en bombas para pasar un líquido a alta presión y una mezcla de muestra a través de una columna rellena con un sorbente dando así lugar a la separación de los componentes de la muestra. Los componentes de la muestra se separan unos de otros dependiendo el grado de interacción que exista con las partículas del sorbente que comúnmente suele ser sílice. El líquido a presión es típicamente una mezcla de disolventes los más comunes a utilizar son agua, metanol y acetonitrilo.

La instrumentación del equipo HPLC se compone de la siguiente manera: ⁽¹⁾

Reservorio: son aquellos recipientes los cuales contienen la fase móvil, son inertes y comúnmente suelen ser de vidrio y de tubos de teflón para poder eliminar todo tipo de gases disueltos o partículas que pudiera tener la fase móvil. Contienen filtros de metal poroso para la retención de partículas de un tamaño mayor a 10 μm .

Previo al bombeo del disolvente se realiza un tratamiento de desgasificación o ultrasonificación o burbujeo con gas inerte de la fase móvil.

Características de los disolventes usados en fase móvil son:

1. Disolvente de alta pureza, grado HPLC
2. Capaz de disolver el analito
3. Debe tener una baja viscosidad
4. No debe reaccionar con la columna

Bomba: es la que se encarga de impulsar a la fase móvil dentro del sistema de elución en sistema HPLC, dentro de estas pueden ocurrir dos tipos de elución las cuales son:

- Elución Socrática: es aquella separación que se lleva a cabo mediante un solvente de composición constante.

- Elución por gradiente: es aquella en la cual se utilizan dos o tres solventes de distinta polaridad en la cual su composición varía de forma continua o mediante etapas escalonadas.

El sistema de bombeo es de vital importancia pues se encarga de conseguir y regular la presión así también la velocidad de flujo de la fase móvil. Un sistema de bombeo debe cumplir con las siguientes características:

1. Estar construido con materiales químicamente inertes frente a la fase móvil
2. Ser capaz de trabajar a presiones elevadas
3. Proporcionar un flujo libre de pulsaciones
4. Suministrar flujos adecuados para la separación en un rango de 0.1 – 10 ml/min.

Inyector: es aquella parte que permite introducir la muestra al sistema, estas válvulas dosificadoras permiten la aplicación de la muestra en volúmenes desde 5 a 500 μL .

Un inyector ideal debe tener las siguientes características:

1. Introducir la muestra en la columna con una banda lo más estrecha posible
2. Ser de fácil manejo
3. Dar resultados reproducibles
4. Ser capaz de trabajar en diferentes rangos de presión

Existen dos tipos de válvulas:

1. Inyectores de jeringa: la introducción de la muestra se realiza mediante una jeringa en la cual la aguja es la que entra en el sistema cromatográfico, la ventaja radica en la factibilidad de construcción por el contrario sus desventajas dificultad de manejo y precisión de trabajo baja.
2. Inyectores de válvula: esta consiste en una válvula de seis aproximadamente las cuales están conectadas por medio de una espira. La

introducción de la muestra se lleva a cabo de la siguiente manera: se carga la muestra mediante al espira con ayuda de una jeringa dando así un giro la válvula lo cual ayuda a que el diluyente pase hacia la columna.

Columna: Conocido principalmente como sistema de análisis. La columna es parte fundamental de un cromatógrafo de líquidos ya que en ella se realiza el proceso de separación, así también es la que contiene la fase estacionaria. Por lo tanto, al momento de analizar se debe tener una correcta elección de la columna de lo contrario no se obtendrán resultados favorables.⁽¹⁾

Las columnas con más influencia en análisis son las de relleno las cuales son de tubo de acero que dentro de este contienen un relleno, columnas de pequeño diámetro. Actualmente en las columnas de sílice se encuentra fundida la fase estacionaria la cual se encuentra ligada químicamente en las paredes del tubo de la columna. ⁽¹⁾

Las columnas analíticas en su mayoría son de la siguiente manera:

1. Material acero inoxidable
2. De 10 a 30cm de longitud
3. De 4 a 10mm de diámetro interno
4. De 1 a 10 μm tamaño de partícula

Así también existen las precolumnas las cuales deben contener la misma fase estacionaria que el empaque de la columna su función principal es impedir la entrada de toda partícula contaminante prolongando así la vida media de la columna, colocándose así en la dirección del flujo en la columna.

Detector: traductor el cual su función principal es registrar el paso de componentes de una muestra por orden de elución siendo así la detección continua.

Las características principales de un detector son las siguientes:

1. Sensibilidad adecuada
2. Buena estabilidad y reproducibilidad
3. Respuesta lineal extendida varias órdenes de magnitud
4. Tiempo de respuesta corto
5. Manejo sencillo
6. Respuesta selectiva a algunos analitos

3.10 Protocolo de Validación o Verificación

Un protocolo de validación o verificación es un documento que describe pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente. ⁽¹¹⁾

Un protocolo debe de contener al menos las partes siguientes: ⁽²⁰⁾

- a) Objetivo- se coloca la finalidad de la validación/verificación del método y propuestas de fechas de inicio y final.
- b) Alcance
- c) Responsables- analistas involucrados
- d) Parámetros a estudiar- se coloca los parámetros de desempeño a estudiar los cuales se seleccionan en función de las características de la muestra, tipo de método analítico y rango de concentración del Analito.
- e) Muestras- se define el tipo de muestra, identificación, preservación (si aplica), tratamiento previo, almacenamiento previo al análisis (si aplica), disposición final.
- f) Equipos involucrados- serán identificados los equipos implicados en el proceso de validación/verificación (pHmetros, balanzas, cromatógrafos, etc),

y documentar que están convenientemente calificados y calibrados, referenciando estos datos en el informe de validación/verificación.

g) Descripción del método analítico- deberá describirse el método tal cual será puesto en el uso rutinario, detallando todos los elementos y haciendo énfasis en puntos críticos de la metodología, condiciones instrumentales y número de repeticiones, verificación de idoneidad de las condiciones operatorias definidas, fórmulas para el cálculo de resultados y su tratamiento estadístico si es necesario, bibliografía y referencias.

- Reactivos
- Estándares
- Materiales
- Instrumentación
- Condiciones ambientales
- Medidas de seguridad para el uso de reactivos
- Preparación de reactivos
- Preparación de estándares
- Preparación de la muestra
- Procedimiento
- Cálculos

h) Procedimiento para la determinación de los parámetros a evaluar- se realizará una tabla que permita visualizar los parámetros de desempeño, como se hará la determinación de cada parámetro de desempeño y que se reportara para la evaluación final.

i) Bibliografía

j) Anexos

CAPÍTULO IV
4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio:

Prospectivo: Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden servir de referencia para futuras investigaciones y análisis posteriores que se realicen en el Laboratorio Farmacéutico Nacional.

Bibliográfico: Se realizó teniendo como base la información recopilada de normativas, libros oficiales e inclusive referencia bibliográfica de investigaciones anteriores para que a su vez pueda aplicarse a futuros análisis.

Experimental: La verificación del método farmacopéico para la determinación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula se llevó a cabo en un Laboratorio Farmacéutico Nacional de El Salvador.

4.2 Investigación bibliográfica:

Durante la investigación se realizó una búsqueda de información en libros y trabajos de investigaciones previas relacionadas con validación y verificación de métodos analíticos para la Gabapentina y Compuestos Relacionados. La búsqueda se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Central de la Universidad de El Salvador.
- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Universidad Salvadoreña Alberto Masferer.
- Internet.

4.3 Investigación de campo

Universo: Todas las cápsulas de Gabapentina de 300 mg fabricadas en el país.

Muestra: 40 cápsulas de Gabapentina de 300 mg de cada lote (de 3 lotes diferentes) fabricados en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.

Tipo de muestreo: Puntual y dirigido debido a que fueron seleccionadas las unidades según el criterio de los investigadores, por ejemplo, que las 40 cápsulas de Gabapentina seleccionadas fueran del mismo lote, fabricadas en el Laboratorio Nacional Farmacéutico y almacenadas bajo óptimas condiciones, siendo estas unidades representativas.

4.4 Parte Experimental

- Se realizó previamente la prueba de ensayo ó contenido químico, de Gabapentina cápsula usando el contenido neto de 20 cápsulas, la cual consistió en determinar la cantidad promedio del activo de Gabapentina que contenían las cápsulas de los 3 lotes que rotulaban 300 mg de Gabapentina.
- Como segundo paso, se elaboró un protocolo de verificación el cual contiene los parámetros de desempeño a evaluar, reactivos, cristalería, procedimientos y equipos a utilizar para la verificación del método (ver Anexo N° 4).
- Se evaluaron los parámetros de desempeño de exactitud, precisión del método, precisión intermedia, especificidad y límite de cuantificación para la cuantificación del Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina cápsula y se utilizaron los resultados obtenidos en la prueba de ensayo para la

determinación del porcentaje del compuesto relacionado “A” de Gabapentina presente en las cápsulas de Gabapentina.

- Posteriormente, los resultados obtenidos en cada parámetro evaluado se compararon con los criterios de aceptación establecidos por la Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA) y así se determinó si el método es el indicado y confiable. Además, se indica si las cápsulas de Gabapentina cumplen con el criterio de aceptación para el Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina según la USP 38.
- Finalmente, se elaboró un Informe de Verificación para la determinación del compuesto relacionado “A” de Gabapentina que contiene evidencia documentada y los resultados obtenidos que demostraron que el proceso de verificación cumple con los criterios de aceptación establecidos por la Organización Salvadoreña de Acreditación (OSA) y que el método es válido para ser usado en futuros análisis (ver Anexo N° 7).

4.4.1 Método de análisis

La prueba de ensayo (contenido químico) de la Gabapentina cápsula, consistió en determinar la cantidad promedio del principio activo (Gabapentina) que contenían las cápsulas que rotulaban 300 mg de Gabapentina. Para ello, se utilizó el contenido neto de 20 cápsulas por cada lote. Se empleó el método ya verificado para la valoración del activo de Gabapentina.

Posteriormente, el resultado obtenido en la prueba de ensayo fue necesario para realizar el cálculo del porcentaje de Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina presente en la cantidad promedio de Gabapentina por cápsula determinada en la prueba de ensayo.

Monografía de Gabapentina, Cápsulas según Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38). Versión en español (ver Anexo N° 1)

A continuación se presentan las partes de las pruebas de interés que se encuentran en la monografía empleadas en la investigación.

DEFINICIÓN ⁽⁵⁾

Las cápsulas de Gabapentina contienen no menos de 90.0% y no más de 110.0% de la cantidad declarada de Gabapentina (C₉H₁₇NO₂).

VALORACIÓN

Procedimiento

Diluyente: 1.2 g/L de fosfato monobásico de potasio en agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6.9.

Fase Móvil: disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con Hidróxido de potasio 5N a un pH de 6.9. Agregar 60 mL de Acetonitrilo y mezclar.

Solución estándar: 4.0 mg/mL de ER Gabapentina USP en diluyente.

Solución muestra: se prepararon 3 soluciones muestras por lote con una concentración final de 4.0 mg/mL de Gabapentina, a partir del contenido de no menos de 20 cápsulas, equivalente a 100 mg de Gabapentina, en diluyente. Someter a ultrasonido durante 60 segundos si fuese necesario.

Sistema Cromatográfico:

Modo: HPLC

Detector:	UV 210 nm
Columna:	4.6mm x 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo:	1.2 mL/ min
Volumen de inyección:	50 µL
Factor de asimetría:	no más de 2.0
Desviación estándar relativa:	no más de 2.0 %

Muestras: dos soluciones estándar de Gabapentina y tres soluciones muestra de cápsula de Gabapentina. Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de Gabapentina en la porción de cápsula tomada:

$$\text{Resultado} = (r_u/r_s) \times (C_s/C_u) \times 100$$

En donde:

r_u = respuesta del pico de la solución muestra

r_s = respuesta del pico de la solución estándar

C_s = concentración de ER Gabapentina USP en la solución estándar (mg/mL)

C_u = concentración nominal de Gabapentina en la solución muestra (mg/mL)

Criterios de aceptación: 90.0%- 110.0%

IMPUREZAS

Impurezas Orgánicas

Diluyente: preparar según lo indica en la valoración

Solución A: disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con Hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6.9. Agregar 60 mL de Acetonitrilo y mezclar.

Solución B: disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 700 mL de agua. Ajustar con Hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6.9. Agregar 300 mL de Acetonitrilo y mezclar.

Fase Móvil: ver Tabla N° 9

Tabla N° 9. Fase móvil en gradiente para el análisis del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina.

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0.0	100	0
4.0	100	0
45.0	0	100
45.1	100	0
50.0	100	0

Solución estándar: 0.04 mg/mL de ER Gabapentina USP y de ER Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina USP en diluyente.

Solución muestra: nominalmente 20 mg/mL de Gabapentina, a partir del contenido de no menos de 20 cápsulas, equivalente a 500 mg de Gabapentina, en diluyente. Si fuera necesario, someter a ultrasonido durante aproximadamente 30 segundos.

Sistema Cromatográfico:

Modo: HPLC
Detector: UV 210 nm
Columna: 4.6mm x 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1.5 mL/ min
Volumen de inyección: 50 µL

Aptitud del sistema

Muestra: solución estándar

Requisitos de aptitud

Factor de asimetría: no más del 2.0 para el pico de Gabapentina.

Desviación estándar relativa: no más de 5.0% para Gabapentina y compuesto relacionado A de Gabapentina.

Análisis:

Muestras: soluciones estándar y soluciones muestra. Calcular el porcentaje de compuesto relacionado "A" de Gabapentina en la porción de cápsulas tomada:

$$\text{Resultado} = (r_u/r_s) \times (C_s/C_u) \times 100$$

En donde:

r_u = respuesta del pico de compuesto relacionado "A" de Gabapentina de la Solución muestra.

r_s = respuesta del pico de compuesto relacionado "A" de Gabapentina de la Solución estándar.

C_s = concentración de ER Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina USP en la solución estándar (mg/mL).

C_u = concentración nominal de Gabapentina en la solución muestra (mg/mL)

Criterios de aceptación:

Compuesto relacionado "A" de Gabapentina: No más de 0.4%

Cualquier Impureza individual no especificada: No más del 0.1%

Impurezas totales: No más del 1%.

Requisitos Adicionales

Envasado y Almacenamiento: conservar en envase bien cerrados. Almacenar a temperatura ambiente controlado.

Cristalería, materiales, equipos y reactivos utilizados para la prueba de ensayo de Gabapentina cápsula.

Cristalería:

- Balones volumétricos de 25.0 mL
- Balones volumétricos de 10.0 mL

- Beakers de 1000 mL
- Beakers de 250 mL
- Kit de filtración al vacío
- Probeta de 1000 mL

Materiales:

- Viales de 1.5 mL
- Columna 4.6 mm x 25 cm; relleno L7 de 5 μ m

Reactivos:

- Acetonitrilo grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Fosfato monobásico de potasio grado ACS (KH_2PO_4)
- Hidróxido de potasio grado ACS (KOH)
- Solución amortiguadora de fosfato de potasio pH 6.9 (KH_2PO_4)
- Solución de Hidróxido de potasio 5N (KOH 5N)

Equipos:

- Balanza analítica
- Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)
- pHmetro

Marcha analítica para la prueba de ensayo de Gabapentina cápsula. ⁽⁵⁾**Preparación de diluyente y solución reactivo de KOH 5N (ver Anexo N°3)**

Diluyente: solución amortiguadora de fosfato monobásico de potasio, ajustado a pH de 6.9 con KOH 5N.

Se prepararon dos soluciones estándar de Gabapentina con una concentración final de 4.0 mg/mL de la siguiente manera:

1. Se pesaron 40.0 mg de estándar de Gabapentina con pureza del 100% y se colocaron en un balón volumétrico de 10.0 mL.
2. Se agregó 5 mL de diluyente y se ultrasonificó por 5 minutos.
3. Luego, se aforo con el mismo diluyente y se homogenizó.

Se prepararon tres soluciones muestra con una concentración final de 4.0 mg/mL de la siguiente manera:

1. Partiendo del contenido neto promedio de 20 cápsulas, se pesó el equivalente a 100 mg de Gabapentina y se colocó en un balón volumétrico de 25.0 mL.
2. Se agregó 15.0 mL de diluyente y ultrasonificó por 15 minutos.
3. Se llevó a volumen con el mismo diluyente y se homogenizó.

NOTA: Para cálculos de concentración de muestra (ver Anexo N° 6).

Cristalería, materiales, equipos y reactivos que se utilizaron para la verificación del método analítico para la determinación del Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina cápsula.

Cristalería:

- Balones volumétricos de 100.0 mL
- Balones volumétricos de 25.0 mL
- Balones volumétricos de 20.0 mL
- Balones volumétricos de 10.0 mL
- Beaker de 1000 mL
- Beaker de 250 mL
- Beaker de 100 mL

- Kit de filtración al vacío
- Pipeta volumétrica de 4.0 mL
- Pipeta volumétrica de 2.0 mL
- Pipeta volumétrica de 1.0 mL
- Pipeta de Mohr de 10 mL
- Probeta de 1000 mL
- Probeta de 100 mL

Materiales:

- Columna 4.6 mm x 25 cm; relleno L7 de 5 μ m
- Viales de 1.5 mL

Reactivos:

- Acetonitrilo grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Fosfato monobásico de potasio grado ACS (KH_2PO_4)
- Hidróxido de potasio grado ACS (KOH)
- Solución amortiguadora de fosfato de potasio pH 6.9 (KH_2PO_4)
- Solución de Hidróxido de potasio 5N (KOH 5N)

Equipos:

- Balanza analítica
- Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)
- pHmetro

4.5 Parámetros de desempeño evaluados para la verificación del método farmacopéico de determinación del Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina cápsula.

En la verificación del método para determinar el compuesto relacionado “A” de Gabapentina cápsula no se evaluaron todos los parámetros que se requieren en una validación debido a que el método que se empleó es farmacopéico, y por lo tanto ya está validado. Los parámetros evaluados son aquellos que menciona el apartado <1226> “Verificación de métodos farmacopéicos”.

4.5.1 Exactitud

Es la proximidad entre los resultados obtenidos por el método empleado y el valor real. Representa el grado en que el método analítico se ajusta al valor verdadero para todo propósito práctico. ⁽¹⁾⁽²⁾

La exactitud o recobro se realizó preparando muestras de placebos a los cuales se le añadieron pequeñas cantidades de estándar de Gabapentina y estándar de compuesto relacionado “A” de Gabapentina, ambos a una pureza del 100% a niveles de 80%, 100% y 120% que se evaluarían. Posteriormente se aplicó el método analítico para el recobro del compuesto relacionado “A” de Gabapentina. Se calculó la exactitud como el porcentaje de Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina recuperado. Los mg del compuesto relacionado “A” de Gabapentina obtenidos se compararon con la cantidad añadida de éste añadida al placebo.

Procedimiento:

1. Se prepararon 3 soluciones estándar de Gabapentina y estándar del Compuesto Relacionado "A" al 100% de concentración de 0.04 mg/ mL.
2. Se prepararon por triplicado las siguientes soluciones muestra, donde se tomaron en cuenta la concentración en el producto terminado de Gabapentina cápsula.

Placebo + materia prima de Gabapentina al 80% + materia prima de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina (CRA) al 80%

(placebo + 400 mg de materia prima de Gabapentina + 0.32 mg de materia prima de CRA)

Placebo + materia prima de Gabapentina al 100% + materia prima de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina (CRA) al 100%

(placebo + 500 mg materia prima de Gabapentina+ 0.40 mg materia prima de CRA)

Placebo + materia prima de Gabapentina al 120% + materia prima de Compuesto Relacionados "A" de Gabapentina (CRA) al 120%

(Placebo + 600 mg materia prima de Gabapentina + 0.48 mg materia prima de CRA).

3. Se realizó la determinación de cada solución, de acuerdo a la siguiente secuencia: estándar 1 de Gabapentina y Compuesto relacionado "A", muestra 1 al 80%, muestra 1 al 100%, muestra 1 al 120% y así subsecuentemente hasta terminar con el triplicado de cada solución. (ver Anexo N° 5)
4. Cálculos: se realizaron los cálculos para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina para cada serie de muestras con referencia a su estándar

respectivo. Se comparó el valor real obtenido con el valor teórico que se esperaba. Se calculó el coeficiente de determinación (r) y coeficiente de variación (CV), utilizando las fórmulas presentadas en el Anexo N° 6. La exactitud se calculó como el porcentaje de recobro de la cantidad conocida del analito agregado a la matriz, en el cual se tomó en cuenta el nivel de porcentaje utilizado.

4.5.2 Precisión del Método

Es el grado de concordancia de los resultados de la prueba, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a múltiples tomas de una muestra homogénea. La precisión de un procedimiento analítico se expresa como la desviación estándar relativa (Coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La determinación de esta prueba se realizó con producto terminado de Gabapentina cápsula.

Procedimiento:

1. A partir de 6 soluciones individuales de cada uno del estándar de Gabapentina y del estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina, se hicieron así también 6 diluciones con una concentración final de 0.04 mg/mL tanto para la solución del estándar de Gabapentina como para la solución del estándar del compuesto relacionado "A" de gabapentina.
2. Se prepararon 6 soluciones muestras como lo indica la monografía del producto.
3. Se realizó una determinación de cada solución alternando estándar y muestra, comenzando con un estándar, hasta terminar la serie.

4. Se calculó la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) empleando las fórmulas presentadas en el Anexo N° 6.

4.5.3 Precisión Intermedia

También conocida como Tolerancia o Fortaleza, expresa la variación de resultados en un laboratorio en: diferentes días, con diferente analista y diferente equipo en el mismo laboratorio.

Procedimiento:

1. Se prepararon 6 soluciones de estándar de Gabapentina y estándar del Compuesto Relacionado "A" al 100% de la concentración teórica (0.04 mg/mL).
2. Se prepararon 6 soluciones muestras como lo indica la monografía de Gabapentina, cápsula con una concentración final de 4.0 mg/mL.
3. Se realizó una determinación de cada solución alternando estándar y muestra, comenzando con un estándar, hasta terminar la serie.
4. Esta prueba se realizó con un segundo analista, utilizando como muestra el mismo lote de producto terminado, en día diferente y usando un equipo diferente.

Nota: Para cálculos, se utilizaron las fórmulas de la precisión del método (ver Anexo N° 6)

4.5.4 Especificidad

Es una medida del grado (o ausencia) de interferencia de sustancias debidas a la matriz o placebo y al solvente con respecto al analito de interés. Puede establecerse mediante la adición del fármaco o producto farmacéutico de una cantidad conocida de impurezas en concentraciones adecuadas.

Procedimiento:

1. Se prepararon 2 soluciones estándar de Gabapentina y estándar del Compuesto Relacionado "A" al 100% de la concentración teórica (0.04 mg/mL).
2. Se prepararon 2 soluciones muestras según lo indica la monografía del producto.
3. Se prepararon dos soluciones de placebo igual que las muestras.
4. Se evaluó con la ayuda de los cromatogramas respectivos si existía interferencia debida al placebo o matriz del producto de Gabapentina cápsula de acuerdo a las condiciones establecidas en el método de análisis.

4.5.5 Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación es una característica de las valoraciones cuantitativas de compuestos que se encuentran en baja concentración en la matriz de una muestra, tales como: impurezas a granel y productos de degradación en productos farmacéuticos terminados.

Es la mínima cantidad de analito en una muestra que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables en las condiciones experimentales indicadas. Este parámetro es para pruebas cuantitativas de bajos niveles de compuestos en matrices de muestras, y es usado para la determinación de impurezas o productos de degradación

Procedimiento:

1. Se prepararon 5 viales de solución blanco (diluyente: solución fosfato de potasio pH 6.9).
2. Para las soluciones muestras se seleccionaron 5 niveles de concentración que estén dentro del intervalo de 0.1%-10%
3. Partiendo de la solución estándar del compuesto relacionado "A" al 100%, se tomaron alícuotas para preparar las soluciones muestras al 0.1%, 2%, 5%, 8% y 10%.
4. Se determinó cada solución empezando con un blanco y luego un muestra en el cual se evaluó el nivel mínimo de analito cuantificado confiablemente.
5. Para el cálculo, se tomó el promedio de la señal- ruido de los blancos y se multiplico por 10. La señal- ruido aceptable es de 10:1 (10 veces el ruido).

Al finalizar la evaluación de cada uno de los parámetros, se elaboró un Informe de verificación del método analítico (ver Anexo N° 7) en el cual se detalla los resultados obtenidos y el dictamen final del método empleado.

CAPÍTULO V
5.0 RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

Previo a la realización del cumplimiento de los objetivos de esta investigación, se realizó el ensayo para el principio activo de Gabapentina a los 3 lotes que se evaluaron para conocer en promedio la cantidad de Gabapentina que contenían las cápsulas que rotulan 300 mg de Gabapentina empleando el método analítico validado para contenido químico. Partiendo del resultado obtenido; se procedió a evaluar los parámetros de desempeño para la verificación del método farmacopéico para la determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Ejemplo de cálculo para la prueba de ensayo del activo de Gabapentina en Gabapentina cápsula de 300 mg.

Factor de respuesta estándar (FRst):

Concentración de solución estándar (Cst) = 4.0 mg/ mL

FRst = Cst / área de estándar

FRst = 4.0 / 72.508 = 0.05516633

Cmx (mg/cáp.)= (área x FDmx x FRst x Peso neto promedio de 20 cáp.)/ peso muestra

Cmx = (70.197 x 25 x 0.05516633 x 0.4064g)/0.1356g

Cmx = 290.15 mg/cáp.

Porcentaje sobre lo rotulado (% S/R) = (Cmx x 100)/ rotula

% S/R = (290.15 mg/cáp.* 100)/300

% S/R = 29015 / 300

% S/R = 96.7 %

5.4 ELABORACIÓN DEL PROTOCOLO DE VERIFICACIÓN

Se elaboró un protocolo para la realización del proceso de verificación del método analítico para la determinación del compuesto relacionado “A” de Gabapentina cápsula, el cual consistía de las siguientes partes:

- a) Objetivo
- b) Alcance
- c) Responsables
- d) Parámetros a estudiar
- e) Equipos involucrados
- f) Descripción del método analítico
- g) Procedimiento para la determinación de los parámetros a evaluar
- h) Bibliografía

El protocolo de verificación es un documento donde se detalla en resumen como se debe realizar la verificación del método analítico para la determinación del compuesto relacionado “A” de Gabapentina. Éste documento forma parte de la evidencia documentada en base al cual se elaboró el informe final.

Código (PGV 1): Protocolo de verificación de Gabapentina edición 1

Revisión 0: por ser un documento de edición 1, no ha tenido revisiones previas o actualizaciones.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



PROTOCOLO DE VERIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA
COMPUESTO RELACIONADO "A" EN CÁPSULAS DE GABAPENTINA 300 mg

RESPONSABLES:

Erika Josette Barrera de Hernández
Katherin Azucena Benitez De La Rosa

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

	PROTOCOLO DE VERIFICACIÓN PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	1 de 11

A. OBJETIVO

Obtener pruebas documentadas que demuestren que el método analítico de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38) para la determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsulas produce resultados confiables y que es adecuado para ser empleado bajo condiciones reales en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.

Así también, que las cápsulas analizar cumplen con la especificación de la USP 38 para el Compuesto Relacionado. El proceso experimental se realizará en el mes de julio del 2016.

B. ALCANCE

Determinación y Cuantificación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsulas de 300 mg por Cromatografía Líquida de Alta presión empleando el método de análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38).

C. RESPONSABLES

Jefe de Laboratorio y Químicos analista

D. PARÁMETROS A ESTUDIAR

Debido a que se trata de la verificación de un método farmacopéico, se evaluarán los siguientes parámetros:

	PROTOCOLO DE VERIFICACIÓN PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	2 de 11

- Precisión del Método- Es la cercanía o grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el método repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea.

- Precisión Intermedia- Se realiza de la misma manera que la precisión del método. A diferencia que lo realiza un segundo analista, en un día diferente y en un equipo diferente dentro del mismo laboratorio.

- Exactitud (Recobro)- Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante el método analítico y el valor verdadero.

- Especificidad- Es la capacidad de evaluar de manera inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz como lo son los excipientes y vehículo de un producto farmacéutico.

- Limite de Cuantificación- Es la concentración mínima del analito en una muestra, que debe de ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo condiciones de operación establecidas.

MUESTRAS

Descripción de muestra: Cápsulas de color rojo #0 con logo en una de sus tapas que rotulan 300 mg de Gabapentina. Se analizaron 3 lotes de cápsulas y cada uno se codificó como Lote 1, Lote 2 y Lote 3.

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	3 de 11

Tratamiento previo: se separan las partes de la cápsula a modo que el contenido dentro de estas salga. El polvo se recopila en un contenedor adecuado. Con un hisopo se limpian las partes de la cápsula para retirar lo que haya quedado pegado en las paredes.

Disposición final: después de haber terminado de evaluar los parámetros de estudio, se descartará la muestra sobrante en el descarte de muestras.

E. EQUIPOS INVOLUCRADOS

Los equipos a utilizar para la verificación del método analítico farmacopéico para la valoración del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina en cápsulas de 300mg son los siguientes:

- pHmetro
- Balanza analítica
- Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño (HPLC) (calibrado y calificado)

F. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

REACTIVOS

- Agua grado HPLC
- Acetonitrilo grado HPLC
- Agua Destilada
- Hidróxido de potasio
- Fosfato monobásico de potasio

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	4 de 11

ESTÁNDARES

- Estándar de Gabapentina USP
- Estándar de Compuesto Relacionado "A" USP

MATERIALES

- Balones volumétrico de 100.0 mL
- Balones volumétricos de 25.0 mL
- Balones volumétricos de 20.0 mL
- Balones volumétricos de 10.0 mL
- Beaker de 1000 mL
- Beaker de 100 mL
- Beaker de 250 mL
- Probeta de 1000 mL
- Pipetas volumétricas de 4.0 mL
- Pipetas volumétricas de 2.0 mL
- Pipetas volumétricas de 1.0 mL
- Pipeta de Mohr de 10 mL
- Kit de filtración
- Viales de 1.5 mL
- Filtro jeringa de poro 0.45 μm
- Columna: C 8 (L7) 5 μm (250 x 4.6)mm

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	5 de 11

EQUIPOS

- pHmetro

marca: Seven Easy pH

modelo: Mettler Toledo

fecha de ultima calibración: 30/05/16 por Analítica Salvadoreña S.A de C.V

- Balanza analítica

Marca: Mettler Toledo

Modelo: AG204-S/FACT

Fecha de última calibración: 22/06/16 por F.A DALTON & Co.

- Balanza analítica

Marca: SARTORIUS

Modelo: Quintix224-1S

Fecha de última calibración: 08/06/16 por RGH

- Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)

Marca: Thermo scientific

Modelo: Dionex Ultimate 3000

Fecha de última calibración: 12/06/16 por InstruQuimica S.A de C.V

- Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)

Marca: Shimadzu

Modelo: LC-2010A-HT

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	6 de 11

Fecha de última calibración: 19/06/16 por CSE

CONDICIONES AMBIENTALES

Todas las pruebas de la verificación se efectuaron en las condiciones controladas de temperatura y humedad relativa del laboratorio.

Temperatura: 18-25°C Humedad Relativa: 30- 65%

MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS



Se consultaron las hojas de seguridad de los reactivos ubicada en el laboratorio.

Se utilizó el siguiente equipo de protección personal (EPP):

- Gabacha con manga larga
- Guantes de látex o nitrilo
- Gafas protectoras de ojos
- Respirador de filtro mecánico: para polvo o neblina
- Respirador de cartucho químico: para vapores orgánicos y gases
- Cámara de extracción de gases

PREPARACIÓN DE REACTIVO


- **Solución Hidróxido de potasio 5 N:** Disolver poco a poco 28.055 g de Hidróxido de potasio en 100 mL de agua destilada.

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	7 de 11

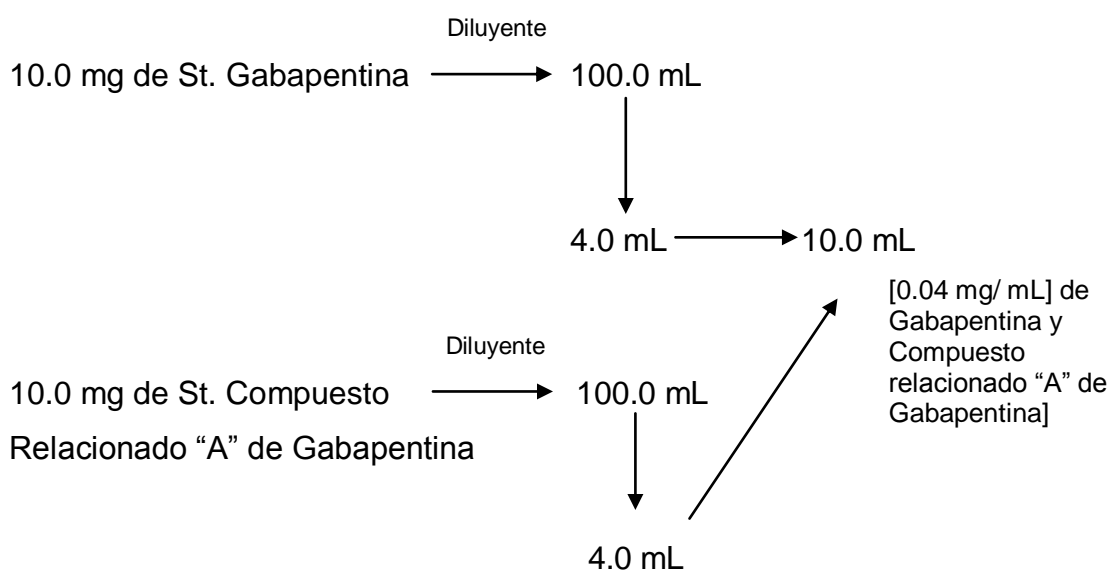
- **Solución amortiguadora de fosfato pH 6.9:** Disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua destilada. Ajustar a pH de 6.9 con solución de Hidróxido de potasio 5 N.
- **Solución A:** Disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua grado HPLC. Ajustar con Hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6.9. Agregar 60 mL de Acetonitrilo grado HPLC y mezclar. Filtrar a través de filtro membrana de poro 0.45 μm .
- **Solución B:** Disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 700 mL de agua grado HPLC. Ajustar con Hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6.9. Agregar 300 mL de Acetonitrilo grado HPLC y mezclar. Filtrar a través de filtro membrana de poro 0.45 μm .

PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES (Gabapentina y Compuesto relacionado "A" de Gabapentina)

1. Pesar 10.0 mg de estándar de Gabapentina al 100% de su pureza y colocar en balón de 100.0 mL
2. Pesar 10.0 mg de estándar de Compuesto Relacionado "A" y colocar en otro balón de 100.0 mL
3. Agregar 50.0 ml de diluyente y ultrasonificar por 5 minutos
4. Aforar con el mismo diluyente y homogenizar.

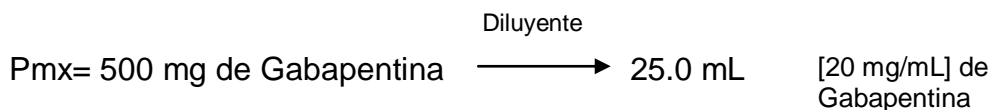
	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	8 de 11



5. Tomar alícuota de 4.0 mL y transferir a un balón de 10.0 mL. Aforar con diluyente y homogenizar.



PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Pesar equivalente a 500 mg de Gabapentina partiendo del contenido de no menos de 20 cápsulas, y colocar en un balón de 25.0 mL
2. Agregar 15 mL de diluyente y ultrasonificar por 10 minutos.
3. Aforar con el mismo diluyente y homogenizar.



	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	9 de 11

PROCEDIMIENTO

Analizar muestra y estándar bajo el siguiente sistema cromatográfico.

Fase móvil:	solución A y solución B (gradiente) ver tabla N° 5
Longitud de onda:	210 nm
Columna:	4.6 mm x 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo:	1.5 mL/ min
Volumen de inyección:	50 µL

Tabla N° 13. Proporciones de fase móvil en gradiente para Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina.

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0.0	100	0
4.0	100	0
45.0	0	100
45.1	100	0
50.0	100	0

CÁLCULOS

Muestras: solución estándar y muestra, calcular el porcentaje de compuesto relacionado "A" de Gabapentina en la porción de cápsulas tomada

$$\text{Resultado} = (r_u/r_s) \times (C_s/C_u) \times 100$$

Dónde:

r_u = Respuesta del pico de compuesto relacionado "A" de Gabapentina de la solución muestra.

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	10 de 11

rs = Respuesta del pico de compuesto relacionado "A" de Gabapentina de la solución estándar.

Cs = Concentración de ER compuesto relacionado "A" de Gabapentina USP en la solución estándar (mg/mL)

Cu = Concentración nominal de Gabapentina en la solución muestra (mg/mL)

G. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO A EVALUAR.

Tabla N° 14. Parámetros a evaluar en la verificación del método analítico.

PARÁMETRO	DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN
1. Precisión del método	6 determinaciones: Cada una consiste de un estándar y una muestra preparada al 100% de la concentración teórica.	Coeficiente de variación de: impurezas: $\leq 10.0 \%$
2. Exactitud (recobro)	Pequeñas cantidades de activo y compuesto relacionado se añaden al placebo a niveles del 80%, 100% y 120% de la concentración teórica. La exactitud es expresada como un porcentaje de la cantidad recuperada. Número de determinaciones: 9 (3 por cada nivel de concentración)	Porcentaje de recobro para impurezas: del 95.0 % al 105.0 % Coeficiente de variación: $\leq 10.0 \%$ Coeficiente de correlación y determinación: $r \geq 0.995$



	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	11 de 11

Tabla N° 14. (Continuación)

3. Precisión intermedia	Un segundo analista efectúa la precisión del método, utilizando como muestra el mismo lote del producto, en día diferente y equipo diferente en el mismo laboratorio.	Coeficiente de variación global: impurezas: $\leq 10.0\%$ Promedio global de datos.
4. Especificidad	Evaluar la interferencia debida al placebo y obtener los respectivos cromatogramas.	no debe haber interferencia
5. Límite de cuantificación	Preparar 5 soluciones estándar según el intervalo: 0.1% al 10% y 5 soluciones blanco.	El límite de cuantificación (LC) debe ser en una proporción de 10 a 1 de la señal ruido de los blancos.

H. BIBLIOGRAFIA

- Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional USP 38. NF 33. Volumen 1 (2015).
- Guía de Validación de Métodos Analíticos (2002). Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México A.C.
- Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos. (2010). Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA). (fecha de consulta: 15/03/16).

5.5 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO EVALUADOS

Para cada uno de los tres lotes analizados, se evaluó los siguientes parámetros de desempeño:

- **Precisión del método** en el cual se mostró el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplicó el método analítico para el Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina repetidamente a seis muestreos de una muestra homogénea.
- **Precisión Intermedia**, con este parámetro se mostró las variaciones que hubieron dentro del mismo laboratorio al ser empleado el método analítico por un segundo analista, en un día diferente y usando un equipo de HPLC diferente.
- Con la **Exactitud**, se mostró la proximidad entre los resultados obtenidos aplicando el método analítico de la USP 38 y el valor verdadero. Se calculó como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de Compuesto Relacionado “A” añadida a muestras de placebo.
- Con la **Especificidad**, se logró evaluar de manera inequívoca al analito, en este caso; el Compuesto Relacionado “A”, en presencia de los componentes de la matriz (excipientes del producto). Se determinó que no existe interferencia por parte de la matriz para evaluar al Compuesto Relacionado “A” de Gabapentina.
- **Límite de Cuantificación**. Con este parámetro se determinó la concentración mínima del Compuesto Relacionado “A” que puede ser cuantificada con las condiciones de operación establecidas en el método analítico.

Especificación: coeficiente de variación $CV \leq 10.0 \%$ para Impurezas tanto para respuesta de estándar como para respuestas de las muestras.

Precisión Intermedia

Tabla N° 16. Resultados del analista 1 y 2 para 6 pesadas de muestra de Gabapentina cápsula

Número de muestra	ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	Área de estándar (compuesto relacionado)	Área de solución muestra	% de impureza presente en muestra	Área de estándar (compuesto relacionado "A")	Área de solución muestra	% de impureza presente en muestra
1	10.799	29.926	0.32	833493	2289029	0.32
2	10.510	29.830	0.33	833830	2307912	0.32
3	9.924	29.171	0.34	823720	2284886	0.32
4	10.555	28.286	0.31	832338	2254885	0.31
5	10.355	28.360	0.32	835292	2317066	0.32
6	10.246	28.495	0.32	841336	2262727	0.31
Promedio	10.398	29.011	0.32	833334.83	2286084.17	0.32
Desviación estándar (s)	0.2992	0.7415	0.0001	5684.33	24353.16	0.0001
Coeficiente de variación (CV %)	2.9	2.6	3.2	0.7	1.1	1.6

Tabla N° 17. Resumen de resultados de la Precisión Intermedia del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsulas.

	Área de estándar (compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	Área de solución muestra de Gabapentina cápsula	% de impureza presente en muestra de Gabapentina cápsula
1	10.398	29.011	0.32
2	833334.83	2286084.17	0.32
Promedio	** N/A	** N/A	0.32
Coeficiente de variación global (CV %)	3.6	3.7	4.8

** El promedio para las áreas no aplica ya que son respuestas de diferentes equipos.

Especificación: Coeficiente de Variación Global $CV \leq 10.0 \%$ para Impurezas

ver Anexo N° 14

Exactitud (Recobro)

Preparación de soluciones muestras:

Placebo + materia prima de Gabapentina al 80% + materia prima de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina (CRA) al 80%

(Placebo + 400 mg de materia prima Gabapentina + 0.32 mg materia prima de CRA)

Placebo + materia prima de Gabapentina al 100% + materia prima de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina (CRA) al 100%

(Placebo + 500 mg materia prima de Gabapentina + 0.40 mg materia prima de CRA)

Placebo + materia prima de Gabapentina al 120% + materia prima de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina (CRA) al 120%

(Placebo + 600 mg materia prima de Gabapentina + 0.48 mg materia prima de CRA)

Tabla N° 18. Datos para determinación de coeficiente de determinación (r^2) y correlación (r)

MUESTRAS	X (mg/ mL) de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	X²	y (área)	Y²	XY
80%	0.0128	0.00016384	3.420	11.69640	0.04378
80%	0.0128	0.00016384	3.438	11.81984	0.04401

Tabla N° 18. (Continuación)

80%	0.0128	0.00016384	3.470	12.04090	0.04442
100%	0.0160	0.00025600	4.275	18.27563	0.06840
100%	0.0160	0.00025600	4.261	18.15612	0.06818
100%	0.0160	0.00025600	4.296	18.45562	0.06874
120%	0.0192	0.00036864	5.127	26.28613	0.09844
120%	0.0192	0.00036864	5.188	26.91534	0.09961
120%	0.0192	0.00036864	5.123	26.24513	0.09836
sumatoria	0.144	0.00236544	38.598	169.891108	0.63392
r	0.999				
r ²	0.999				

Tabla N° 19. Porcentajes de recobro para los 3 niveles de concentración.

Muestra de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	Área de solución muestra	mg de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	% de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina
mx 1 80%	3.420	0.33	103.6
mx 1 100%	4.275	0.41	103.6
mx 1 120%	5.127	0.50	103.5
mx 2 80%	3.438	0.33	103.4
mx 2 100%	4.261	0.41	102.6
mx 2 120%	5.188	0.50	104.1
mx 3 80%	3.470	0.33	102.4
mx 3 100%	4.296	0.41	101.4
mx 3 120%	5.123	0.48	100.8

Concentración de solución estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina = 0.04 mg/ mL

Factor de Dilución de muestra (FD_{mx}) = 25

Área de estándar 1 = 10.318

Factor de respuesta (FR₁) = 0.003877

Área de estándar 2 = 10.386

Factor de respuesta (FR₂) = 0.003851

Área de estándar 3 = 10.592

Factor de respuesta (FR₃) = 0.003776

Tabla N° 20. Resumen de Resultados de la Exactitud del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio Áreas	S (Desviación estándar)	CV (%)
mx 80%	103.6	103.4	102.4	103.1	0.5384	0.5
mx 100%	103.6	102.6	101.4	102.5	0.8923	0.9
mx 120%	103.5	104.1	100.8	102.8	1.4454	1.4

Especificación:

- Porcentaje de recobro para impurezas: 95.0- 105.0 %
- Coeficiente de variación: CV ≤ 10.0 %
- Coeficiente de determinación y correlación (r y r²): ≥ 0.995

ver Anexo N° 15

Especificidad

Tabla N° 21. Resultados de la especificidad del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Muestra	Concentración de Compuesto relacionado "A" de Gabapentina (mg/mL)	Respuesta (Área)
Placebo	0	0
Analito (estándar de Compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	0.04	10.510
Analito en muestra de Gabapentina cápsula	20.00	29.926

No se encontró interferencia por el resto de los excipientes para la identificación del analito en estudio.

Especificación: No debe de haber interferencia por los excipientes o matriz del producto y la respuesta debe de ser únicamente del analito en estudio.

ver Anexo N° 16

Límite de Cuantificación (LC)

Tabla N° 22. Resultados de los cinco niveles de concentración del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Niveles de concentración del compuesto relacionado "A" de Gabapentina	Concentración en ppm ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración en mg/ mL	Respuestas (Áreas)
0.1 %	0.04	$4.0 \cdot 10^{-5}$	0
2.0 %	0.80	$8.0 \cdot 10^{-4}$	0.195
5.0 %	2.00	$2.0 \cdot 10^{-3}$	0.443
8.0 %	3.20	$3.2 \cdot 10^{-3}$	0.753
10.0 %	4.00	$4.0 \cdot 10^{-3}$	0.986

Tabla N° 23. Respuestas de señal- ruido de blancos

Blancos	Respuesta señal-ruido
1	0.062
2	0.049
3	0.055
4	0.043
5	0.045
promedio	0.051

LC en base a señal- ruido = $0.051 \cdot 10 = 0.510$ por lo tanto, el límite de cuantificación aceptable para el compuesto relacionado "A" es de 2.00 ppm equivalente al 5 % de concentración del analito y equivalente a $2.0 \cdot 10^{-3}$ mg/ mL.

Especificación: El límite de cuantificación debe ser en una proporción de 10 a 1 de la señal-ruido de los blancos.

ver Anexo N° 17

Precisión Intermedia

Tabla N° 25. Resultados del analista 1 y 2 para los 6 pesadas de muestra de Gabapentina cápsula.

Número de muestra	ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	Area de estándar (compuesto relacionado)	Área de solución muestra	% de impureza presente en muestra	Área de estándar (compuesto relacionado)	rea de solución muestra	% de impureza presente en muestra
1	10.756	29.425	0.32	828993	2295020	0.32
2	10.510	29.590	0.33	834035	2208712	0.31
3	9.877	28.614	0.34	827920	2284886	0.32
4	10.513	27.914	0.31	832778	2254885	0.31
5	10.337	28.081	0.31	835599	2323066	0.33
6	10.412	29.071	0.33	821536	2262727	0.32
Promedio	10.401	28.783	0.32	830143.50	2271549.33	0.32
Desviación estándar (s)	0.2930	0.6961	0.0001	5142.05	39209.11	0.0001
Coefficiente de variación	2.8	2.4	3.7	0.6	1.7	2.4

Tabla N° 26. Resumen de resultados de la Precisión Intermedia del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

	Área de estándar (compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	Área de solución muestra de Gabapentina cápsula	% de impureza presente en muestra
1	10.401	28.783	0.32
2	830143.50	2271549.33	0.32
Promedio	** N/A	** N/A	0.32
Coefficiente de variación global	3.4	4.1	6.1

** El promedio para las áreas no aplica ya que son respuestas de diferentes equipos.

Especificación: Coeficiente de Variación Global $CV \leq 10.0 \%$ para Impurezas

Exactitud (Recobro)

Tabla N° 27. Datos para determinación de coeficiente de determinación (r^2) y correlación (r)

MUESTRAS	X (mg/ mL) de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	X ²	y (área)	Y ²	XY
80%	0.0128	0.00016384	3.397	11.53961	0.04348
80%	0.0128	0.00016384	3.395	11.52603	0.04346
80%	0.0128	0.00016384	3.425	11.73063	0.04384
100%	0.0160	0.00025600	4.366	19.06196	0.06986
100%	0.0160	0.00025600	4.301	18.49860	0.06882
100%	0.0160	0.00025600	4.325	18.70563	0.06920
120%	0.0192	0.00036864	5.115	26.16323	0.09821
120%	0.0192	0.00036864	5.094	25.94884	0.09780
120%	0.0192	0.00036864	5.110	26.11210	0.09811
sumatoria	0.144	0.00236544	38.528	169.286602	0.63277
r	0.998				
r ²	0.997				

Tabla N° 28. Porcentajes de recobro para los 3 niveles de concentración.

Muestra de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	Área	mg de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	% de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina
mx 1 80%	3.397	0.32	101.2
mx 1 100%	4.366	0.42	104.1
mx 1 120%	5.115	0.49	101.6
mx 2 80%	3.395	0.33	102.6
mx 2 100%	4.301	0.42	103.9
mx 2 120%	5.094	0.49	102.6
mx 3 80%	3.425	0.33	102.9
mx 3 100%	4.325	0.42	104.0
mx 3 120%	5.110	0.49	102.4

Concentración de solución estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina = 0.04 mg/ mL

Factor de Dilución de muestra (FDmx) = 25

Área de estándar 1 = 10.487 Factor de respuesta (FR1) = 0.003814

Área de estándar 2 = 10.345 Factor de respuesta (FR2) = 0.003867

Área de estándar 3 = 10.400 Factor de respuesta (FR3) = 0.003846

Tabla N° 29. Resumen de Resultados de la Exactitud del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio Áreas	S (Desviación estándar)	CV (%)
mx 80%	101.2	102.6	102.9	102.2	0.7261	0.7
mx 100%	104.1	103.9	104.0	104.0	0.0616	0.1
mx 120%	101.6	102.6	102.4	102.2	0.4158	0.4

Especificación:

- Porcentaje de recobro para impurezas: 95.0- 105.0 %
- Coeficiente de variación: $CV \leq 10.0 \%$
- Coeficiente de determinación y correlación (r y r^2): ≥ 0.995

Especificidad

Tabla N° 30. Resultados de la especificidad del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Muestra	Concentración de compuesto relacionado "A" de Gabapentina mg/mL	Respuesta (Área)
Placebo	0	0
Analito (estándar nade compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	0.04	10.520
Analito en muestra de Gabapentina cápsula	20.0	29.450

No se encontró interferencia por el resto de los excipientes para la identificación del analito en estudio.

Especificación: No debe haber interferencia por los excipientes o matriz del producto y la respuesta debe ser únicamente del analito en estudio.

Límite de Cuantificación (LC)

Tabla N° 31. Resultados de los cinco niveles de concentración del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Niveles de concentración del analito compuesto relacionado "A" de Gabapentina	Concentración en ppm ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración en mg/mL	Respuestas (Áreas)
0.1 %	0.04	$4.0 \cdot 10^{-5}$	0
2.0 %	0.80	$8.0 \cdot 10^{-4}$	0.216
5.0 %	2.00	$2.0 \cdot 10^{-3}$	0.464
8.0 %	3.20	$3.2 \cdot 10^{-3}$	0.812
10.0 %	4.00	$4.0 \cdot 10^{-3}$	1.029

Tabla N° 32. Respuestas de señal- ruido de los blancos

Blancos	Respuesta señal-ruido
1	0.062
2	0.049
3	0.055
4	0.043
5	0.045
promedio	0.051

LC en base a señal- ruido = $0.051 \cdot 10 = 0.510$ por lo tanto, el límite de cuantificación aceptable para el compuesto relacionado "A" es de 2.00 ppm equivalente al 5 % de concentración del analito y equivalente a $2.0 \cdot 10^{-3} \text{ mg/mL}$.

Especificación: El límite de cuantificación debe ser en una proporción de 10 a 1 de la señal-ruido de los blancos.

Precisión Intermedia

Tabla N° 34. Resultados del analista 1 y 2 para los 6 muestras de Gabapentina cápsula.

Número de muestra	ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	Área de estándar (compuesto relacionado)	Área de solución muestra	% de impureza presente en muestra	Área de estándar (compuesto relacionado)	Área de solución muestra	% de impureza presente en muestra
1	10.740	29.019	0.31	847093	2399920	0.33
2	10.459	29.538	0.32	834035	2389712	0.33
3	10.762	28.614	0.31	847526	2385806	0.32
4	10.520	27.743	0.31	832778	2357890	0.33
5	10.323	27.907	0.31	835599	2366066	0.33
6	10.541	29.442	0.32	841739	2365797	0.32
Promedio	10.558	28.711	0.31	839795.00	2377531.83	0.33
Desviación estándar (s)	0.1682	0.7624	0.0001	6585.30	16571.19	0.0001
Coefficiente de variación (CV %)	1.6	2.7	1.6	0.8	0.7	1.6

Tabla N° 35. Resumen de resultados de la Precisión Intermedia del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

	Área de estándar (compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	Área de solución muestra Gabapentina cápsula	% de impureza presente en muestra
1	10.558	28.711	0.31
2	839795.00	2377531.83	0.33
Promedio	** N/A	** N/A	0.32
Coefficiente de variación global (CV %)	2.4	3.4	3.2

** El promedio para las áreas no aplica ya que son respuestas de diferentes equipos.

Especificación: Coeficiente de Variación Global $CV \leq 10.0\%$ para Impurezas

Exactitud (Recobro)

Tabla N° 36. Datos para determinación de Coeficiente de determinación (r^2) y coeficiente de correlación (r)

MUESTRAS	X (mg/ mL) de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	X ²	y (área)	Y ²	XY
80%	0.0128	0.00016384	3.375	11.39063	0.04320
80%	0.0128	0.00016384	3.339	11.14892	0.04274
80%	0.0128	0.00016384	3.321	11.02904	0.04251
100%	0.0160	0.00025600	4.298	18.47280	0.06877
100%	0.0160	0.00025600	4.305	18.53303	0.06888
100%	0.0160	0.00025600	4.276	18.28418	0.06842
120%	0.0192	0.00036864	5.099	25.99980	0.09790
120%	0.0192	0.00036864	5.140	26.41960	0.09869
120%	0.0192	0.00036864	5.165	26.67723	0.09917
sumatoria	0.144	0.00236544	38.318	167.955218	0.63027
r	0.999				
r ²	0.998				

Tabla N° 37. Porcentajes de recobro para los 3 niveles de concentración.

Muestra de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	Área	mg de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina	% de recobro de compuesto relacionado "A" de Gabapentina
mx 1 80%	3.375	0.32	100.4
mx 1 100%	4.298	0.41	102.3
mx 1 120%	5.099	0.49	101.2
mx 2 80%	3.339	0.32	100.4
mx 2 100%	4.305	0.41	103.6
mx 2 120%	5.140	0.49	103.1
mx 3 80%	3.321	0.32	100.0
mx 3 100%	4.276	0.41	103.0
mx 3 120%	5.165	0.50	103.7

Concentración de solución estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina= 0.04 mg/ mL

Factor de Dilución de muestra (FDmx) = 25

Área de estándar 1 = 10.500 Factor de respuesta (FR1) = 0.003810

Área de estándar 2 = 10.389 Factor de respuesta (FR2) = 0.003850

Área de estándar 3 = 10.374 Factor de respuesta (FR3) = 0.003856

Tabla N° 38. Resumen de Resultados de la Exactitud del método para el compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio Áreas	S (Desviación estándar)	CV (%)
mx 80%	100.4	100.4	100.0	100.3	0.1895	0.2
mx 100%	102.3	103.6	103.0	103.0	0.5166	0.5
mx 120%	101.2	103.1	103.7	102.7	1.0837	1.1

Especificación:

- Porcentaje de recobro para impurezas: 95.0- 105.0 %
- Coeficiente de variación: CV ≤ 10.0 %
- Coeficiente de determinación y correlación (r y r²): ≥ 0.995

Especificidad

Tabla N° 39. Resultados de la especificidad del método para el compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Muestra	Concentración de compuesto relacionado "A" de Gabapentina mg/mL	Respuesta (Área)
Placebo	0	0
Analito (estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina)	0.04	10.529
Analito en muestra de Gabapentina cápsula	20.00	29.468

No se encontró interferencia por el resto de los excipientes para la identificación del analito en estudio.

Especificación: No debe de haber interferencia por los excipientes o matriz del producto y la respuesta debe de ser únicamente del analito en estudio.

Límite de Cuantificación (LC)

Tabla N° 40. Resultados de los cinco niveles de concentración del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

Niveles de concentración del analito compuesto relacionado "A" de Gabapentina	concentración en ppm ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración en mg/ mL	Respuestas (Áreas)
0.1 %	0.04	$4.0 \cdot 10^{-5}$	0
2.0 %	0.80	$8.0 \cdot 10^{-4}$	0.208
5.0 %	2.00	$2.0 \cdot 10^{-3}$	0.462
8.0 %	3.20	$3.2 \cdot 10^{-3}$	0.806
10.0 %	4.00	$4.0 \cdot 10^{-3}$	1.019

Tabla N° 41. Respuestas de señal- ruido de los blancos

Blancos	Respuesta señal-ruido
1	0.062
2	0.049
3	0.055
4	0.043
5	0.045
promedio	0.051

LC en base a señal- ruido = $0.051 \cdot 10 = 0.510$ por lo tanto, el límite de cuantificación aceptable para el compuesto relacionado "A" es de 2.00 ppm equivalente al 5 % de concentración del analito y equivalente a $2.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL.

Especificación: El límite de cuantificación debe ser en una proporción de 10 a 1 la señal-ruido de los blancos.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA





INFORME DE VERIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA
COMPUESTO RELACIONADO "A" EN CÁPSULAS DE GABAPENTINA 300 mg

RESPONSABLES:

Erika Josette Barrera de Hernández
Katherin Azucena Benitez De La Rosa

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

	INFORME DE VERIFICACIÓN PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	1 de 9

A. OBJETIVO

Obtener pruebas documentadas que demuestren que el método analítico de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38) para la determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina produce resultados confiables y que es adecuado para ser empleado bajo condiciones reales en un Laboratorio Farmacéutico Nacional. Así también, que las cápsulas analizar cumplen con la especificación de la USP 38 para el Compuesto Relacionado. El proceso experimental se realizará en el mes de julio del 2016.

B. ALCANCE

Determinación y Cuantificación del Compuesto Relacionado A de Gabapentina en cápsulas de Gabapentina 300 mg por Cromatografía Líquida de Alta presión a una longitud de onda de 210 nm empleando el método analítico de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38).

C. RESPONSABLES

Jefe de Laboratorio y Químicos analistas



D. EQUIPOS INVOLUCRADOS EN LA VERIFICACIÓN

- pH metro

marca: Seven Easy pH

modelo: Mettler Toledo

fecha de ultima calibración: 30/05/16 por Analítica Salvadoreña S.A de C.V

	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	2 de 9

- **Balanza analítica**

Marca: Mettler Toledo

Modelo: AG204-S/FACT

Fecha de última calibración: 22/06/16 por F.A DALTON & Co.

- **Balanza analítica**

Marca: SARTORIUS

Modelo: Quintix224-1S

Fecha de última calibración: 08/06/16 por RGH

- **Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)**

Marca: Thermo scientific

Modelo: Dionex Ultimate 3000



Fecha de última calibración: 12/06/16 por InstruQuimica S.A de C.V

- **Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC)**

Marca: Shimadzu

Modelo: LC-2010A-HT

Fecha de última calibración: 19/06/16 por CSE

	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	3 de 9

E. PARAMETROS DE DESEMPEÑO ESTUDIADOS

Tabla N° 42. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación.

PARÁMETRO	DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN
1. Precisión del método	6 determinaciones: Cada una consiste de un estándar y una muestra preparada al 100% de la concentración teórica.	Coeficiente de variación de: impurezas: $\leq 10.0 \%$
2. Exactitud (recobro)	Pequeñas cantidades de activo y compuesto relacionado se añaden al placebo a niveles del 80%, 100% y 120% de la concentración teórica. La exactitud es expresada como un porcentaje de la cantidad recuperada. número de determinaciones: 9 (3 por cada nivel de concentración)	Porcentaje de recobro para impurezas: del 95.0 % al 105.0 % Coeficiente de variación: $\leq 10.0 \%$ Coeficiente de correlación y determinación: $r \geq 0.995$
3. Precisión intermedia	Un segundo analista efectúa la precisión del método, utilizando como muestra el mismo lote del producto, en día diferente y equipo diferente en el mismo laboratorio.	Coeficiente de variación global: impurezas: $\leq 10.0\%$ Promedio global de datos.



	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	4 de 9

Tabla N° 42. (Continuación)

4. Especificidad	Evaluar la interferencia debida al placebo y obtener los respectivos cromatogramas	No debe haber interferencia por el resto de excipientes
5. Límite de cuantificación	Preparar 5 soluciones estándar según el intervalo: 0.1% al 10% y 5 soluciones blanco.	El límite de cuantificación debe ser en una proporción de 10 a 1 la señal-ruido de los blancos.

F. RESULTADOS DE LA VERIFICACION DEL MÉTODO ANALITICO FARMACOPEICO PARA LA DETERMINACION DEL COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPENTINA CÁPSULA 300 mg.

Tabla N° 43. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de Verificación para compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula Lote 1.

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS	CUMPLE	
			SI	NO
1. Precisión del método	Coeficiente de variación de: impurezas: $\leq 10.0 \%$	Área de estándares: - CV = 2.9 % Área de muestras: - CV = 2.6 % Área de impureza: - CV = 3.2 %	✓	



	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	5 de 9

Tabla N° 43. (Continuación)

2.Exactitud (recobro)	Porcentaje de recobro para impurezas: del 95.0 % al 105.0 % Coeficiente de variación: ≤ 10.0 % Coeficiente de correlación y determinación: $r \geq 0.995$	- Para 80%: 103.1% - CV = 0.5% - Para 100%:102.5% - CV = 0.9% - Para 120%:102.8% - CV = 1.4% - Porcentaje de recobro: - $r = 0.999$	✓	
3. Precisión intermedia	Coeficiente de variación global: impurezas: $\leq 10.0\%$ Promedio global de datos.	Impureza: CV global = 4.8%	✓	
4.Especificidad	No debe haber interferencia por el resto de excipientes	No se encontró interferencia significativa	✓	
5. Límite de cuantificación	El LC debe de ser en una proporción de 10 a 1 de la señal ruido de los blancos.	Ruido= $0.051 \cdot 10$ Ruido =0.510 LC = 5 % = 2.0 ppm	✓	



	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	6 de 9

Tabla N° 44. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de Verificación para compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula Lote 2.

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS	CUMPLE	
			SI	NO
1. Precisión del método	Coeficiente de variación de: impurezas: $\leq 10.0\%$	Área de estándares: - CV = 2.8 % Área de muestras: - CV = 2.4 % Área de impureza: - CV = 3.7 %	✓	
2. Exactitud (recobro)	Porcentaje de recobro para impurezas: del 95.0 % al 105.0 % coeficiente de variación: $\leq 10.0\%$ coeficiente de correlación y determinación: $r \geq 0.995$	- Para 80%: 102.2% - CV = 0.7 % - Para 100%: 104.0% - CV = 0.1 % - Para 120%: 102.2 % - CV = 0.4 % - Porcentaje de recobro: - r = 0.998	✓	
3. Precisión intermedia	Coeficiente de variación global: impurezas: $\leq 10.0\%$ Promedio global de datos.	Impureza: CV global = 6.1 %	✓	



	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	7 de 9

Tabla N° 44. (Continuación)

4.Especificidad	No debe haber interferencia por el resto de excipientes	No se encontró interferencia significativa	✓	
5.Límite de cuantificación	El LC debe de ser en una proporción de 10 a 1 de la señal ruido de los blancos.	Ruido= 0.051*10 Ruido =0.510 LC = 5 % = 2.0 ppm	✓	

Tabla N° 45. Parámetros de desempeño evaluados en el proceso de verificación para compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula Lote 3.

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS	CUMPLE	
			SI	NO
1.Precisión del método	Coeficiente de variación de: impurezas: ≤ 10.0 %	Área de estándares: - CV = 1.6 % Área de muestras: - CV = 2.7 % Área de impureza: - CV = 1.6 %	✓	





	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	8 de 9

Tabla N° 45. (Continuación)

2.Exactitud (recobro)	Porcentaje de recobro para impurezas: del 95.0 % al 105.0 % coeficiente de variación: $\leq 10.0 \%$ coeficiente de correlación y determinación: $r \geq 0.995$	- Para 80%: 100.3 % - CV = 0.2 % - Para 100%:103.0% - CV = 0.5 % - Para 120%:102.7 % - CV = 1.1 % - Porcentaje de recobro: - r= 0.999	✓	
3.Precision intermedia	Coeficiente de variación global: Impurezas: $\leq 10.0\%$ Promedio global de datos.	Impureza: CV global = 3.2 %	✓	
4.Especificidad	No debe haber interferencia por el resto de excipientes	No se encontró interferencia significativa	✓	
5.Límite de cuantificación	El LC debe de ser en una proporción de 10 a 1 de la señal ruido de los blancos.	Ruido= 0.051*10 Ruido =0.510 LC = 5 % = 2.0 ppm	✓	

	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	9 de 9

G. CONCLUSIÓN Y DICTAMEN DE LA VERIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Cumplidas las especificaciones de los parámetros de desempeño de: Precisión del método, Precisión Intermedia, Exactitud, Especificidad y Límite de Cuantificación de acuerdo a la categoría II para Impurezas, queda establecido que el método analítico Cromatográfico para la determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina en cápsulas de 300 mg, funciona correctamente. Por lo que, se concluye que éste método, queda verificado y es apto para ser utilizado.

DICTAMEN: Conforme

DECLARÁNDOSE: Válido para su utilización

CAPÍTULO VI
6.0 CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Los porcentajes de impureza obtenidos en la precisión del método de los tres lotes analizados cumplieron con la especificación de calidad de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38) para el Compuesto Relacionado "A", obteniendo un promedio del 0.32% de contenido, por lo tanto, el medicamento elaborado por el Laboratorio Farmacéutico Nacional es seguro para las personas que lo consumen solo sin el incremento de la impureza.
2. Elaborar el correspondiente protocolo para realizar la validación o verificación de una técnica analítica.
3. Realizar un informe de validación o verificación de un método analítico para reportar los resultados obtenidos de los parámetros de desempeño evaluados, las conclusiones y el dictamen respectivo del método analizado.
4. Los métodos analíticos previamente verificados o validados brindan la seguridad de que los resultados que se obtendrán al emplear un método en específico serán confiables y que se evitará cometer posibles errores y desperdicio de reactivos.
5. Resguardar toda la documentación involucrada que respalda la validación o verificación de un método analítico para demostrar y comprobar que un determinado método puede ser usado para el uso requerido en futuros análisis y que éste es confiable.
6. El método analítico cromatográfico para la determinación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina cápsula es preciso, exacto, específico,

confiable y reproducible para el objetivo previsto por lo que funciona correctamente en condiciones de uso real en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.

7. Para la metodología empleada no se modificaron condiciones analíticas ni cromatográficas, por lo que se empleó tal cual se encuentra descrito en la monografía del producto de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38).

CAPÍTULO VII
7.0 RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que la Dirección Nacional de Medicamentos (DNM) del país verifique que todo laboratorio productor de medicamentos cumpla con las regulaciones internacionales de calidad.
2. Los laboratorios farmacéuticos deben asegurar la calidad de los medicamentos que fabrican cumpliendo con las especificaciones farmacopéicas requeridas para el beneficio del consumidor.
3. Los profesionales farmacéuticos responsables de verificar métodos analíticos deben de elaborar protocolos para evitar cometer errores en el análisis y el desperdicio de reactivos.
4. Es responsabilidad de los analistas elaborar Informes de Verificación para evidenciar que el método analítico funciona correctamente para su uso previsto.
5. Que los analistas cumplan y sigan al pie de la letra, todo el procedimiento analítico descrito en el protocolo de verificación para la determinación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina empleando la referencia farmacopéica.
6. Todos los Laboratorios Farmacéuticos Nacionales fabricantes de productos de Gabapentina deben de asegurar que no contengan más del 0.4% de compuesto relacionado "A" de Gabapentina en contenido.

7. Que los laboratorios farmacéuticos fabriquen medicamentos de Gabapentina con excipientes que no favorezcan al aumento de la formación del compuesto relacionado "A" de Gabapentina en el producto terminado.

8. Todo químico farmacéutico debe de aplicar las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) cuando este en contacto con reactivos durante un análisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bernal, B.E, Domínguez, D.E (2010), Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y las partes del equipo. México (Fecha de consulta: 15/10/2015) disponible en: <http://es.scribd.com/doc/29466592/HPLC-Partes-Del-Equipo#scribd>.
2. Buenas Prácticas de la OMS para Laboratorios de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos (2010). Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 957. (Fecha de consulta: 01/11/2015) disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/js18681es/>
3. Carranza, R.R (2005), “Vademécum académico de medicamentos (VAM)”, Editorial Mc Graw Hill, México, Pág. 362-363.
4. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional USP 37. NF 32. Volumen 1 (2014). Pag. 50-51, 1440-1446
5. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional USP 38. NF 33. Volumen 1 (2015). Pag. 1155-1158.
6. Fuentes, J.E, Isaza, C.A, Izasa, G.E (1997), “Fundamentos de farmacología terapéutica”, tercera edición, Colombia, pág. 375,656.
7. Gabapentin Lactam. (2016). Chemical Book. (fecha de consulta: 25/03/16). Disponible en: http://www.chemicalbook.com/chemicalproductproperty_EN_CB2415644.htm.

8. Gallo, S.N (2009) Anticonvulsivantes, Residente medicina interna, (fecha de consulta: 01/02/2016), disponible en: <http://es.slideshare.net/neirethgallo/anticonvulsivantes-2372114>.
9. Gastón del Irriarte, E. y Del Pozo, A. (1963). Enciclopedia Farmacéutica, Tomo II, Editorial científico-medica, Barcelona, pág. 651-655.
10. Genaro, A.R, (2000), Remington farmacia, Editorial medica panamericana, Buenos aires, tomo II, pág. 1695.
11. Guía de Validación de Métodos Analíticos (2002). Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México A.C.
12. Información técnica de los anticonvulsivos, Cosmo ONLINE (fecha de consulta: 31/01/16) disponible en: <http://www.cosmos.com.mx/wiki/dqz4/anticonvulsivos>.
13. In re Gabapentin Patent Litigation (2005). United States District court, D. New Jersey. (fecha de consulta: 11/06/16), disponible en: ipsmall.info/.../2005.08.25_In_re_GABAPENTIN_PATENT_LITIGATION.
14. International Conference on Harmonisation. "Validation of Analytical Procedures Methodology" (2005). ICH Q₂ (R₁). Step 4. (fecha de consulta: 10/11/2015), disponible en: <http://www.ICH.org>
15. Manzano, O.A, Morales, M.A,. Formas farmacéuticas solidas de cápsulas de gelatina dura. (fecha de consulta: 06/02/2016) disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/356/Capsulas%20duras.pdf>.

16. Meese, Claus; Selve, Norma; Schmidt, Dirk. (2006). Derivados de Compuestos Aza-espiro para el tratamiento de Dolores. Schwarz Pharma AG, España. (fecha de consulta: 03/03/16). Disponible en: <http://www.espatentes.com/A61/2254915.html>
17. Productos Farmacéuticos Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 (fecha de consulta: 21/11/15), disponible en: <http://www.defensoria.gob.sv>
18. U.S Pharmacopeial Convention. Global Expertise Trusted Standards Improved health. (fecha de consulta: 25/11/15), disponible en: http://www.eurolabsa.com.ar/noticias_usp_foro/validacion_argentina
19. U.S Pharmacopeial Convention. Estándares de Referencia. (fecha de consulta: 20/12/15) disponible en: http://www.usp.org/es/estandares_de_referencia.
20. Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos. (2010). Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA). (fecha de consulta: 15/03/16).

GLOSARIO

Adecuabilidad del sistema: verificación de que el sistema opera con base a criterios que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico. ⁽¹¹⁾

Analito: En química analítica, es un componente elemento, compuesto o ión de interés analítico de una muestra. Es una especie química cuya presencia o contenido se desea conocer, identificable y cuantificable, mediante un proceso de medición química. ⁽¹¹⁾

Antinociceptivo: cualquier sustancia que inhibe la sensación de dolor. ⁽⁶⁾

Coefficiente de correlación (r^2): Es el cuadrado del coeficiente de Pearson y de la proporción de variación de la variable Y que es explicada por la variable X (variable explicatoria o predictora). ⁽²⁰⁾

Coefficiente de Variación (CV o RSD): No se basa en unidades, se puede utilizar en lugar de la desviación estándar para comparar la dispersión de los conjuntos de datos que tienen diferentes unidades. ⁽²⁰⁾

Control de calidad: Es un sistema de actividades operacionales rutinarias puestas en el lugar donde se desarrollan los procesos para identificar y corregir las desviaciones de los requisitos establecidos. ⁽²⁰⁾

Cromatograma: Es la figura gráfica de la respuesta analítica derivada de la aplicación de la técnica y el método analítico correspondiente. ⁽¹⁾

Derivatización: proceso mediante el cual se modifica químicamente un compuesto para producir un derivado con nuevas propiedades que faciliten su análisis, mejora la estabilidad, volatilidad y detección del analito. ⁽¹⁶⁾

Desviación Estándar: Es una medida dispersión para variables de razón (cuantitativas o cantidades racionales) y de intervalo. Se define como la raíz cuadrada de la varianza de la variable. ⁽¹¹⁾

Desviada al origen: Es el punto en que la línea recta corta el eje y se obtiene evaluando una función cuando $x=0$. ⁽¹¹⁾

Documentación: conjunto de información que sustenta una actividad realizada. ⁽²⁰⁾

Especificidad: Capacidad de evaluar de manera inequívoca el Analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulta previsible tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz. ⁽¹¹⁾

Estándar de referencia: Son muestras bien caracterizadas de fármacos y alimentos específicos provistos por la convención de la farmacopea de los Estados Unidos de América, son aprobados como aptos para su uso como estándares de comparación en las pruebas o valoraciones documentales. ⁽⁵⁾

Exactitud: Expresa la cercanía existente entre el valor que es aceptado como un valor de referencia y el valor encontrado obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces, la exactitud se expresa en términos de error. ⁽¹¹⁾

Impurezas: Es una sustancia o conjunto de sustancias extrañas que surgen durante el proceso de fabricación o durante la vida útil de un artículo en el cual pueden incluir material iniciales, productos intermedios, subproductos, reactivos o productos de degradación. ⁽⁵⁾

Intervalo de Confianza (IC): Un par o varios pares de números entre los cuales se estima que estaría cierto valor desconocido con una determinada probabilidad de acierto. ⁽¹¹⁾

Límite de cuantificación: Es una prueba característica de las valoraciones cuantitativas de compuestos que se encuentran en baja concentración en la matriz de una muestra tales como impurezas y producto degradación en productos, por lo tanto es la mínima cantidad de Analito en una muestra que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables en las condiciones experimentales indicadas se expresa en la concentración del Analito en la muestra. ⁽¹¹⁾

Límite de detección: Es una prueba limite ya que es la cantidad mínima del Analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, se expresa habitualmente como concentración del Analito en la muestra. ⁽¹¹⁾

Linealidad: determina la proximidad de una curva de calibración a una línea recta determinada, por lo cual es un parámetro importante de los métodos utilizados para efectuar mediciones en un intervalo de concentraciones. ⁽¹¹⁾

Media aritmética: También llamado promedio de un conjunto finito de números y es el valor característico de una serie de datos cuantitativos. ⁽²⁰⁾

Método Analítico: Descripción de la secuencia de actividades, recursos, materiales y parámetros que se deben cumplir para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra. ⁽¹¹⁾

Muestra: Material del que se toman porciones para la preparación de un sistema susceptible de mediciones que determinen la cantidad de un constituyente deseado. Es la cantidad de sustancia sometida a diversos análisis, con el propósito de encontrar su identidad, su pureza, por métodos cualitativos o cuantitativos. ⁽²⁰⁾

Parámetros de desempeño: Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación. ⁽¹¹⁾

Pendiente: Es la inclinación de un elemento lineal, natural o constructivo respecto de la horizontal. ⁽¹¹⁾

Precisión: grado de concordancia de un grupo de resultados entre sí, dispersión de estos resultados alrededor de una medida. ⁽¹¹⁾

Producto de degradación: impureza que resulta de un cambio químico en el fármaco ocurrido durante la fabricación y/o el almacenamiento del producto farmacéutico por el efecto de, por ejemplo, la luz, temperatura, pH, agua, o por reacción con un excipiente y/o sistema de envase-cierre primario. ⁽⁵⁾

Protocolo de Validación: Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistentes. ⁽²⁰⁾

Sustancia relacionada: son sustancias que están vinculadas estructuralmente con un fármaco. Estas sustancias pueden ser a) impurezas identificadas o no identificadas que surgen del proceso de síntesis como los materiales iniciales, productos intermedios o subproductos y no aumentan en el almacenamiento o b) productos de degradación identificados o no identificados que resultan de los procesos de fabricación del fármaco o del producto farmacéutico, o que surgen durante el almacenamiento del material. ⁽⁵⁾

Validación: Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. ⁽¹¹⁾

Validación de un método analítico: Es el proceso que establece, mediante estudios en el laboratorio que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas. ⁽¹¹⁾

Verificación: Confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados. ⁽²⁰⁾

Verificación de un método: Es la evaluación que sirve para determinar si el procedimiento puede ser utilizado para su propósito previsto, en las condiciones de uso reales para un fármaco específico o matriz de un producto farmacéutico determinado. ⁽²⁰⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1

Monografía de la USP 38 para Gabapentina, cápsula ⁽⁵⁾

Tabla 1

Nombre	Tiempo de Retención Relativo ^a	Factor de Respuesta Relativa ^b	Criterios de Aceptación, No más de (%)
Gabapentina	1,0	—	—
Compuesto relacionado E de gabapentina	2,9	1,0	0,10
Compuesto relacionado A de gabapentina	3,5	5,3	0,1
Compuesto relacionado B de gabapentina	3,8	0,35	0,06
Cualquier otra impureza individual no identificada	—	0,41	0,10

^a Los tiempos de retención relativos se calculan basándose en el tiempo de retención de gabapentina.

^b Los factores de respuesta relativa se calculan basándose en la respuesta del compuesto relacionado E de gabapentina debido a la baja absorptividad de gabapentina a la longitud de onda de detección (215 nm).

• **IMPUREZAS DE ELUCIÓN TARDÍA**

Diluyente y Solución amortiguadora: Preparar según se indica en la *Valoración*.

Fase móvil: Acetonitrilo, metanol y *Solución amortiguadora* (35:30:35)

Solución estándar: 2,8 µg/mL de ER Compuesto Relacionado D de Gabapentina USP en *Diluyente*. Inicialmente disolver el ER Compuesto Relacionado D de Gabapentina USP en una cantidad pequeña de metanol, luego diluir con *Diluyente*.

Solución muestra: 14 mg/mL de Gabapentina en *Diluyente*

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 215 nm

Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L1

Temperatura de la columna: 40°

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 20 µL

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar*

Requisitos de aptitud

Eficiencia de la columna: No menos de 13 600 platos teóricos

Desviación estándar relativa: No más de 7,0%

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

[NOTA—No tomar en cuenta los picos con un tiempo de retención relativo de no más de 0,35, con respecto a compuesto relacionado D de gabapentina.]

Calcular el porcentaje de cualquier impureza en la porción de Gabapentina tomada:

$$\text{Resultado} = (r_u/r_s) \times (C_s/C_u) \times (1/F) \times 100$$

r_u = área del pico de cualquier impureza de la *Solución muestra*

r_s = área del pico de compuesto relacionado D de gabapentina de la *Solución estándar*

C_s = concentración de ER Compuesto Relacionado D de Gabapentina USP en la *Solución estándar* (mg/mL)

C_u = concentración de Gabapentina en la *Solución muestra* (mg/mL)

F = factor de respuesta relativa: compuesto relacionado D de gabapentina, 1; todas las otras impurezas, 0,025

Criterios de aceptación

Impurezas individuales: No más de 0,10%
Impurezas totales: No más de 0,5% (incluyendo las impurezas cuantificadas en *Impurezas de Elución Temprana*)

PRUEBAS ESPECÍFICAS

• **PH (791)**

Solución muestra: 20 mg/mL en agua

Criterios de aceptación: 6,5–8,0

• **DETERMINACIÓN DE AGUA, Método 1 (921):** No más de 0,5%

REQUISITOS ADICIONALES

• **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados. Almacenar a temperatura ambiente.

• **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**

ER Gabapentina USP

ER Compuesto Relacionado A de Gabapentina USP
2-Aza-espiro[4.5]decan-3-ona.

$C_9H_{13}NO$ 153,22

ER Compuesto Relacionado B de Gabapentina USP
Ácido (1-ciano-ciclohexil)-acético.

$C_9H_{13}NO_2$ 167,21

ER Compuesto Relacionado D de Gabapentina USP
Ácido (1-(3-oxo-2-aza-espiro[4.5]dec-2-ilmetil)-ciclohexil)-acético.

$C_{13}H_{23}NO_3$ 307,43

ER Compuesto Relacionado E de Gabapentina USP
Ácido carboximetil-ciclohexancarboxílico.

$C_9H_{14}O_4$ 186,21

Gabapentina, Cápsulas

DEFINICIÓN

Las Cápsulas de Gabapentina contienen no menos de 90,0% y no más de 110,0% de la cantidad declarada de gabapentina ($C_9H_{17}NO_2$).

IDENTIFICACIÓN

• **A. ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO (197K)**

Muestra: Vaciar el contenido de no menos de 10 Cápsulas y moler hasta obtener un polvo fino. Usar una cantidad del polvo, equivalente a 2 mg de gabapentina, y 200 mg de bromuro de potasio.

Criterios de aceptación: Cumplen con los requisitos.

• **B.** El tiempo de retención del pico principal de la *Solución muestra* corresponde al de la *Solución estándar*, según se obtienen en la *Valoración*.

VALORACIÓN

• **PROCEDIMIENTO**

Diluyente: 1,2 g/L de fosfato monobásico de potasio en agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9.

Fase móvil: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 60 mL de acetonitrilo y mezclar.

Solución estándar: 4,0 mg/mL de ER Gabapentina USP en *Diluyente*

Solución muestra: Nominalmente, 4,0 mg/mL de gabapentina, a partir del contenido de no menos de 20

Cápsulas, equivalente a 100 mg de gabapentina, en *Diluyente*. Si fuera necesario, someter a ultrasonido durante aproximadamente 60 segundos para disolver el contenido.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38. Formulario Nacional
NF 33. Volumen 1 (2015). Pág. 1155-1158

USP 38

Monografías Oficiales / Gabapentina 4003

Modo: HPLC
Detector: UV 210 nm
Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1,2 mL/min
Volumen de inyección: 50 µL
Aptitud del sistema
Muestra: *Solución estándar*
Requisitos de aptitud
Eficiencia de la columna: No menos de 7000 platos teóricos
Factor de asimetría: No más de 2,0
Desviación estándar relativa: No más de 2,0%

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*
Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de gabapentina (C₉H₁₇NO₂) en la porción de Cápsulas tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de la *Solución muestra*
 r_S = respuesta del pico de la *Solución estándar*
 C_S = concentración de ER Gabapentina USP en la *Solución estándar* (mg/mL)
 C_U = concentración nominal de gabapentina en la *Solución muestra* (mg/mL)

Criterios de aceptación: 90,0%–110,0%

PRUEBAS DE DESEMPEÑO

Disolución (711)

Medio: Ácido clorhídrico 0,06 N (preparada agregando 51 mL de ácido clorhídrico a 10 L de agua); 900 mL
Aparato 2: 50 rpm
Tiempo: 20 min

Solución muestra: Filtrar una porción de la solución en análisis usando un filtro adecuado con un tamaño de poro de 0,45 µm.

Fase móvil: Preparar según se indica en la *Valoración*.
Solución estándar: 0,00111 L mg/mL de ER Gabapentina USP en Medio, en donde L es la cantidad declarada en mg/Cápsula

Sistema cromatográfico
(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC
Detector: UV 210 nm
Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1,2 mL/min
Volumen de inyección: 100 µL

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar*
Requisitos de aptitud
Eficiencia de la columna: No menos de 7000 platos teóricos

Factor de asimetría: No más de 2,0
Desviación estándar relativa: No más de 2,0%

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*
Calcular la cantidad disuelta de gabapentina (C₉H₁₇NO₂), como porcentaje de la cantidad declarada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times C_S \times V \times (1/L) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de la *Solución muestra*
 r_S = respuesta del pico de la *Solución estándar*
 C_S = concentración de la *Solución estándar* (mg/mL)
 V = volumen de Medio en el vaso de disolución, 900 mL
 L = cantidad declarada (mg/Cápsula)

Tolerancias: No menos de 80% (Q) de la cantidad declarada de gabapentina (C₉H₁₇NO₂)

UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN (905): Cumplen con los requisitos.

IMPUREZAS

IMPUREZAS ORGÁNICAS

Diluyente: Preparar según se indica en la *Valoración*.
Solución A: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 60 mL de acetoni-trilo y mezclar.
Solución B: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 700 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 300 mL de acetoni-trilo y mezclar.
Fase móvil: Ver la *Tabla 1*.

Tabla 1

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0,0	100	0
4,0	100	0
45,0	0	100
45,1	100	0
50,0	100	0

Solución estándar: 0,04 mg/mL de ER Gabapentina USP y de ER Compuesto Relacionado A de Gabapentina USP en *Diluyente*

Solución muestra: Nominalmente 20 mg/mL de gabapentina, a partir del contenido de no menos de 20 Cápsulas, equivalente a 500 mg de gabapentina, en *Diluyente*. Si fuera necesario, someter a ultrasonido durante aproximadamente 30 segundos.

Sistema cromatográfico
(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC
Detector: UV 210 nm
Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1,5 mL/min
Volumen de inyección: 50 µL

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar*
Requisitos de aptitud
Factor de asimetría: No más de 2,0 para el pico de gabapentina
Desviación estándar relativa: No más de 5,0% para gabapentina y compuesto relacionado A de gabapentina

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*
Calcular el porcentaje de compuesto relacionado A de gabapentina en la porción de Cápsulas tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de compuesto relacionado A de gabapentina de la *Solución muestra*
 r_S = respuesta del pico de compuesto relacionado A de gabapentina de la *Solución estándar*
 C_S = concentración de ER Compuesto Relacionado A de Gabapentina USP en la *Solución estándar* (mg/mL)
 C_U = concentración nominal de gabapentina en la *Solución muestra* (mg/mL)
Calcular el porcentaje de cualquier otro producto de degradación no especificado, con relación al contenido de gabapentina, en la porción de Cápsulas tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de cada impureza no especificada de la *Solución muestra*
 r_S = respuesta del pico de gabapentina de la *Solución estándar*
 C_S = concentración de ER Gabapentina USP en la *Solución estándar* (mg/mL)

Monografías USP

C_U = concentración nominal de gabapentina en la Solución muestra (mg/mL)
Criterios de aceptación
 Compuesto relacionado A de gabapentina: No más de 0,4%
 Cualquier impureza individual no especificada: No más de 0,1%
 Impurezas totales: No más de 1,0%

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados. Almacenar a temperatura ambiente controlada.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
 ER Gabapentina USP
 ER Compuesto Relacionado A de Gabapentina USP
 2-Aza-espiro[4.5]decan-3-ona.
 $C_9H_{17}NO$ 153,22

Gabapentina, Tabletas

DEFINICIÓN

Las Tabletas de Gabapentina contienen no menos de 90,0% y no más de 110,0% de la cantidad declarada de gabapentina ($C_9H_{17}NO_2$).

IDENTIFICACIÓN

- **A. ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO (197K)**
 Muestra: Moler al menos 20 Tabletas hasta polvo fino. Usar una cantidad de polvo equivalente a 2 mg de gabapentina y 200 mg de bromuro de potasio seco.
- **B.** El tiempo de retención del pico principal de la Solución muestra corresponde al de la Solución estándar, según se obtienen en la Valoración.

VALORACIÓN

• **PROCEDIMIENTO**

Diluyente: 1,2 g/L de fosfato monobásico de potasio en agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9.

Fase móvil: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 60 mL de acetoni-trilo y mezclar. Filtrar y desgasificar.

Solución estándar: 4,0 mg/mL de ER Gabapentina USP en Diluyente

Solución muestra: 4,0 mg/mL de gabapentina, a partir de no menos de 20 Tabletas reducidas a polvo fino, en Diluyente

Sistema cromatográfico
 (Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)
Modo: HPLC

Detector: UV 210 nm
Columna: 4,6 mm x 25 cm; relleno L7 de 5 µm
Velocidad de flujo: 1,2 mL/min
Volumen de inyección: 50 µL

Aptitud del sistema

Muestra: Solución estándar
Requisitos de aptitud
Eficiencia de la columna: No menos de 7000 platos teóricos
Factor de asimetría: No más de 2,0
Desviación estándar relativa: No más de 2,0% para gabapentina

Análisis

Muestras: Solución estándar y Solución muestra
 Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de $C_9H_{17}NO_2$ en la porción de Tabletas tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de la Solución muestra

r_S = respuesta del pico de la Solución estándar
 C_S = concentración de ER Gabapentina USP en la Solución estándar (mg/mL)
 C_U = concentración nominal de gabapentina en la Solución muestra (mg/mL)
Criterios de aceptación: 90,0%–110,0%

PRUEBAS DE DESEMPEÑO

• **DISOLUCIÓN (711)**

Prueba 1

Medio: Ácido clorhídrico 0,06 N (51 mL de ácido clorhídrico en 10 L de agua); 900 mL

Aparato 2: 50 rpm

Tiempo: 45 min

Solución muestra: Pasar una porción de la solución en análisis a través de un filtro adecuado de 0,45 µm. Determinar la cantidad disuelta de $C_9H_{17}NO_2$ usando el siguiente método.

Fase móvil: Preparar según se indica en la Valoración.
Solución estándar: 0,0011 x L mg/mL de ER Gabapentina USP en Medio, donde L es la cantidad declarada en mg/Tableta

Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en la Valoración.

Volumen de inyección: 100 µL para Tabletas que declaran contener 100, 300 ó 400 mg; 50 µL para Tabletas que declaran contener 600 u 800 mg

Aptitud del sistema

Muestra: Solución estándar

Requisitos de aptitud

Eficiencia de la columna: No menos de 5000 platos teóricos

Factor de asimetría: No más de 2,0

Desviación estándar relativa: No más de 3%

Análisis

Muestras: Solución estándar y Solución muestra
 Calcular el porcentaje de $C_9H_{17}NO_2$ disuelta:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times C_S \times (V/L) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de la Solución muestra
 r_S = respuesta del pico de la Solución estándar
 C_S = concentración de la Solución estándar (mg/mL)
 V = volumen de Medio, 900 mL
 L = cantidad declarada por Tableta en mg

Tolerancias: No menos de 80% (Q) de la cantidad declarada de $C_9H_{17}NO_2$.

Prueba 2: Si el producto cumple con esta prueba, el etiquetado indica que el producto cumple con la Prueba de Disolución 2 de la USP.

Medio, Aparato 2, Fase móvil, Solución estándar, Solución muestra, Sistema cromatográfico y Análisis: Proceder según se indica en Prueba 1.

Tiempo: 30 min

Tolerancias: No menos de 80% (Q) de la cantidad declarada de $C_9H_{17}NO_2$.

- **UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN (905):** Cumplen con los requisitos.

IMPUREZAS

Impurezas Orgánicas

• **PROCEDIMIENTO**

Diluyente: Preparar según se indica en la Valoración.
Solución A: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 940 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 60 mL de acetoni-trilo y mezclar. Filtrar y desgasificar.

Solución B: Disolver 1,2 g de fosfato monobásico de potasio en 700 mL de agua. Ajustar con hidróxido de potasio 5 N a un pH de 6,9. Agregar 300 mL de acetoni-trilo y mezclar. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil: Ver la tabla de gradientes siguiente.

ANEXO N° 2

Guía de Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos del
Organismos Salvadoreño de Acreditación Versión 1 Revisión 0. ⁽²⁰⁾

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

ANEXO 2: Ejemplos para la Determinación de Parámetros Estadísticos para Métodos Químicos de Análisis.

1. Selectividad/ Especificidad.

Procedimiento de determinación de la selectividad

En el estudio de la selectividad, como norma general se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas, excipientes (matriz o placebo), y dependiendo del tipo de muestra, tipo de técnica analítica, instrumento de medición. Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias y/o elementos y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Para métodos de Identificación

Se deben seleccionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base en la estructura molecular del analito, precursores, sustancias relacionadas, vías degradativas, entre otros.

Para métodos de Contenido/Valoración de impurezas.

Si se dispone de las impurezas se deben adicionar éstas al analito y/o a la muestra analítica en niveles que incluya la especificación. Analizar como lo indica el método.

Cuando no se dispone de las impurezas, la muestra que contiene el analito debe someterse a condiciones que generen su inestabilidad química (luz, calor, humedad, hidrólisis, ácido-básica y oxidación) y aplicar el método a la muestra resultante.

Para métodos de límite de impurezas

Proceder a analizar, como lo indica el método los siguientes:

- Muestras individuales de la impureza (orgánicas, inorgánicas, o solventes residuales).
- El producto (de pureza aceptable)
- Y la mezcla de estos.

Para métodos indicadores de estabilidad

Si se cuenta con los productos de degradación, preparar muestras

- La matriz sola
- con matriz adicionada de estos
- la matriz adicionada del analito
- la matriz adicionada analito y de productos de degradación.

Analizar como lo indica el método.

Para análisis farmacéuticos si no se tienen los posibles productos de degradación se pueden emplear, dependiendo de la naturaleza química del analito y si es posible, las siguientes condiciones para favorecer la inestabilidad del analito en la muestra

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

	Condiciones
Análito, matriz y muestra	<ol style="list-style-type: none">1. Calentar en un horno desde 70°C a 120°C o a 20°C por debajo del punto de fusión del analito 2 a 4 semanas2. Exponer a luz UV, fluorescente y/o humedad relativa, por un tiempo apropiado dependiendo de cada analito.3. Hacer soluciones, ajustando el pH de 1 a 2 (HCl 0.1N) y/o de 10 a 12 (NaOH 0.1N) y someterlas a 60°C por un tiempo apropiado dependiendo de cada analito.4. Para muestras líquidas o semisólidas (formas farmacéuticas) adicionar peróxido de hidrógeno (3%) para favorecer la oxidación del analito.

Estos estudios no se deben llevar a cabo para analitos que según la bibliografía, tengan propiedades reactivas que puedan dar lugar a condiciones inseguras al someter las muestras a las condiciones antes mencionadas. El tiempo y las condiciones se seleccionan con el fin de degradar al analito a niveles de un 15 a 30%.

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

Cuando haya duda en la demostración de la especificidad de un método analítico, se sugiere que sea investigada por otra metodología de soporte.

Los resultados del estudio de selectividad están vinculados principalmente al origen de la muestra, su preparación y las condiciones instrumentales. Cualquier cambio en estos factores supone reconsiderar el estudio realizado.

Criterios de aceptación

La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito.

2. Estabilidad analítica de la muestra

El analista debe establecer la etapa de análisis en la cual se desea evaluar la estabilidad, además de determinar si en dicha etapa es posible fraccionar (muestras dependientes) o no (muestras independientes) y las condiciones de almacenaje.

Muestras dependientes

El analista debe procesar hasta la etapa preestablecida por lo menos por triplicado una muestra homogénea.

Fraccionar cada una de las preparaciones de acuerdo a las condiciones de almacenaje (Ambiente, Refrigeración, t °C , etc. durante un tiempo determinado) de interés. Terminar el análisis de una de las fracciones de cada preparación. Proseguir el análisis de cada una de las fracciones al término de cada

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

Calcular el valor de la pendiente (b), la ordenada en el origen (a), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente ($IC(b)$). Si el método presenta un ajuste distinto a la línea recta, utilizar la estadística apropiada y justificarla.
El intervalo (rango) está en función del propósito del método, y por lo general se expresa como concentración.

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

En análisis farmacéutico:

- Para Contenido/valoración/Potencia, sugiere un mínimo de $\pm 20\%$ ⁷
- Para Contenido / Valoración de impurezas desde un nivel apropiado hasta un -20% por arriba de la especificación.
- Para métodos indicadores de estabilidad desde un nivel apropiado hasta un 120% .

Criterios de aceptación

$r^2 \geq 0.98$

$IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero

Otros criterios de aceptación deben ser justificados.

4. Linealidad del método y Rango

Se conocen los componentes de la muestra y es posible preparar una matriz.

Un analista debe preparar una matriz con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra.

A la cantidad de matriz analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) correspondiente al 100% de este en la muestra.

Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito (intervalo) y preparar el matriz adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de matriz analítico en los tres niveles.

Los matriz adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición al matriz analítico.

Como lo indica el método, preparar 3 soluciones estándar al 100% de la concentración teórica.

Realizar una determinación de cada matriz adicionado, de acuerdo a la siguiente secuencia:

- Estándar
- Matriz adicionado nivel inferior
- Matriz adicionado 100%

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

- Matriz adicionado nivel superior
- Hasta terminar los 3 bloques

Hacer cálculos, como lo indica el método para cada bloque de muestras con referencia a su estándar respectivo. Determinar la cantidad recuperada del analito.

No se conocen los componentes de la muestra

Un analista debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido del analito.

El mismo analista debe preparar por lo menos 3 muestras adicionadas, por ejemplo utilizando la mitad de la muestra analítica que originalmente requiere el método y adicionar el analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) hasta completar lo que represente el 100% de éste en la muestra.

Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito (intervalo) y preparar la muestra adicionada al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de muestra en los tres niveles.

Las muestras adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra.

Realizar una determinación de cada preparación de muestra, de acuerdo a la siguiente secuencia:

- Estándar
- Muestra adicionada nivel inferior
- Muestra adicionada 100%
- Muestra adicionada nivel superior
- Hasta terminar los 3 bloques

Hacer cálculos, como lo indica el método para cada bloque de muestras con referencia a su estándar respectivo.

Determinar la cantidad recuperada del analito.

Cuando no sea posible adicionar de manera directa el analito a la muestra, la adición puede ser llevada a cabo en alguna etapa del método. Se recomienda que la adición se lleve a cabo en las primeras etapas del método, para poder asegurar que las etapas posteriores, no den lugar a resultados incorrectos.

Por ejemplo, si una muestra se debe extraer, filtrar y diluir, es conveniente que la adición se lleve a cabo antes de extraer; ya que si existiera algún problema con la extracción o con la filtración, puede dar lugar a resultados incorrectos si el analito se adiciona a la muestra o matriz analítico hasta antes de diluir.

El intervalo (rango) de la concentración del analito adicionado, depende del propósito del método y debe incluir la especificación, los límites según una normativa en particular.

En análisis farmacéutico según la guía ICH Q2A se recomienda los rangos según el propósito de método cuantitativo.

Guía de Validación de Métodos Analíticos (2002). Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México A.C

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

Propósito del método	Especificación	Rango recomendado para estudiar la linealidad
Valoración del contenido de principio activo	En especialidades farmacéuticas de 90 – 110% a caducidad respecto al valor nominal En materia prima 98 – 102% o 99 – 101%	80 -120%
Uniformidad de contenido	85 -115%	70 -130% (*)
Disolución de principio activo	Siendo Q la especificación establecida .(según USP)	± 20% respecto a la especificación Rango= (Q+20%, Q-20%)
Cuantificación de Impurezas	Depende de cada impureza	Desde el límite de cuantificación o desde el 50% de la especificación límite de cada impureza hasta un 120% de dicha especificación

(*) En el caso de que el procedimiento analítico para el análisis del contenido y el de uniformidad coincidan, puede aprovecharse el mismo rango y evaluar la linealidad una sola vez entre el 70 – 130%

Reportar la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada o señal obtenida

Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados, calcular el valor de la pendiente (b), la ordenada en el origen (a), el coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente (IC(b)), el intervalo de confianza para la ordenada al origen (IC(a)), y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{y/x}$).

Calcular

Promedio aritmética, la desviación estándar (S), el coeficiente de variación (CV) y el intervalo de confianza para la media poblacional IC (μ) del porcentaje de recobro.

Criterios de aceptación

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada

- $r^2 \geq 0.95$ (El criterio de aceptación definido por el laboratorio dependerá del tipo de análisis y del nivel de concentración del analito en la matriz.)
- IC (b), debe incluir la unidad
- IC (a), debe incluir el cero
- El ($CV_{y/x}$) del porcentaje de recobro no > 2% si el método es volumétrico o cromatográfico, no > 3% si el método es químico o espectrofotométrico

Criterios de aceptación

Cantidad adicionada vs. Señal obtenida

- $r^2 \geq 0.95$ (El criterio de aceptación definido por el laboratorio dependerá del tipo de análisis y del nivel de concentración del analito en la matriz.)
- IC (b), no debe incluir el cero
- El ($CV_{y/x}$) del porcentaje de recobro no > 2% si el método es volumétrico o cromatográfico, no > 3% si el método es químico o espectrofotométrico

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

Porcentaje de recobro

- De acuerdo al anexo 2.

5. Intervalo o Rango

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. En el extremo inferior del intervalo de concentración los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o de cuantificación. En el extremo superior del intervalo de concentración las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

Análisis	Tratamiento de datos	Comentarios
Fortificar alicuotas de un blanco de muestra a varias concentraciones del analito cercanas al límite de detección.	A partir de los resultados calcular el límite de cuantificación	El límite de cuantificación forma efectivamente el extremo inferior del rango o intervalo de trabajo.

Es aconsejable investigar la varianza a lo largo del intervalo de trabajo. La relación entre la respuesta del instrumento con la concentración no tiene que ser perfectamente lineal para que un método sea efectivo, pero la curva debe ser repetible día con día. Observe que los intervalos de trabajo pueden ser diferentes para distintas matrices de acuerdo al efecto de las interferencias que produce la matriz.(7)

6. Exactitud

6.1 Veracidad

La evaluación práctica de la veracidad se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia.

Se dispone de dos técnicas básicas: Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y comparación con otro método caracterizado.

Para verificar la veracidad utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés. Claramente la disponibilidad de éstos materiales es limitada. Los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- a) Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada.
- b) Materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

Análisis	Tratamiento de datos	Comentarios
Efectuar 10 réplicas del material de referencia usando el método a validar.	Comparar con un contraste estadístico adecuado el valor medio con el valor del material de referencia utilizado.	Contraste $-t $ de un valor conocido contra una media poblacional
Efectuar 10 réplicas del material de referencia usando el método a validar y un método oficial o validado.	Comparar con un contraste estadístico adecuado los valores medios del material de referencia obtenido por ambos métodos	Contraste $-t $ de Comparación de dos medias

The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. First Edition 1998. EURACHEM

6.2 Porcentaje de Recobro

Debe evaluarse en al menos tres réplicas de tres niveles de concentración, incluidos en el rango de trabajo del método. (Ver linealidad del método)

7. Precisión.

La precisión es medida mediante la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

REPETIBILIDAD: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (un mismo analista, mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un tiempo de tiempo corto.

PRECISION INTERMEDIA: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio.

REPRODUCIBILIDAD: Estudia la variabilidad método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

Análisis	Tratamiento de datos	Comentarios
10 réplicas de un material de referencia utilizando mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto.	Determinar la desviación estándar de los resultados	Determina la Repetibilidad.
10 réplicas de un material de referencia, utilizando diferente analista, equipo, y mismo laboratorio y período.	Determinar la desviación estándar de los resultados	Determina la precisión intermedia

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS
VERSIÓN 1 REVISIÓN 0
APROBADO 23/10/2010

Análisis	Tratamiento de datos	Comentarios
10 réplicas de un material de referencia utilizando diferentes analistas, equipos y laboratorio en periodo de tiempo prolongado.	Determinar la desviación estándar de los resultados	Determina la reproducibilidad

The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. First Edition 1998. EURACHEM

8. Límite de Detección y Límite de Cuantificación.

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. Según Un resultado "positivo" no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo contrario se puede incurrir en un falso positivo: suponer el analito presente en la muestra cuando de hecho no lo está. El límite de Cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable). Numéricamente es mayor el límite de Cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un % de Coeficiente de Variación y de Recuperación aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse pero no cuantificarse. Si las concentraciones a determinar son elevadas, se puede sustituir su estudio por la determinación de la precisión y la exactitud a la concentración más baja que presente el analito en la práctica.

DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACION.

a. Relación señal-ruido.

Se compara la respuesta del blanco de la muestra (matriz de la muestra conteniendo todos los excipientes excepto el analito a estudiar) con la respuesta de muestras preparadas por la adición de pequeñas cantidades de analito al blanco.

Se obtiene, primero el nivel medio de ruido del blanco y se multiplica por 2 ó 3 para el límite de detección y por 6 ó 10 para el límite de cuantificación. Estos valores se comparan con las respuestas de la serie de blancos con analito, hallándose finalmente la concentración de analito que corresponde al valor de la señal.

b. Estudio de la menor cantidad detectable.

El límite de detección se determina mediante el análisis de muestras con cantidades o concentraciones conocidas de analito y estableciendo el nivel mínimo en el que este puede detectarse fiablemente.

Este se emplea en cromatografía en capa fina para hallar el límite de detección de las impurezas y/o productos de degradación en una materia prima.

ANEXO N° 3

Preparación de Soluciones Reactivos ⁽⁵⁾

Listado de Reactivos

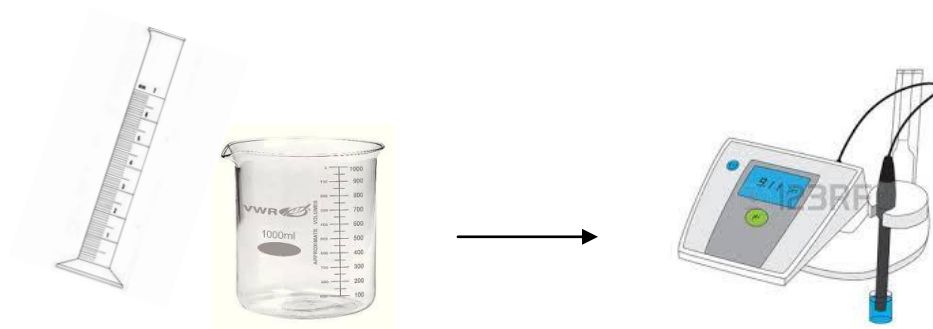
- Solución de Hidróxido de Potasio 5 N
- Buffer Fosfato monobásico de potasio pH 6.9 (Diluyente)

Preparación

Solución de Hidróxido de potasio 5 N: Disolver poco a poco 28.055 g de Hidróxido de potasio en 100 mL de agua destilada.



Buffer Fosfato monobásico de potasio pH 6.9: Disolver 1.2 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua destilada. Ajustar a pH de 6.9 con solución de Hidróxido de potasio 5 N.



Especificaciones de reactivos

Fosfato monobásico de potasio (Bifosfato de potasio; fosfato Diácido de potasio); KH_2PO_4 - 136.09. [7778-77-0]- usar grado ACS.

Hidróxido de Potasio, KOH - 56.11 [1310-58-3]- usar grado reactivo ACS.

ANEXO N° 4

Formato de protocolo de verificación para el análisis del Compuesto
Relacionado "A" de Gabapentina.

**Formato de protocolo de verificación para el análisis del Compuesto
Relacionado "A" de Gabapentina.**

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	Página 1 de 3

A. OBJETIVO

Se colocara la finalidad de la verificación del método y propuestas de fechas de inicio y final.

B. ALCANCE

Determinación del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina por Cromatografía Líquida de Alta presión empleando el método de análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38)

C. RESPONSABLES

Jefe de Laboratorio
Químicos Analistas

D. PARAMETROS A ESTUDIAR

Se colocaran los parámetros de desempeño a estudiar los cuales se seleccionan en función de las características de la muestra, tipo de método analítico y rango de concentración del analito.

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPENTINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	Página 2 de 3

E. MUESTRAS

Se definirá el tipo de muestra, identificación, preservación (si aplica) tratamiento previo, almacenamiento previo al análisis (si aplica), disposición final.

F. EQUIPOS INVOLUCRADOS EN LA VALIDACION

Serán identificados los equipos implicados en el proceso de verificación (pH metros, balanzas, cromatógrafos, etc.), y documentar que están convenientemente calificados y calibrados, referenciando estos datos en el informe de verificación.

G. DESCRIPCION DEL METODO ANALITICO

Deberá describirse el método tal cual será puesto en el uso rutinario, detallando todos los elementos abajo mencionado, y haciendo énfasis en puntos críticos de la metodología, condiciones instrumentales y número de repeticiones, verificación de idoneidad de las condiciones operatorias definidas, fórmulas para el cálculo de resultados y su tratamiento estadístico si es necesario, bibliografía y referencias.

- REACTIVOS
- ESTANDARES
- MATERIALES
- INSTRUMENTACIÓN
- CONDICIONES AMBIENTALES

	PROTOCOLO DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: PVG1	Revisión: 0	Página 3 de 3

- MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS
- PREPARACION DE REACTIVOS
- PREPARACIÓN DE ESTANDARES
- PREPARACION DE LA MUESTRA
- PROCEDIMIENTO
- CALCULOS

H. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS EVALUAR

Se realizara una tabla que permita visualizar los parámetros de desempeño, como se hará la determinación de cada parámetro de desempeño y que se reportara para la evaluación final.

I. BIBLIOGRAFIA

- Farmacopea de Los Estados Unidos USP 38
- Guía de Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos del Organismo Salvadoreño de Acreditación.
- Guía de validación de Métodos Analíticos.

J. ANEXOS

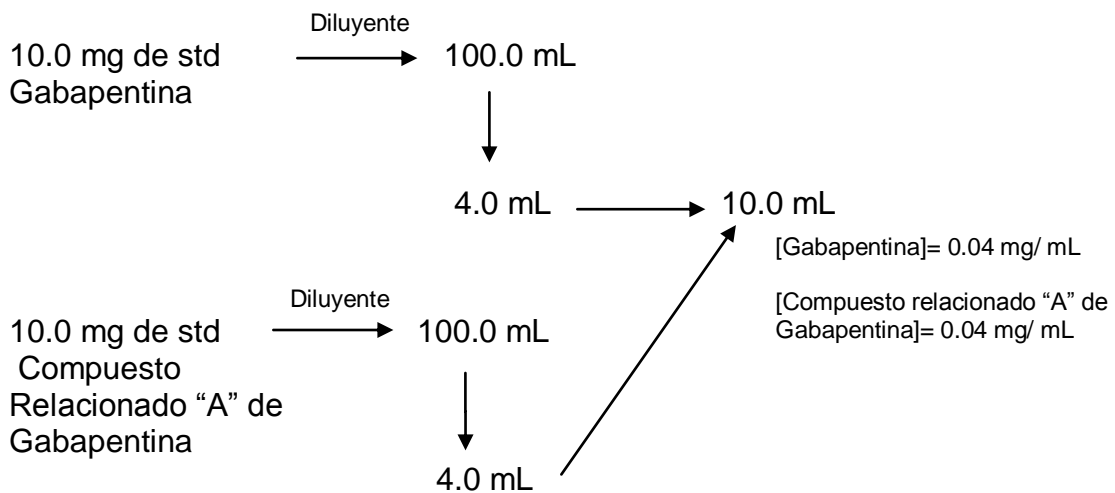
ANEXO N° 5

Marchas analíticas de Parámetros de Desempeño

Marchas analíticas de Parámetros de Desempeño

Preparación de soluciones estándar:

1. Pesar 10.0 mg de estándar de Gabapentina al 100% de su pureza y colocar en balón de 100.0 mL
2. Pesar 10.0 mg de estándar de Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina al 100% de su pureza y colocar en otro balón de 100.0 mL
3. Agregar 50.0 ml de diluyente y ultrasonificar por 5 minutos cada balón.
4. Aforar con el mismo diluyente y homogenizar.
5. Tomar alícuota de 4.0 mL de cada solución y transferir a un balón de 10.0 mL. Aforar con diluyente y homogenizar.



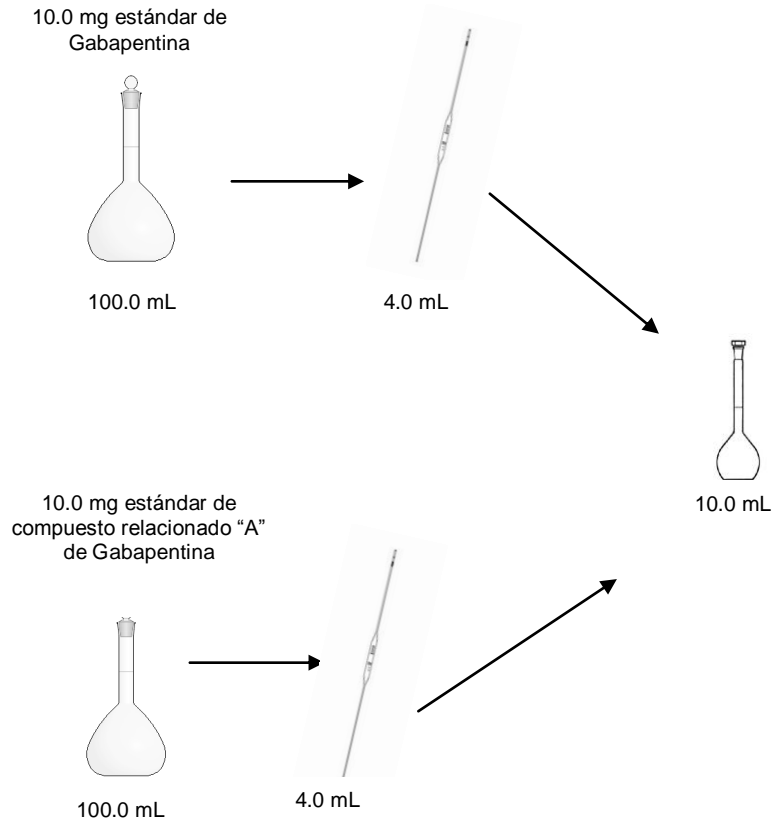
Preparación de solución muestra:

1. Pesar equivalente a 500 mg de Gabapentina partiendo del contenido neto de no menos de 20 cápsulas, y colocar en un balón de 25.0 mL
2. Agregar 15 mL de diluyente y ultrasonificar por 10 minutos.
3. Aforar con el mismo diluyente y homogenizar.

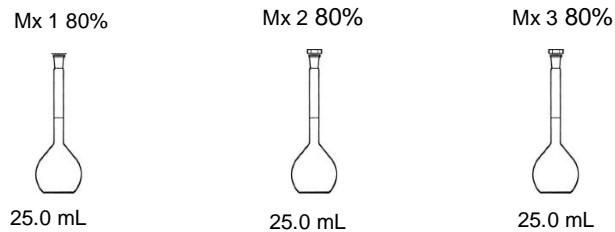


Exactitud

1. Preparar 3 soluciones estándar de Gabapentina y 3 soluciones estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina con una concentración final de 0.04 mg/mL de la siguiente forma:



2. Preparar 3 muestras al 80% (placebo+ 400 mg de std Gabapentina+ 0.32 mg std Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina)



3 Muestras al 100% (placebo + 500 mg std Gabapentina + 0.40 de std Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina)

Mx 1 100%



25.0 mL

Mx 2 100%



25.0 mL

Mx 3 100%



25.0 mL

3 muestras al 120% (placebo+ 600 mg std Gabapentina + 0.48 mg std Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina)

Mx 1 120%



25.0 mL

Mx 2 120%



25.0 mL

Mx 3 120%



25.0 mL

3. Determinar el área de cada solución en el siguiente orden:

Std 1 de Gabapentina
y de compuesto
relacionado "A"



10.0 mL

Mx 1 al 80%



25.0 mL

Mx 1 al 100%



25.0 mL

Mx 1 al 120%

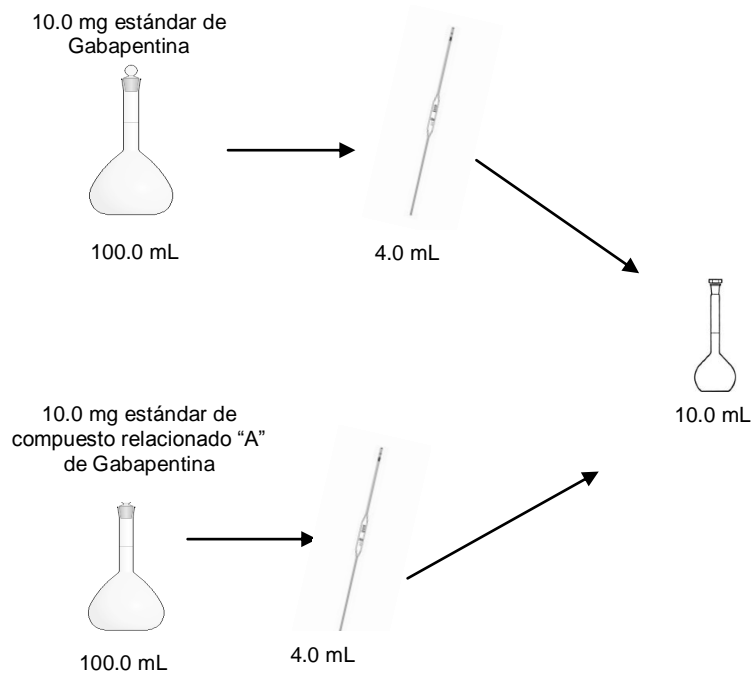


25.0 mL

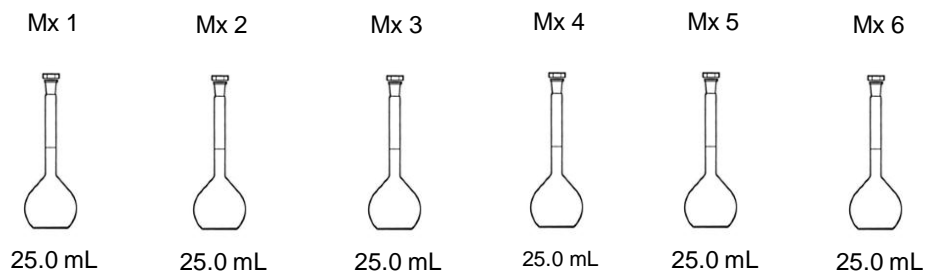
Hasta terminar con la serie.

Precisión del Método y Precisión Intermedia

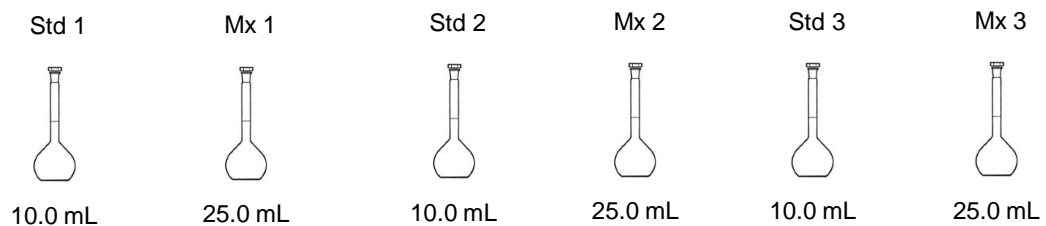
1. Preparar 6 soluciones estándar de Gabapentina y 3 soluciones estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina con una concentración final de 0.04 mg/mL de la siguiente forma:



1. Preparar 6 soluciones muestra de Gabapentina cápsula con una concentración final de 20 mg/ mL



2. Determinar el área de cada solución alternando estándar y muestra en el siguiente orden:



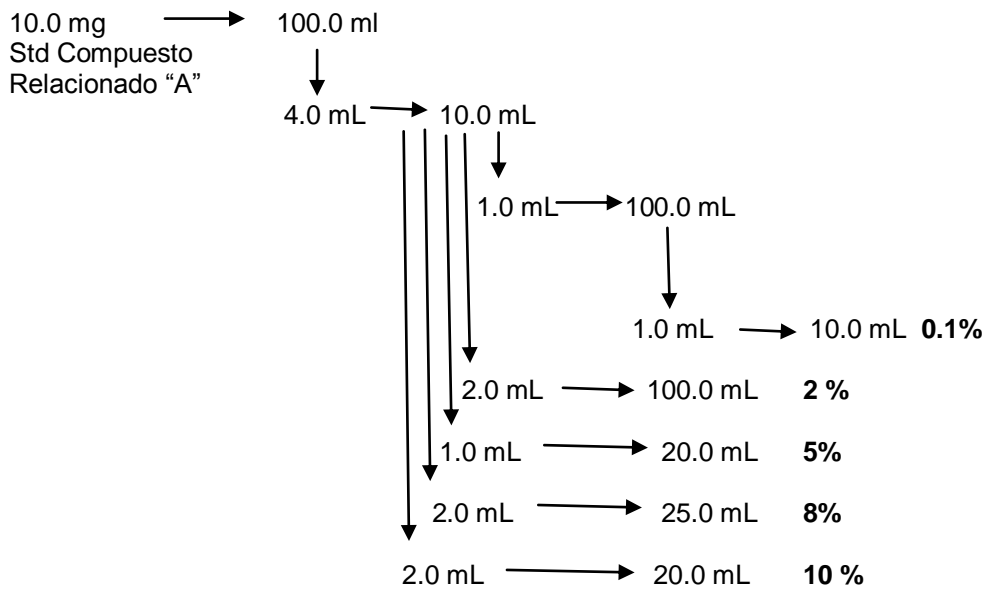
Hasta terminar con la secuencia.

Límite de Cuantificación

1. Preparar 5 viales con solución blanco (diluyente)



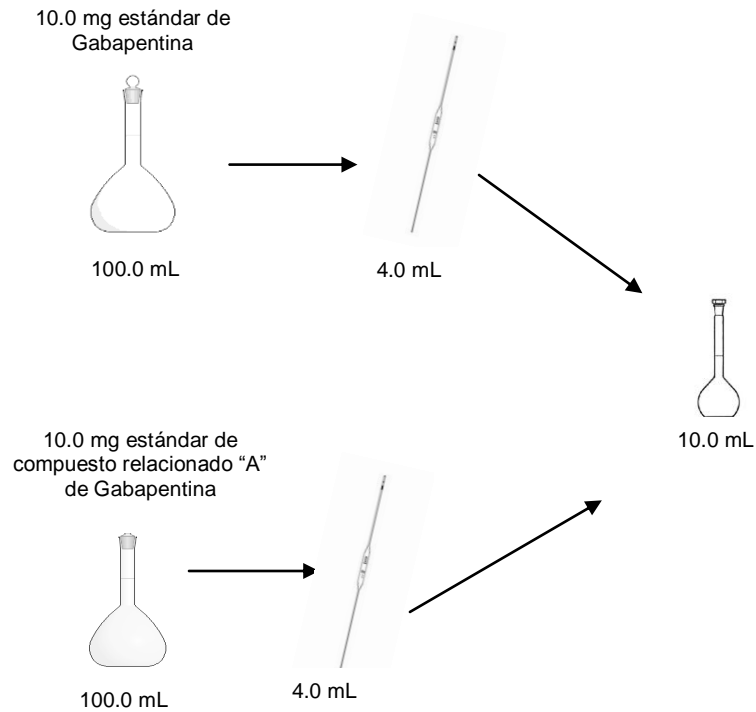
2. Preparar soluciones muestras de la siguiente manera:



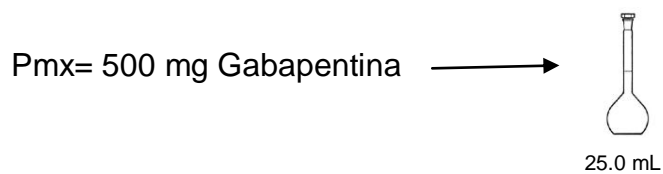
3. determinar el área de cada solución empezando con un blanco y luego una muestra hasta terminar la secuencia.

Especificidad

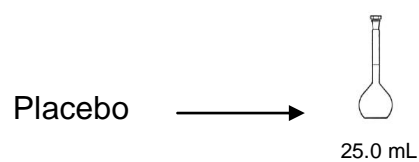
1. Preparar 2 soluciones estándar de Gabapentina y 3 soluciones estándar de compuesto relacionado "A" de Gabapentina con una concentración final de 0.04 mg/mL de la siguiente forma:



2. Dos soluciones muestra de Gabapentina cápsula con una concentración final de 20.0 mg/ mL



3. Preparar dos soluciones de placebo



ANEXO N° 6

Tabla de fórmulas a utilizar para cálculos
de parámetros de desempeño (5)(11)(20)

Tabla N° 46. Fórmulas para cálculos

	n= número de recobros.
Media aritmética	$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$
Desviación estándar	$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$
Coefficiente de variación (RSD)	$CV = \frac{s}{\bar{y}} \times 100$
Intervalo de confianza	$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0,975,n-1} \frac{s}{\sqrt{n}}$
Coefficiente de determinación	$r^2 = \frac{[n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[n(\sum x^2) - (\sum x)^2][n(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$
Coefficiente de correlación	$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$
Concentración real de estándar	$c = \frac{\text{peso de estándar (mg)} \times \left(\frac{\text{pureza}}{100}\right)}{\text{FD estándar}}$
Factor de respuesta de estándar	$FR = \frac{\text{conc. real de estándar}}{\text{area de estándar}}$

Tabla N° 46. (continuación)

Concentración de muestra	$C_{mx} = \frac{\text{area} \times \overline{FR} \times FD_{mx} \times \overline{P}_{20}}{P_{mx}}$
Porcentaje sobre lo rotulado	$\% S/R = C_{mx} \times 100 / \text{rotula}$
Concentración de muestra en Recobro (exactitud)	$C_{mx} = \text{área} \times \overline{FR} \times FD_{mx}$
Porcentaje de Recobro	$\% \text{ recobro} = C_{mx} \times 100 / \text{cantidad de analito agregada}$
Porcentaje de impureza presente en cada cápsula de Gabapentina	$\% \text{ impureza} = (r_u / r_s) \times (c_s / c_u) \times 100$

FR = factor de respuesta de estándar

FD = factor de dilución

P₂₀ = peso promedio de 20 cápsulas

P_{mx} = peso muestra

r_u = respuesta del pico de compuesto relacionado A de Gabapentina de la solución muestra

r_s = respuesta del pico de compuesto relacionado A de Gabapentina de la solución estándar



C_s = concentración de ER compuesto Relacionado A de Gabapentina USP en la solución estándar (mg/mL)

C_u = concentración nominal de Gabapentina en la solución muestra (mg/mL)

ANEXO N° 7

Formato del Informe de verificación para el análisis del Compuesto
Relacionado "A" de Gabapentina.

**Formato del Informe de verificación para el análisis del Compuesto
Relacionado “A” de Gabapentina.**

	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	Página 1 de 2

A. OBJETIVO

Se consideraran los parámetros de calidad para evaluar el Método de determinación del Compuesto Relacionado A en las cápsulas de Gabapentina 300 mg.

B. ALCANCE



Determinación y Cuantificación del Compuesto Relacionado A de Gabapentina en cápsulas de Gabapentina 300 mg por Cromatografía Líquida de Alta presión a una longitud de onda de 210 nm empleando el método de la Farmacopea de los Estados Unidos USP 38.

C. RESPONSABLES

Jefe de Laboratorio y Químicos Analistas

D. EQUIPOS INVOLUCRADOS EN LA VERIFICACION

Serán mencionarán los equipos empleados en el proceso de verificación (pH metros, balanzas, cromatógrafos, etc.), y documentará que están convenientemente calibrados, referenciando estos datos en el informe de verificación.

	INFORME DE VERIFICACION PARA COMPUESTO RELACIONADO "A" DE GABAPETINA CÁPSULA 300mg	
Código: IVG1	Revisión: 0	Página 2 de 2

E. PARAMETROS DE DESEMPEÑO ESTUDIADOS

Se elaborará una tabla que permita visualizar los parámetros de desempeño evaluados, como se realizó la determinación de cada parámetro y que se reportara para la evaluación final.

F. RESULTADOS DE LA VERIFICACION DEL MÉTODO ANALITICO

Se elaborará una tabla que permita visualizar cada parámetro de desempeño evaluado, la especificación de cada uno de ellos, el resultado obtenido y el dictamen de si cumple o no cumple el parámetro de desempeño evaluado.

G. CONCLUSIONES Y DICTAMEN DE LA VERIFICACION DEL METODO ANALITICO.

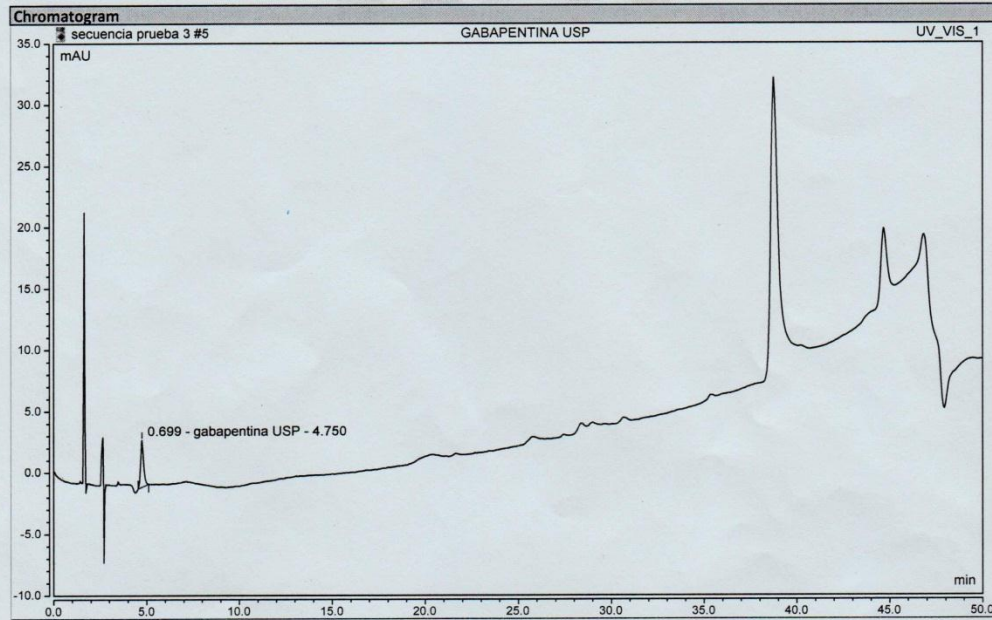
Basado en los resultados obtenidos, se concluirá sobre el método analítico evaluado y se emitirá un dictamen.

ANEXO N° 8

Cromatograma del estándar de Gabapentina para la prueba de ensayo de Gabapentina cápsula.

Chromatogram and Results

Injection Details		
Injection Name:	GABAPENTINA USP	Run Time (min): 50.00
Vial Number:	RA5	Injection Volume: 50.00
Injection Type:	Calibration Standard	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Wavelength: 210.0
Instrument Method:	gabapentina (impurezas orgánicas)	Bandwidth: 2
Processing Method:		Dilution Factor: 1.0000
		Sample Weight: 1.0000



No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Height mAU UV_VIS_1
		gabapentina USP	gabapentina USP	gabapentina USP
5	GABAPENTINA USP	4.750	0.699	3.803

Figura N° 17 Cromatograma del estándar de Gabapentina

ANEXO N° 9

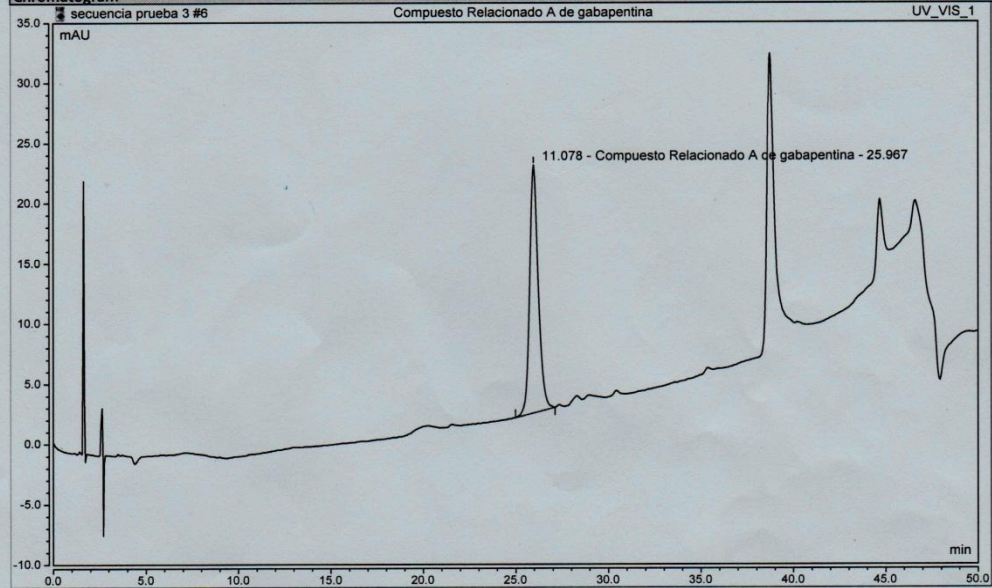
Cromatograma del estándar del Compuesto Relacionado "A" de
Gabapentina para la determinación de la impureza

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	Compuesto Relacionado A de gabapentina	Run Time (min):	50.00
Vial Number:	RA6	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	Calibration Standard	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (impurezas orgánicas)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000

Chromatogram



No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Height mAU UV_VIS_1
		Compuesto Relacionado A de gabapentina	Compuesto Relacionado A de gabapentina	Compuesto Relacionado A de gabapentina
6	Compuesto Relacionado A de gabapentina	25.967	11.078	20.582

Figura N^o 18 Cromatograma del estándar del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina

ANEXO N° 10

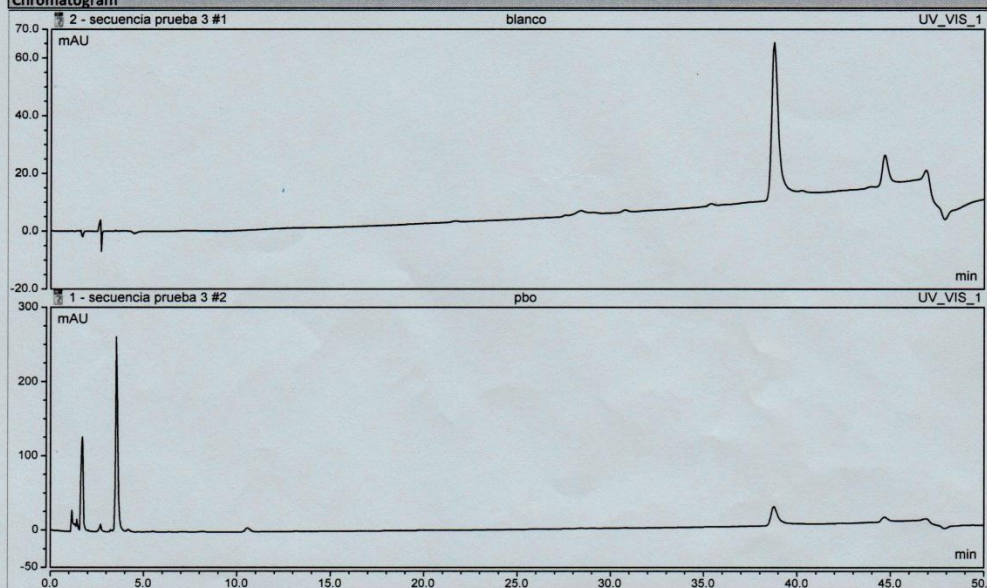
Cromatograma del blanco y placebo para prueba de ensayo de
Gabapentina

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	blanco	Run Time (min):	50.00
Vial Number:	RA1	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (impurezas orgánicas)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000

Chromatogram



No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Height mAU UV_VIS_1
		gabapentina	gabapentina	gabapentina
1	blanco	n.a.	n.a.	n.a.
2	pbo	n.a.	n.a.	n.a.

Figura N° 19 Cromatograma del blanco y placebo

ANEXO N° 11

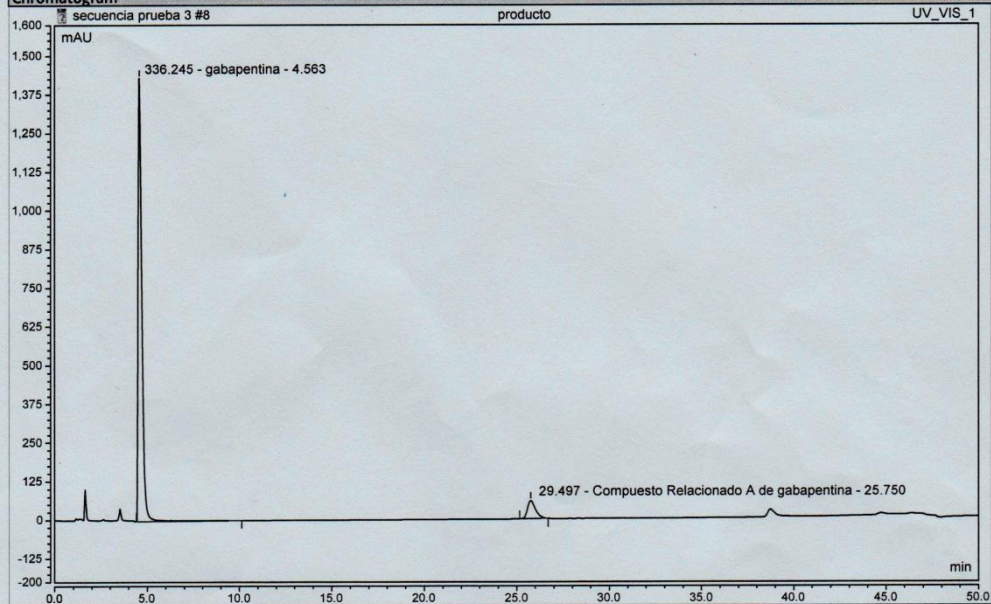
Cromatograma del producto farmacéutico Gabapentina cápsula

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	producto	Run Time (min):	50.00
Vial Number:	RA8	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (Impurezas orgánicas)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000

Chromatogram



No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Height mAU UV_VIS_1
		Compuesto Relacionado A de gabapentina	Compuesto Relacionado A de gabapentina	Compuesto Relacionado A de gabapentina
8	producto	25.750	29.497	58.874

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Height mAU UV_VIS_1
		gabapentina	gabapentina	gabapentina
8	producto	4.563	336.245	1430.883

Figura N° 20 Cromatograma del producto farmacéutico Gabapentina cápsula

ANEXO N° 12

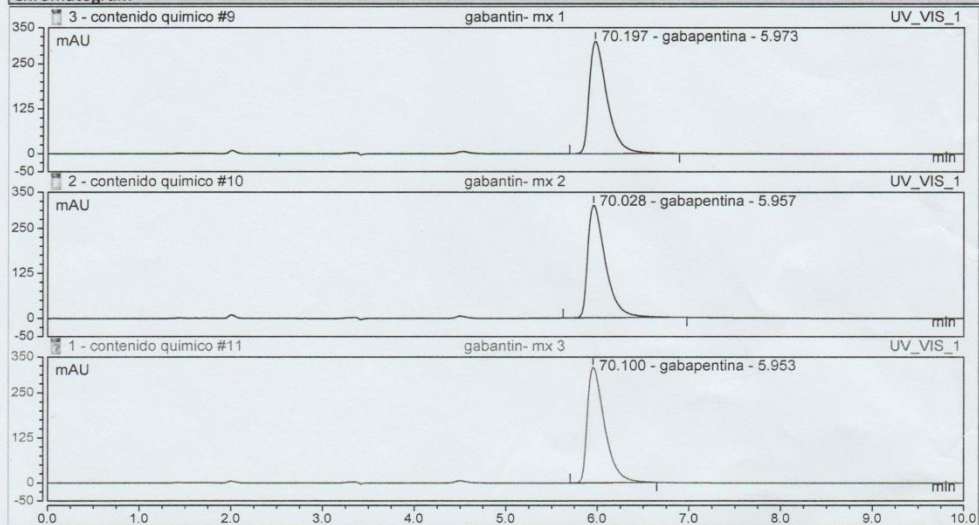
Cromatograma de las 3 muestras de Gabapentina cápsula para la prueba de ensayo de Gabapentina.

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	muestras	Run Time (min):	10.00
Vial Number:	RA5	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (activo)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (activo)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000

Chromatogram



Integration Results

No.	Injection Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Amount	% S/R
		UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina
9	gabantin- mx 1	5.973	70.197	290.1550	96.7183

No.	Injection Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Amount	% S/R
		UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina
10	gabantin- mx 2	5.957	70.028	289.2424	96.4852

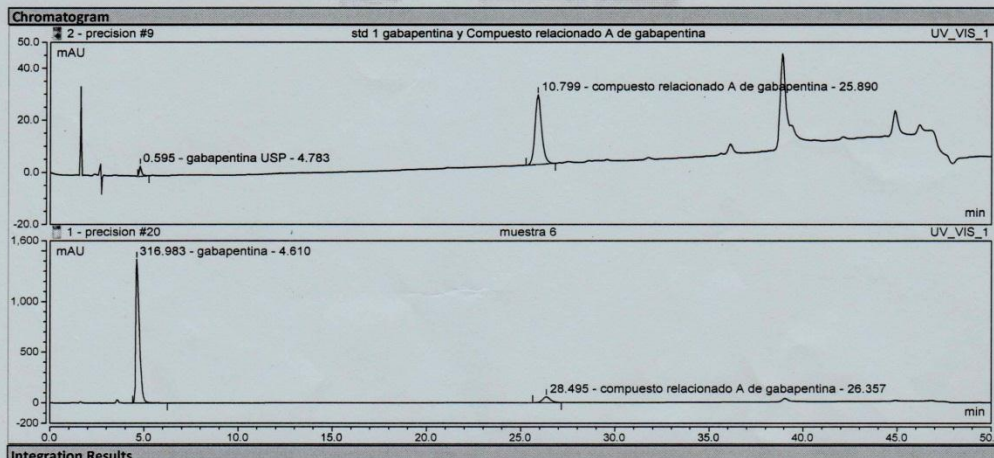
No.	Injection Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Amount	% S/R
		UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina	UV_VIS_1 gabapentina
11	gabantin- mx 3	5.953	70.100	289.9663	96.6554

Figura N° 21 Cromatograma del ensayo de Gabapentina de Lote 1

ANEXO N° 13

Cromatograma de la precisión del método del Compuesto Relacionado
"A" de Gabapentina cápsula.

Chromatogram and Results					
Injection Details					
Injection Name:	st 1, muestra 1	Run Time (min):	50.00		
Vial Number:	RA3	Injection Volume:	50.00		
Injection Type:	Calibration Standard	Channel:	UV_VIS_1		
Calibration Level:		Wavelength:	210.0		
Instrument Method:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2		
Processing Method:	gabapentina (Impurezas orgánicas)	Dilution Factor:	1.0000		
		Sample Weight:	1.0000		

**Integration Results**

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1 gabapentina USP	Area mAU*min UV_VIS_1 gabapentina USP	Asymmetry (EP) UV_VIS_1 gabapentina USP	Plates (EP) UV_VIS_1 gabapentina USP
9	std 1 gabapentina y Compuesto relacionado A de gabapentina	4.783	0.595	1.55	7391

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Area mAU*min UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Asymmetry (EP) UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Plates (EP) UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina
9	std 1 gabapentina y Compuesto relacionado A de gabapentina	25.890	10.799	1.21	29481

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1 gabapentina	Area mAU*min UV_VIS_1 gabapentina	Asymmetry (EP) UV_VIS_1 gabapentina	Plates (EP) UV_VIS_1 gabapentina
10	muestra 1	4.590	316.318	2.49	2885

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Area mAU*min UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Asymmetry (EP) UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina	Plates (EP) UV_VIS_1 compuesto relacionado A de gabapentina
10	muestra 1	25.850	29.926	1.30	28136

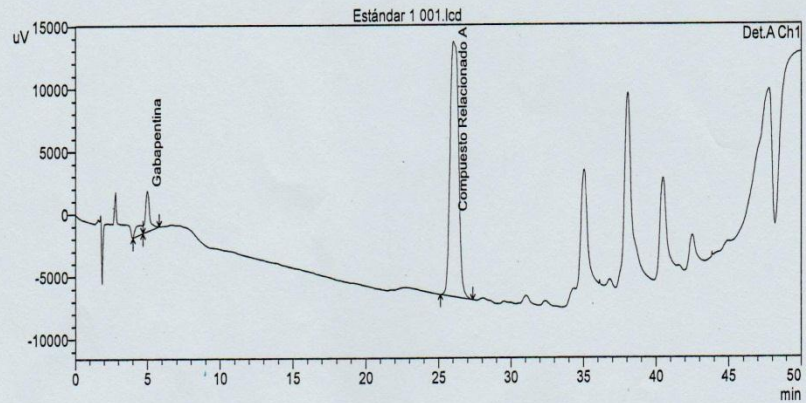
Figura N° 22 Cromatograma de la precisión del método del compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

ANEXO N° 14

Cromatograma del estándar y muestra de la Precisión Intermedia del
Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

==== Shimadzu LCsolution Summary Report ====

<Chromatogram>



<Summary Report>

<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Gabapentina

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.
Estándar 1 001.lcd	Estándar 1	STD-0001	4.990	67120	3280	1.000
Average			4.990	67120	3280	1.000
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			4.990	67120	3280	1.000
Minimum			4.990	67120	3280	1.000
Standard Deviation			0.000	0	0	0.000

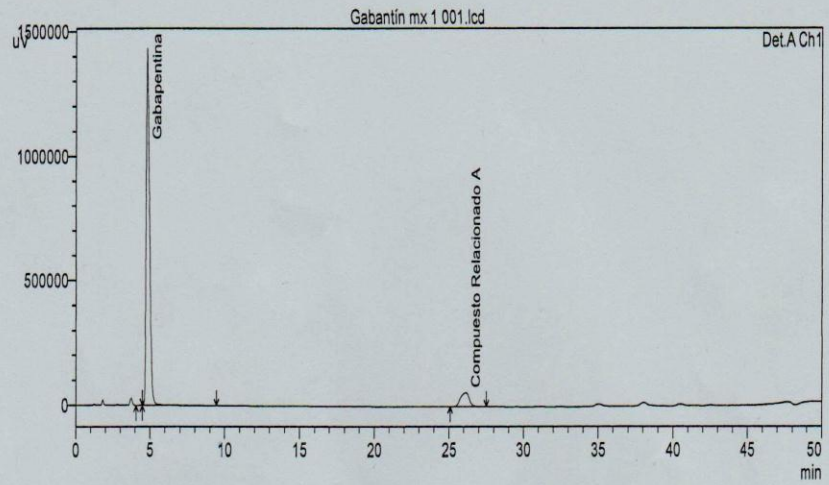
ID#2 Compound Name: Compuesto Relacionado A

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.
Estándar 1 001.lcd	Estándar 1	STD-0001	26.014	833493	20359	1.000
Average			26.014	833493	20359	1.000
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			26.014	833493	20359	1.000
Minimum			26.014	833493	20359	1.000
Standard Deviation			0.000	0	0	0.000

Figura N° 23 Cromatograma del estándar de la Precisión Intermedia del compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

==== Shimadzu LCsolution Summary Report ====

<Chromatogram>



<Summary Report>

<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Gabapentina

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.
Gabantín mx 1 001.lcd	Gabantín mx 1 UNK-0001		4.798	22540571	1433396	335.827
Average			4.798	22540571	1433396	335.827
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			4.798	22540571	1433396	335.827
Minimum			4.798	22540571	1433396	335.827
Standard Deviation			0.000	0	0	0.000

ID#2 Compound Name: Compuesto Relacionado A

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.
Gabantín mx 1 001.lcd	Gabantín mx 1 UNK-0001		26.132	2289029	56558	2.746
Average			26.132	2289029	56558	2.746
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			26.132	2289029	56558	2.746
Minimum			26.132	2289029	56558	2.746
Standard Deviation			0.000	0	0	0.000

Figura N° 24 Cromatograma de la muestra de la Precisión Intermedia de Gabapentina cápsula.

ANEXO N° 15

Cromatograma de la exactitud (Recobro) del Compuesto Relacionado "A"
de Gabapentina cápsula.

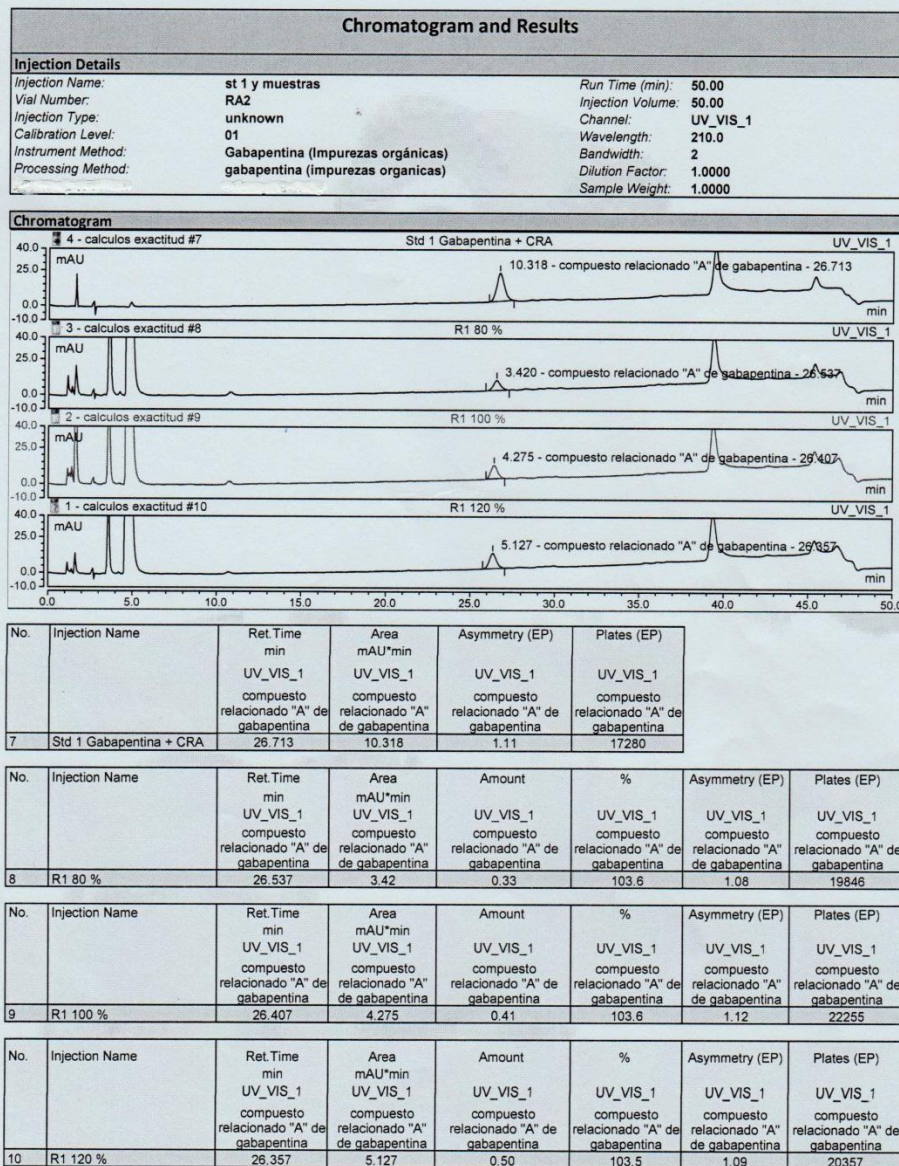
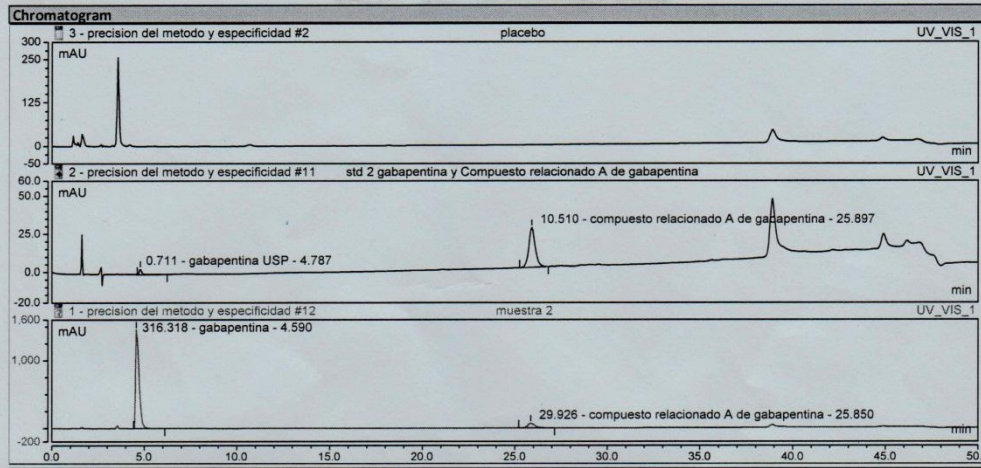


Figura N^o 25 Cromatograma de la exactitud (Recobro) del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula.

ANEXO N° 16

Cromatograma de la Especificidad del Compuesto Relacionado "A" de
Gabapentina cápsula.

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	especificidad	Run Time (min):	50.00
Vial Number:	RA6	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (impurezas orgánicas)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000



Integration Results

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Asymmetry (EP) UV_VIS_1	Plates (EP) UV_VIS_1
	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina
11	std 2 gabapentina y Compuesto relacionado A de gabapentina	25.897	10.510	1.15	29991

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Asymmetry (EP) UV_VIS_1	Plates (EP) UV_VIS_1
	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina
2	placebo	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1	Asymmetry (EP) UV_VIS_1	Plates (EP) UV_VIS_1
	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina
12	muestra 2	25.85	29.926	1.3	28136

Figura N° 26 Cromatograma de la Especificidad del Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula

ANEXO N° 17

Cromatograma del Límite de cuantificación blancos y muestras del
Compuesto Relacionado "A" de Gabapentina cápsula

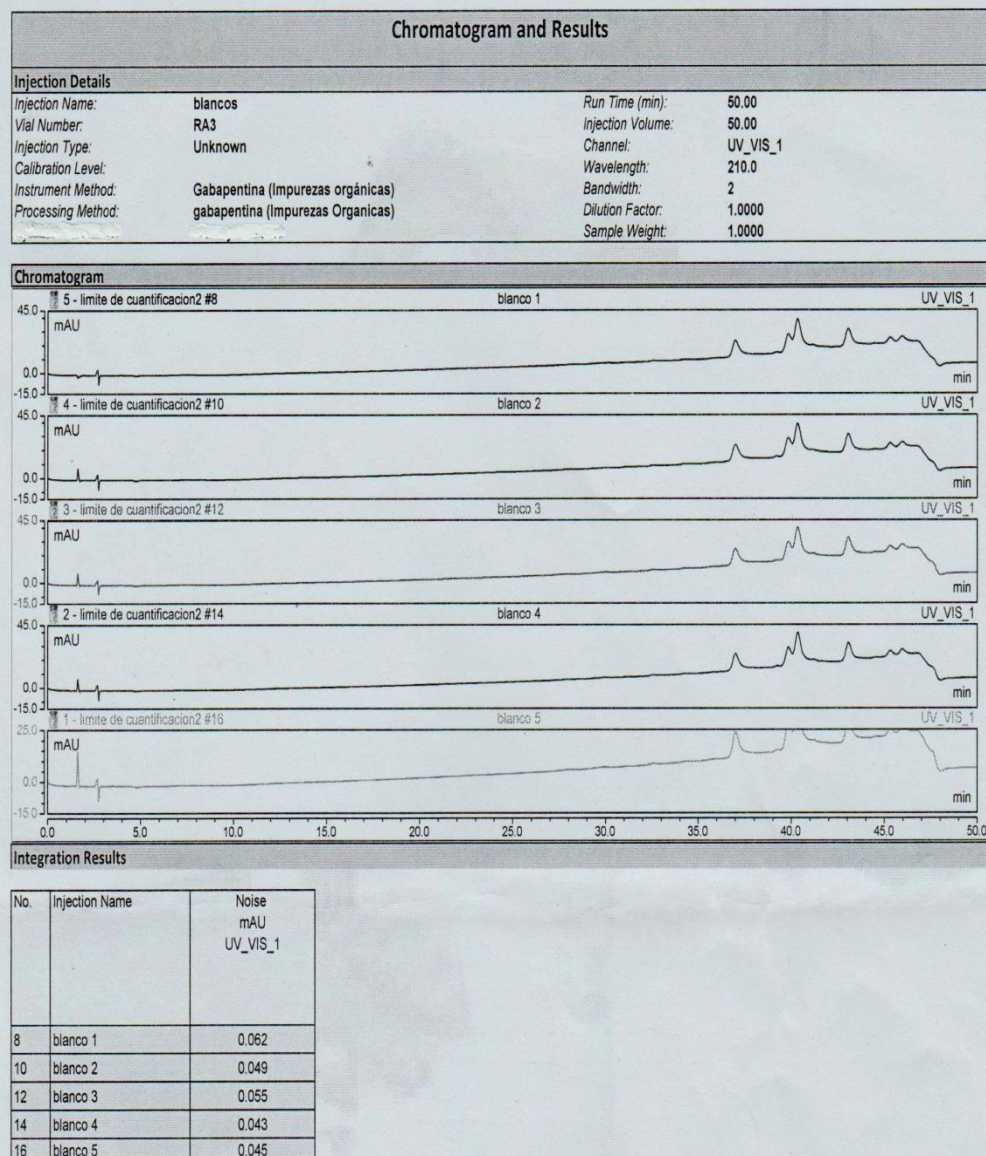
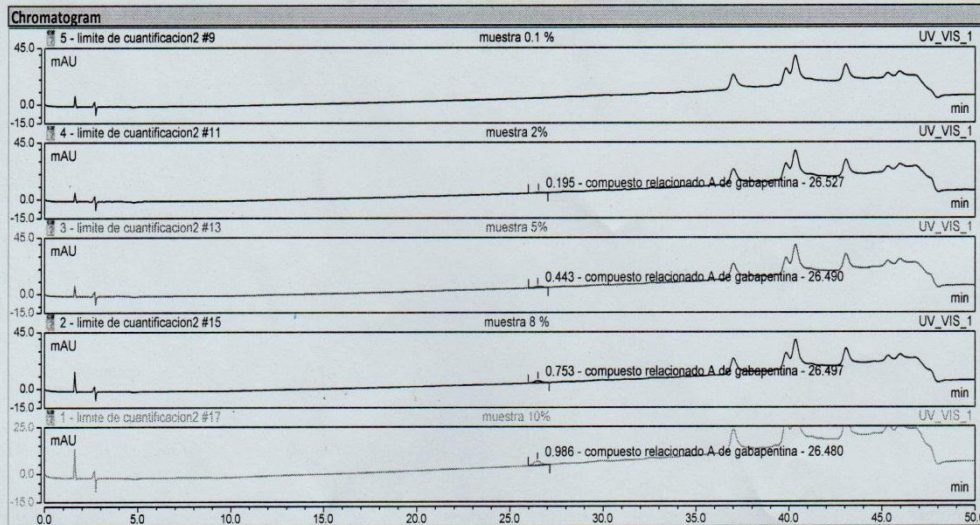


Figura N° 27 Cromatograma del Límite de cuantificación de los blancos
(diluyente)

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	muestras	Run Time (min):	50.00
Vial Number:	RA4	Injection Volume:	50.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	210.0
Instrument Method:	Gabapentina (Impurezas orgánicas)	Bandwidth:	2
Processing Method:	gabapentina (Impurezas Organicas)	Dilution Factor:	1.0000
		Sample Weight:	1.0000



Integration Results

No.	Injection Name	Ret. Time min UV_VIS_1	Area mAU*min UV_VIS_1
		compuesto relacionado A de gabapentina	compuesto relacionado A de gabapentina
9	muestra 0.1 %	n.a.	n.a.
11	muestra 2%	26.527	0.195
13	muestra 5%	26.490	0.443
15	muestra 8 %	26.497	0.753
17	muestra 10%	26.480	0.986

Figura N° 28 Cromatograma del Límite de cuantificación (muestras del 0.1% -10 %)

ANEXO N° 18

Equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) marca Thermo Scientific.



Figura N° 29 Equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) marca Thermo Scientific.