

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**“Validación de Metodología Analítica para la Cuantificación
De Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg.”**

EMMA JUDITH HEER ESCOBAR

QUÍMICA FARMACÉUTICA

Guatemala, Noviembre de 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**“Validación de Metodología Analítica para la Cuantificación
De Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg.”**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

EMMA JUDITH HEER ESCOBAR

PARA OPTAR EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA

Guatemala, Noviembre de 2009

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.

Decano

Lic Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.

Secretario

Licda. Lilian Raquel Irving Antillón, M.A.

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

Vocal III

Br. María Estuardo Guerra Valle

Vocal IV

Br. Berta Alejandra Morales Mérida

Vocal V

DEDICATORIA A:

DIOS:

Por darme todo lo que tengo y todo lo que soy. Porque he logrado todos mis objetivos debido a eres mi guía y mi fuerza.

MIS PADRES

A mi Papi Carlos Heer por todo su amor, sus consejos, por consentirme y darme todo lo que tengo. A mi Mami Judith Escobar por todos sus cuidados, por levantarse todas las mañanas, desde que tengo memoria, por consentirme y por ser tan valiente. A los dos por su amor, comprensión y por sus enseñanzas.

MIS HERMANAS

Andrea y Karla por su ayuda incondicional. Espero que luchen y alcancen sus sueños solo ustedes marcan su camino. Y a mi Estrellita por esperarme todos los días con tanto amor y ternura.

MIS ABUELITOS

Por todos sus consejos y amor. A mi Mamaíta por quererme, cuidarme, por su fuerza y valor en todo lo que hizo, por ser mi ejemplo. A mi Abuela Emma por estar pendiente y quererme siempre. A mis abuelitos por ser ejemplo de valores.

MIS TIOS

A todos por sus consejos, por apoyarnos, estar pendientes y querernos siempre. De todos mi respeto y admiración.

MIS AMIGOS

Por su amistad, por escucharme, por su cariño incondicional, por aguantarme, por estar en mis alegrías, enojos, tristezas y por compartir tantos momentos a mi lado. Los amo: Vicky, Alejandra, Wilder, Juan Luis, Omar, Herbert, Erick, Alma, Paula, Éfego, Julio, Estuardo, Don Hugo.

AGRADECIMIENTOS A:

Dios:	Por ponerme en el momento y lugar indicado. Por nunca abandonarme y guiar mis pasos y por tantas bendiciones.
Donovan Werke	Por toda la ayuda en la realización de este trabajo de investigación.
Asesoras	Licda. Lucky y Licda. Marilyn por todo el apoyo, toda su paciencia y por sus enseñanzas.
Amigos	A don Hugo, Paula, Jorge David, Alma, Gaby, por enseñarme todo lo que ahora sé, por su paciencia, por aguantarme y sobre todo por su amistad.
Licda. Claudia Cigui	Por su apoyo y por motivarme durante este tiempo. Mi respeto y admiración.
Lic. Jenner Juárez	Por darme la oportunidad de trabajar y por todo el apoyo durante este tiempo.
Compañeros	A todos los que me ayudaron durante toda mi carrera y a todos los que ahora me ayudan en mi nueva meta, gracias por todo; sobre todo su amistad. Velma, Elvira, Iliá, Laura, Estuardo G., Estuardo L, Stuardo, Axel, Aldo, Marco, Pride.
Luis	Porque desde el primer día que llegué a la Biblioteca me ha brindado su amistad y sus enseñanzas y la información que siempre le pedía, gracias.

A todos aquellos que me han dado una palabra de aliento, algún consejo, alguna enseñanza, me han escuchado o simplemente me dieron una sonrisa.

¡GRACIAS A TODOS!

ÍNDICE

	Pág.
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3-4
4. Justificación	5
5. Objetivos	6
6. Hipótesis	7
7. Materiales y Métodos	8-13
8. Resultados	14-17
9. Discusión de Resultados	18-19
10. Conclusiones	20
11. Recomendaciones	21
12. Bibliografía	22-23
13. Anexos	24

1. Resumen

Las Buenas prácticas de Laboratorio y las Buenas Prácticas de Manufactura requieren que los métodos de análisis sean validados con el fin de verificar que el sistema es capaz de identificar y cuantificar sustancias en los límites indicados en las especificaciones^{5, 10}.

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de evaluar los parámetros de especificidad, exactitud, precisión, linealidad e intervalo en el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, propuesto para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg, determinando así su validez para ser utilizado en análisis de control de calidad.

Se consideró como objetivos fundamentales en este trabajo de investigación proponer un método analítico para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg; el cual al ser validado se concluyó que es exacto, preciso, específico y lineal. Con esta labor se desarrolló uno de los aspectos involucrados en el sistema de gestión de calidad de la Industria Farmacéutica y se obtuvo un método que pudiera utilizarse como herramienta de análisis.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un tratamiento estadístico para evaluar cada uno de los parámetros de desempeño mencionados, el cual incluyó cálculos de desviación estándar, coeficiente de variación, coeficiente de determinación, coeficiente de correlación, intervalo de confianza y regresión lineal.

2. Introducción

La validación es parte del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Laboratorio, en Guatemala constituye una exigencia legal en el marco de los acuerdos centroamericanos⁵. Por esta razón es un requisito validar los métodos utilizados para la cuantificación de medicamentos en la industria farmacéutica.

La Sibutramina Clorhidrato Monohidrato es un principio activo aprobado por la FDA para ser usado en el tratamiento de formas severas de obesidad. Actúa a nivel del sistema nervioso central inhibiendo la recaptación de noradrenalina, serotonina y dopamina produciendo un efecto saciante del apetito¹⁻⁴.

El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 "Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos", indica que las directrices de dicho reglamento deben aplicarse a todos los métodos analíticos no oficiales y oficiales utilizados para el control de calidad de medicamentos. El método propuesto en el presente trabajo para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato tabletas no se incluye dentro de las monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos por lo que la validación del mismo aplica ^{5, 10}.

El objetivo principal del presente trabajo fue validar un método para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg mediante la evaluación de los parámetros de desempeño, exactitud, precisión, especificidad, linealidad e intervalo.

Como todo medicamento, la cuantificación de los componentes activos es un atributo de calidad crítico, por lo que resultó de interés validar el método analítico de cuantificación propuesto, a fin de demostrar su confiabilidad.

3. Antecedentes

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) edición 2007, indica aspectos de la validación de métodos analíticos fisicoquímicos, detallando los parámetros de desempeño que aplican por categoría analítica, la manera de evaluar y los criterios de aceptación¹⁰.

En Guatemala, el Reglamento Técnico Centroamericano, "Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos" indica los diferentes parámetros de desempeño que deben evaluarse para cada categoría analítica⁵.

En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala se encuentran varios trabajos de tesis referentes a la validación de metodologías analíticas para cuantificar diferentes principios activos, entre los que se pueden mencionar:

Velásquez Valdez, Ana M. en el 2002 en su tesis Ad gradum titulada "Validación de Metodología Analítica para la cuantificación de fenilpropanolamina en comprimidos utilizados como antigripales", concluyó que el método propuesto para la cuantificación de fenilpropanolamina en tabletas antigripales asociada al acetaminofén y clorfeniramina no es confiable por mostrar resultados no reproducibles y carecer de linealidad, además el acetaminofén y la clorfeniramina interfieren con la lectura de la fenilpropanolamina¹¹.

Valenzuela Mejía, Ana C. en 1999 en su tesis Ad gradum titulada "Validación de Método Espectrofotométrico para Cuantificación de Metronidazol, Mebendazol, Albendazol y Tinidazol (Tabletas y Suspensión)", determinó que el método espectrofotométrico con luz ultravioleta es exacto, lineal y confiable para cuantificar Metronidazol, Mebendazol, Albendazol y Tinidazol, en tabletas y suspensión, por lo que representa una alternativa en cuanto al control de calidad de los laboratorios de fabricación de estos compuestos¹².

Lainfiesta Anleu, Rossana en el 2000 en su tesis Ad gradum titulada "Validación del Método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la Cuantificación de Ibuprofeno en Suspensión", demostró que el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución propuesto, cumple con los parámetros establecidos para la validación de métodos según la USP XXIII, por lo que los resultados obtenidos son confiables¹³.

Toledo Chávez, Bárbara J. en el 2000 en su tesis Ad gradum titulada "Validación de Método Espectrofotométrico como Metodología Alternativa, para la Medición de Alcohol en Sangre", concluyó que este método no posee la linealidad necesaria para ser utilizado como método alternativo al de Cromatografía de Gases con detector de llama FID, además no es preciso, exacto ni reproducible ¹⁴.

4. Justificación

La validación de los métodos de cuantificación es una de las exigencias de las Buenas Prácticas de Manufactura y las Buenas Prácticas de Laboratorio que deben cumplirse en la Industria Farmacéutica para garantizar que la evaluación de la calidad de los productos se realiza dentro de un sistema de calidad confiable.

El desarrollo del presente trabajo permitió determinar si la metodología propuesta es confiable para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg y por lo tanto aplicable por un laboratorio de control de calidad.

5. Objetivos

5.1. *Objetivo General*

- 5.1.1 Proponer un método analítico validado para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg.

5.2. *Objetivos Específicos*

- 5.2.1. Establecer si el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución propuesto provee resultados confiables.
- 5.2.2 Determinar si el método propuesto es reproducible siempre que se utilicen las mismas condiciones en el sistema.
- 5.2.3 Demostrar que el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas cumple con los parámetros de desempeño analítico: precisión, exactitud, especificidad, linealidad e intervalo.
- 5.2.4 Desarrollar parte del sistema de gestión de calidad de la Industria Farmacéutica.
- 5.2.5 Evaluar estadísticamente los parámetros de desempeño analítico y con base en esto determinar la confiabilidad de dicho método.

6. Hipótesis

El método propuesto por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg, proporciona resultados que cumplen con los parámetros de desempeño analítico de especificidad, exactitud, precisión, linealidad e intervalo requeridos para la validación de un método analítico.

7. Materiales y Métodos

7.1. *Universo de trabajo*

7.1.1 Muestra analítica a diferentes concentraciones.

7.1.2 Método de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg.

7.2. *Medios:*

7.2.1 Recursos Humanos:

7.2.1.1 Bachiller Emma Judith Heer Escobar (Tesisista)

7.2.1.2 Licenciada Lucrecia Martínez de Haase (Asesora)

7.2.1.3 Licenciada Marilyn Castillo (Coasesora)

7.2.2 Recursos Institucionales:

7.2.2.1 Laboratorio Donovan Werke

7.2.2.2 Biblioteca Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

7.2.2.3 Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas -IIQB-

7.2.3. Recursos Materiales:

7.2.3.1 Aparato: HPLC Merck-Hitachi²²

Columna: L7: 125 mm * 4 mm (Anexo Pp. 24)

Detector: UV – 227 nm

Flujo: 1 mL/min

Temperatura de trabajo: Ambiente

Volumen de Inyección: 20 µL

7.2.3.2 Computadora

7.2.3.3 Material de Oficina

7.2.3.4 Balanza Analítica

7.2.3.5 Espátula

7.2.3.6 Sistema de Filtración de Solventes

7.2.3.7 Sistema de Filtración de Muestras²¹

7.2.3.8 Sistema de Desgasificación de Solventes¹⁹

7.2.3.9 Reactivos:

- Agua Grado HPLC
- Metanol Grado HPLC
- Fosfato Monobásico de Potasio anhidro grado reactivo al 100 %
- Sibutramina Clorhidrato Monohidrato Estándar de Referencia Interno y Estándar
- Ácido Fosfórico al 85 %
- Ácido Clorhídico 37 %.
- Agua Purificada ²⁵

7.2.3.10 Agitador Magnético

7.2.3.11 Cristalería

- Balones Volumétricos
- Pipetas Volumétricas
- Beakers

7.2.4 Procedimiento:

7.2.4.1. Método Analítico

- Se utilizó equipo calibrado y con mantenimiento vigente. (Anexo. Pp. 21 - 23)
- Para la preparación de la solución estándar se utilizó un estándar de referencia ¹⁸. (Anexo Pp. 52)
- Se utilizó reactivos vigentes.
- Se mantuvo control de temperatura y humedad adecuados.

a) Preparación de Buffer de Fosfatos pH 3.70 (250 ml):

1) Se pesó 1.824 g de Fosfato Monobásico de Potasio anhidro grado reactivo en un erlenmeyer de 500 mL.

2) Se agregó 200 mL de Agua grado HPLC y se disolvió mediante agitación mecánica.

3) Se Ajustó el pH a 3.7 ± 0.2 con Ácido Fosfórico al 85 %.

b) Preparación de Fase Móvil (Buffer de Fosfatos pH 3.7 ± 0.2 – Metanol) (40:60) (500 mL)

- 1) Se midió 300 mL de Metanol grado HPLC y se mezcló con los 200 mL de Buffer de fosfatos pH 3.7.
- 2) Se Mezcló las soluciones mediante agitación mecánica en el erlenmeyer.
- 3) Se filtró a través de una membrana de 47 mm de poro 0.45 µm y se desgasificó.

c) Preparación del Diluyente (Ácido Clorhídrico 0.1 N) (2000 mL)

- 1) Se midió 16.7 mL de Ácido Clorhídrico al 37 % y se agregó a 2000 mL y se agitó mecánicamente.

d) Preparación del Estándar:

- 1) Se pesó el equivalente de 30.0 mg de Sibutramina HCl monohidrato en un balón aforado de 50 mL, tomando en cuenta la potencia en base húmeda.
- 2) Se agregó aproximadamente 25 mL del diluyente y se colocó en baño de ultrasonido durante 5 minutos.
- 3) Se aforó con diluyente a temperatura ambiente.
- 4) Se transfirió una alícuota volumétrica de 1.0 mL en un balón aforado de 50 mL.
- 5) Se aforó con diluyente.
- 6) Se filtró a través de una membrana de poro 0.45 µm y se transfirió a un vial porta muestra, previamente identificado.

7.2.4.2. Análisis de parámetros de desempeño:

a) Preparación de Placebo

Se preparó el placebo, mezclando los excipientes que componen la fórmula excepto la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato.

b) Preparación de la muestra analítica

Se realizó la preparación de la muestra analítica a diferentes concentraciones, para esto se agregó en un balón aforado de 100 mL la misma cantidad de placebo y diferentes concentraciones de Sibutramina clorhidrato monohidrato por dilución.

Se agitó mecánicamente durante 5 minutos y se aforó las muestras analíticas con diluyente. Luego se tomó una alícuota volumétrica de 1.0 mL a un balón aforado de 10 mL y se aforó con diluyente. Luego se filtró a través de una membrana de poro de 0.22 µm.

7.2.4.3. Análisis en el equipo:

Se inyectó la fase móvil, el diluyente, la muestra analítica al 0 % (placebo), el estándar y las muestras de las distintas concentraciones en el equipo HPLC ^{19, 22}.

La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas: máximo 2 %.

Cálculos:

$$\text{mg de Sibutramina recuperados/ tab} = C_{\text{std}} * A_m / A_{\text{std}} * DM$$

En donde: C_{std} = Concentración del estándar en mg/mL

A_m = Área de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en la muestra

A_{std} = Área de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en el Estándar

DM = Diluciones de la muestra

7.2.5 Método Estadístico:

Los parámetros de desempeño evaluados para la validación del método fueron: precisión, exactitud, especificidad, linealidad e intervalo; se realizó el análisis estadístico de la siguiente forma:

7.2.5.1 Especificidad:

Se analizó por triplicado el placebo del producto y muestra del producto al 100 % como lo indica el método ¹⁶.

Criterios de Aceptación:

- a. La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito ¹⁶.

7.2.5.2 Linealidad:

Se preparó por triplicado muestras analíticas adicionando al placebo la cantidad de analito en concentración de 50, 75, 100, 125 y 150 %, para esto manteniendo constante la cantidad de placebo ^{15, 16}.

Se analizaron dichos placebos adicionados bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, el estándar ¹³.

Se elaboró una gráfica de la cantidad adicionada versus la cantidad recuperada, y se incluyó en ella la ecuación, la línea de ajuste y el coeficiente de determinación ¹⁶.

Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados. Se calculó la ecuación lineal, pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2) y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{y/x}$) ¹⁶.

Se calculó el porcentaje de recobro de cada muestra analítica, al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Se calculó el promedio aritmético (\bar{y}), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) ¹⁶.

Criterios de Aceptación:

- a. Cantidad adicionada vs. cantidad recuperada:
 - El coeficiente de determinación ≥ 0.98
 - El $CV_{y/x}$ del porcentaje de recobro, no debe ser mayor de 2.0 %.

- b. Porcentaje de Recuperación:
 - El promedio aritmético del % de recobro debe incluir el intervalo:
98.0 – 102.0 %
 - El CV del porcentaje de recuperación:
No debe ser mayor de 2.0 %¹⁶.

7.2.5.3 Exactitud:

Se preparó por triplicado muestras analíticas con concentración de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato de 50, 100 y 150 %^{15,16}.

Se realizó el análisis según el método analítico.

Se calculó el porcentaje de recobro de cada placebo analítico, al obtener el coeficiente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje¹⁶.

Se calculó el promedio aritmético, la desviación estándar, el coeficiente de variación para el porcentaje de recobro¹⁶.

Criterios de Aceptación:

a. El promedio aritmético del % de recuperación debe incluir el intervalo:

98.0 – 102.0 %

b. El CV del porcentaje de recuperación:

No debe ser mayor de 2.0 %¹⁶.

7.2.5.4 Precisión:

Se preparó por triplicado muestras analíticas con concentración de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato de 50, 100 y 150 %^{15,16}.

Se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación obtenidos para cada concentración¹⁶.

Criterios de Aceptación:

El Coeficiente de Variación debe ser menor o igual a 2.0 %¹⁶.

8. RESULTADOS

8.1 Especificidad:

En los cromatogramas del análisis del placebo, fase móvil y diluyente no se detectó ninguna señal al tiempo de retención resultante para el analito en la muestra al 100 % de la concentración.

Con los resultados obtenidos en el análisis de la metodología analítica, se concluye que el placebo, diluyente y fase móvil no presenta ningún tipo de señal que interfiera con la muestra. (Ver Anexo 13.5)

8.2 Linealidad e Intervalo

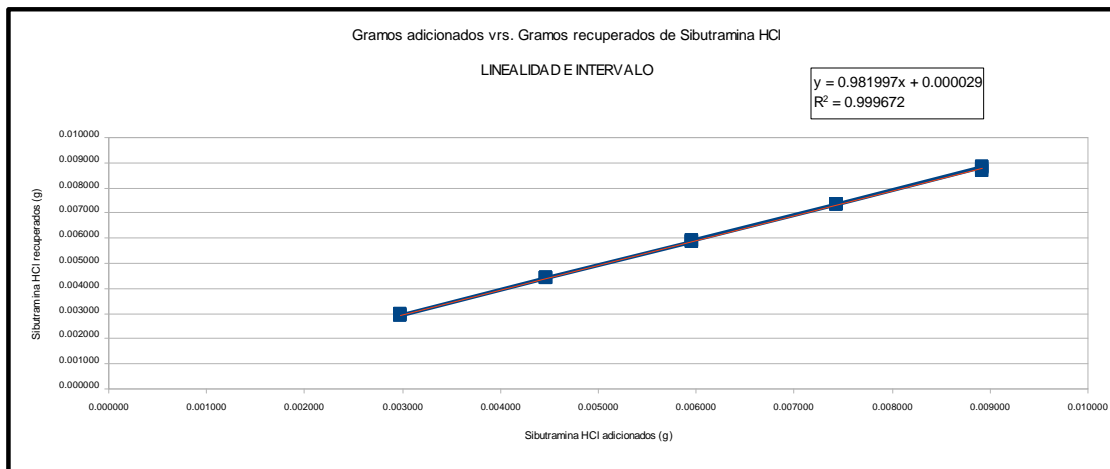
Se prepararon por triplicado muestras analíticas adicionando al placebo la cantidad de analito en concentración de 50, 75, 100, 125 y 150 %, para esto manteniendo constante la cantidad de placebo.

Al graficar la cantidad adicionada versus la cantidad recuperada se obtuvo la siguiente ecuación de la recta.

$$y = 0.981997x + 0.000029$$

$$r^2 = 0.999672$$

Gráfico No. 1: A continuación se observa que a mayor cantidad de gramos adicionados de Sibutramina HCl se obtiene una mayor cantidad de gramos recuperados de Sibutramina HCl, además se observa la linealidad del método.



Fuente: Anexo No. 13.4

Se obtuvieron los siguientes resultados para linealidad e intervalo, utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados.

Tabla No. 1: Resultados obtenidos de los cálculos estadísticos del análisis de linealidad de la metodología analítica evaluada.

Parámetro evaluado	Criterio de Aceptación	Resultado Obtenido	Cumple	
			Sí	No
El coeficiente de correlación	0.98 – 1.00	0.99983595	X	–
El coeficiente de determinación	≥ 0.98	0.99967193	X	–
El promedio aritmético del porcentaje de recobro	(98.0 – 102.0)%	98.73595257	X	–
El coeficiente de variación $CV_{y/x}$	No mayor del 2.0 %.	0.65974805	X	–
El coeficiente de variación del porcentaje de recobro	No mayor del 2.0 %	0.60977310	X	–

Nota: Se observa que todos los parámetros evaluados cumplieron.

*Los cálculos se adjuntan al presente informe.

8.3 Exactitud:

Se realizaron inyecciones por triplicado de muestras analíticas con concentración de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato de 50, 100 y 150 %.

Se calculó el porcentaje de recobro de cada placebo analítico, donde se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla No. 2: Resultados obtenidos de los cálculos estadísticos del análisis de exactitud de la metodología analítica evaluada.

Parámetro evaluado	Criterio de Aceptación	Resultado Obtenido	Cumple	
			Sí	No
El promedio aritmético del porcentaje de recobro	(98.0 – 102.0)%	98.62216736	X	–
El coeficiente de variación del porcentaje de recobro	No mayor del 2.0 %	0.70638776	X	–
El coeficiente de correlación de la cantidad recuperada vrs. la cantidad adicionada	0.9 – 1.1	0.98183247	X	–

Nota: Se observa que todos los parámetros evaluados cumplieron.

*Los cálculos se adjuntan al presente informe.

Como el número de datos es menor que 30, se obtiene el intervalo de confianza con un coeficiente de confianza de $(1 - \alpha)$ % para la media de los datos²⁶. Utilizando el intervalo de confianza del 95% para la media de los datos donde se obtiene un intervalo de rango de:

$$98.27 - 98.98$$

Que se encuentra dentro del criterio de aceptación de 98.0 a 102.0 % y por lo tanto el método es exacto.

8.4 Precisión:

Se utilizaron los datos de evaluación de la exactitud del método, es decir se realizaron por triplicado muestras analíticas con concentraciones de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato de 50, 100 y 150 % con tres muestras independientes para cada concentración. Se obtuvo el siguiente resultado:

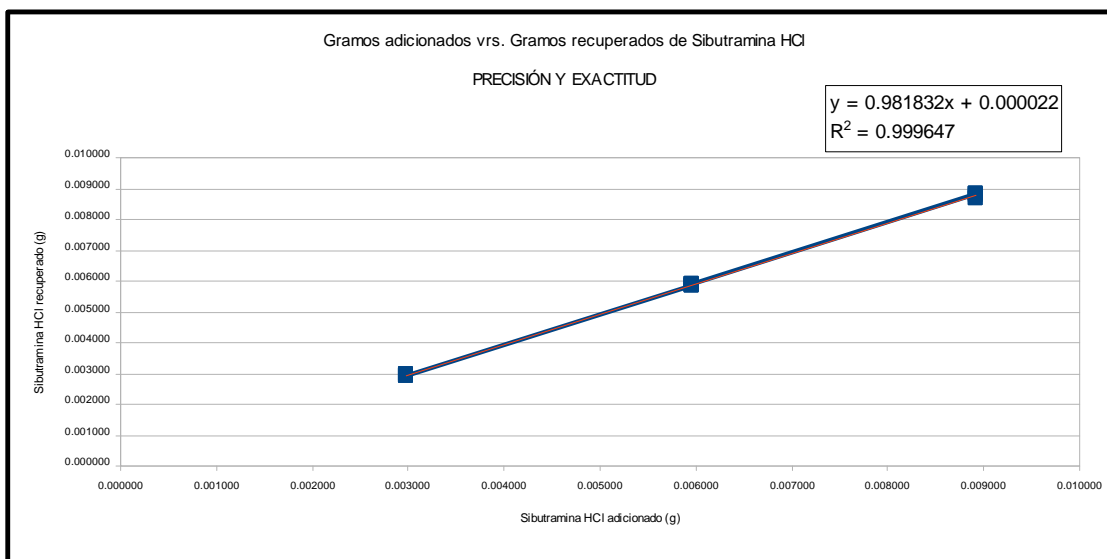
Tabla No. 3: Resultados obtenidos de los cálculos estadísticos del análisis de precisión de la metodología analítica evaluada.

Parámetro evaluado	Criterio de Aceptación	Resultado Obtenido	Cumple	
			Sí	No
Coefficiente de variación de regresión ($CV_{y/x}$)	No mayor del 2.0 %	0.81088020	X	–

Nota: Se observa que el parámetro cumple.

* Los cálculos se adjuntan al presente informe.

Gráfico No. 2: Al graficar las concentraciones de 50, 100 y 150 % en función de los gramos adicionados se observa que a mayor concentración de Sibutramina HCl adicionada se obtiene mayor cantidad de recuperación de Sibutramina. También se observa que el método es preciso ya que se obtuvo un coeficiente de variación de 0.81088020.



Fuente: Ver Anexo 13.4

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos demuestran que el método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución propuesto en este trabajo para cuantificar Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg es válido, ya que cumplió con todos los parámetros de desempeño para ser utilizado como un método analítico confiable, siempre y cuando se trabaje bajo las mismas condiciones especificadas en el mismo.

El método demostró ser específico para la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato debido a que en los resultados obtenidos del placebo, diluyente y fase móvil no presentaron ningún tipo de señal o respuesta que interfiriera con el analito. Esto indica que la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato puede ser identificado y cuantificado por dicho método. (Ver anexo No. 13.5, Fase Móvil, Diluyente y Placebo)

El parámetro de linealidad fue evaluado por triplicado en muestras con concentraciones del 0, 50, 75, 100, 125 y 150 % de Sibutramina Monohidrato Clorhidrato. Mediante el análisis de mínimos cuadrados se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9998 y un coeficiente de determinación, que establece que la Sibutramina Monohidrato Clorhidrato adicionada en gramos predice un 99.97% de la Sibutramina Monohidrato Clorhidrato que se recuperó en gramos. El haber obtenido un coeficiente de correlación muy cercano a 1 revela que existe una relación de dependencia entre la concentración del analito y predice la respuesta del método. Un promedio aritmético del porcentaje de recobro de 98.7359, un coeficiente de variación de 0.6597 y el coeficiente de variación del porcentaje de recobro de 0.6098, indican que el método permite obtener resultados en proporción al analito contenido con confiabilidad dentro del intervalo del 50 al 150%. (Ver Tabla No. 1)

Además el método también demostró ser exacto porque se obtuvo un promedio aritmético del porcentaje de recobro de 98.62 % del principio activo, que se encuentra dentro del intervalo establecido; con una desviación estándar de 0.6967 y un coeficiente de variación de 0.7064 %, evidencia que ofrece resultados confiables y por lo tanto poco desviados del dato real. El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor que el 2.0 %, el cual es el límite máximo para un método de cuantificación de principios activos en cromatografía, como el evaluado. (Ver Tabla No. 2)

Se tomó el criterio con un intervalo de confianza al 95 % donde se obtuvo un intervalo para la media de los datos de 98.27 - 98.98, por lo cual cumple el criterio de aceptación de 98.0 a 102.0 % y por lo tanto el método es exacto.

En la evaluación de la precisión el hecho que se hayan obtenido resultados con un Coeficiente de Variación de Regresión de 0.8109, es decir menor a 2.0 % demuestra que el método es reproducible. (Ver Tabla No. 3)

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método propuesto por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg es confiable ya que cumple con los parámetros de precisión, exactitud, especificidad, linealidad e intervalo requeridos por la USP edición 2007 y la normativa centroamericana.
- 10.2 El método propuesto es reproducible pues permite obtener resultados con desviación estándar relativa menor a 2.0 %.
- 10.3 El método evaluado para cuantificar Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg es preciso, ya que permite obtener resultados con desviación estándar relativa menor a 2.0 %.
- 10.4 El método validado en el presente trabajo es exacto, ya que los resultados ofrecen un porcentaje de recuperación de 98.62 %.
- 10.5 El método propuesto es específico para la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato, ya que en la respuesta no se determina ninguna interferencia proveniente de la formulación (placebo), diluyente o fase móvil.
- 10.6 El método propuesto es lineal, ya que las respuestas obtenidas son directamente proporcionales a las diferentes concentraciones, siempre que se trabaje en el intervalo de concentración indicado.
- 10.7 Al validar la metodología propuesta para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato se desarrolló parte del sistema de gestión de calidad en la Industria Farmacéutica que incluyó tanto documentación, análisis e investigación.
- 10.8 El cumplimiento estadístico a los criterios de aceptación de validación evaluados determinan que el método propuesto es confiable.

11.RECOMENDACIONES

- 11.1 Trabajar bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo para garantizar la confiabilidad de los resultados, ya que la modificación de una o varias condiciones implica una nueva validación para el método.
- 11.2 Realizar otras investigaciones para evaluar la variación en los resultados al hacer leves modificaciones en la preparación de las muestras.
- 11.3 Antes de utilizar el método propuesto en el presente trabajo con otro cromatógrafo líquido de alta resolución, es necesario adecuar el sistema, que incluye la evaluación de la precisión del sistema, la linealidad, la resolución entre picos y la simetría.
- 11.4 Validar el método de uniformidad y disolución de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato de tabletas de 10 y 15 mg con la metodología propuesta en el presente trabajo.

12. Referencias

1. Brunton L, et al. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc Graw Hill, 11 ed. México. 2007. Pp. 305, 262 – 263.
2. Rang, P, et al. Farmacología. 5ª ed. Editorial Elsevier. España, 2004. pp. 286-287
3. Velásquez, P. et al. Farmacología Básica y Clínica. 17ª ed. Editorial Médica Panamericana, Madrid, España 2005. pp. 696-697.
4. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 2002. Tratamiento Farmacológico de la obesidad. (En Línea) España. Consultado en Abril 2008. <http://www.msc.es/farmacia/infinedic>
5. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.36:06 "Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos"
6. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology ICH Q2 (R1) Step 4 versions. November 2005.
7. Validation of Compendial Methods. General Chapter <1225> <1227> US Pharmacopeia 29. United States Pharmacopeical Convention, Inc. Rockville MD. 2006.
8. ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
9. Glosario de Medicamentos, Desarrollo Evaluación y Uso. Organización Panamericana de la Salud. Washington D.C. OPS, 1999.
10. The United States Pharmacopeia. The Nacional Formulary. XXX Ed. USA. United States Pharmacopeia Convention. 2007. (p. 749-752).
11. Velásquez Valdez, Ana M. Validación de Metodología Analítica para la cuantificación de fenilpropanolamina en comprimidos utilizados como antigripales. Agosto, 2002.
12. Valenzuela Mejía, Ana C. Validación de Método Espectrofotométrico para Cuantificación de Metronidazol, Mebendazol, Albendazol y Tinidazol (Tabletas y Suspensión). Julio, 1999.
13. Lainfiesta Anleu, Rossana. Validación del Método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la Cuantificación de Ibuprofeno en Suspensión. Mayo, 2000.
14. Toledo Chávez, Bárbara J. Validación de Método Espectrofotométrico como Metodología Alternativa, para la Medición de Alcohol en Sangre, Julio 2000.

15. Validación de Métodos Analíticos y Comparación de dos Métodos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas. -IIQB-.
16. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C. Métodos Analíticos. Guía de Validación. México. 2002. (p. 20-31)
17. Public Citizen Online. 2002. Petition to FDA to ban the diet drug Sibutramine (MERIDA) (HRG Publication (HRG Publication No. 1613). (En Línea) Estados Unidos. Consultado en Junio de 2008. <http://www.citizen.org/publications/release.cfm>
18. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Buenas Prácticas de Validación. Monografía Técnica No. 24. 1ª ed. México. 2006.
19. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de verificación de instrumentos analíticos. 1ª ed. Monografía Técnica No. 23. México. 2004.
20. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Sistemas de Documentación Aplicables a la Industria Farmacéutica. Monografía Técnica No. 25. 1ª ed. México. 2006.
21. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía para el control microbiológico de medicamentos. Monografía Técnica No. 4. 2ª ed. México. 2005.
22. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Validación de Métodos Analíticos: limpieza de equipos. Monografía Técnica No. 22. 2ª ed. México. 2004
23. Prozzi G. 2002. Grupo Argentino para el Uso Racional de los Medicamentos. (En Línea). Argentina. Consultado en Mayo 2008. Disponible en: http://www.femeba.org.ar/fundacion/quienessomos/Novedades/medicamentosysalud/sibutramina_prozzi.PDF
24. Cardona, A. 2007. Validación de las Metodologías Analíticas Espectrofotométricas empleadas para la cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato y Venlafaxina Clorhidrato. (En Línea). Chile. Consultado en Junio 2008. http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2006/cardona_a/html/index-frames.html
25. EM Science Product Catalog. Volume 14. Merck. Pp. 6, 7, 8, 280, 281,378.
26. Mendenhall, Wackerly y Scheaffer. *Estadística Matemática con Aplicaciones*. Sexta edición. Thompson Editores. México 2002. Pág. 400

13.ANEXOS

	Pág.
13.1 Procedimientos Analíticos que son objeto de Validación	24-25
13.2 Parámetros de Desempeño Analítico	25-27
13.3 Formulario	28-29
13.4 Cálculos y Base de Datos	30-36
13.5 Cromatogramas	
13.5.1 Fase Móvil	37
13.5.2 Diluyente	38
13.5.3 Placebo	39
13.5.4 Estándar	40
13.5.5 Muestra al 50 %	41
13.5.6 Muestra al 75 %	42
13.5.7 Muestra al 100 %	43
13.5.8 Muestra al 125 %	44
13.5.9 Muestra al 150 %	45
13.6 Certificado Calibración Balanzas	46
13.7 Verificación HPLC Merck – Hitachi	47-48
13.8 Certificado de Análisis Columna	49
13.9 Certificado de Análisis Estándar de Referencia	50

Anexos

13.1 Procedimientos analíticos que son objeto de validación:

Las categorías de prueba para las que se exigen datos de validación han sido clasificadas de la siguiente manera:

13.1.1 Categoría I:

Comprende pruebas cuantitativas del contenido de los principios activos, constituyen procedimientos químicos o microbiológicos que miden los analitos presentes en una muestra determinada. Los parámetros a evaluar son: precisión, exactitud, especificidad, linealidad e intervalo^{5-9, 10}.

13.1.2 Categoría II:

Comprende pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas. Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado. Cualquiera de los dos pretende reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba cualitativa de cumplimiento de límite^{5-9, 10}.

Incluye pruebas de Límite Cuantitativa y Prueba de Límite Cualitativa; evaluándose para la primera los parámetros de exactitud, precisión, especificidad, límite de cuantificación, linealidad e intervalo y para la segunda especificidad y límite de detección y dependiendo de la naturaleza de la prueba específica se puede determinar la exactitud y el intervalo^{5-9, 10}.

13.1.3 Categoría III:

Comprende pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo: disolución, liberación del fármaco, etc. Las características de la validación son diferentes a las de las

otras pruebas, aunque las pueden incluir. El parámetro obligatorio a evaluar es precisión y dependiendo de la naturaleza del procedimiento analítico se pueden considerar otros parámetros^{5-9, 10}.

13.1.4 Categoría IV:

Comprende las Pruebas de Identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de referencia, por ejemplo espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas. El parámetro a evaluar es la especificidad^{5-9, 10}.

13.2 Parámetros de desempeño analítico:

13.2.1 Precisión:

Expresa el grado de concordancia entre una serie de mediciones individuales obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea original o bien a partir de varias muestras obtenidas por dilución de la muestra bajo condiciones establecidas. Existen tres formas de determinación; repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad^{5-9, 10}.

La precisión de un método analítico es por lo general expresada como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). La precisión es una medida de la reproducibilidad de un método analítico bajo circunstancias normales de operación^{5-9, 10, 20}.

13.2.2 Exactitud:

Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese método y el valor verdadero. La exactitud, frecuentemente, es expresada como el porcentaje que el método puede detectar del valor real de un principio activo cuya concentración es conocida. La exactitud es la medida de la fidelidad del método analítico^{5-9, 10}.

13.2.3. Linealidad:

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.

Es generalmente expresada en términos de varianza alrededor de una pendiente de regresión de línea recta, calculada de acuerdo para establecer la relación matemática desde los resultados obtenidos de los ensayos por el análisis de muestras con variaciones de la concentración del principio activo^{5-9, 10}.

13.2.4. Intervalo:

Amplitud entre las concentraciones inferior y superior de analito (incluyendo esos niveles), en la cual se puede determinar el analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método según se describe. El rango o intervalo es normalmente expresado en las mismas unidades de los resultados de los ensayos^{5-9, 10}.

13.2.5. Especificidad o Selectividad:

Capacidad de evaluar, medir e identificar simultánea o separadamente, los analitos de interés de forma inequívoca sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles presentes en la matriz de la muestra. Cuando se realiza un análisis en particular, el analista asume que los resultados de la prueba se refieren únicamente al componente a analizar sin ninguna interferencia de otros componentes que se espera se encuentren presentes en la matriz de la muestra que se analiza tales como impurezas, ingredientes placebo o la presencia de sustancias farmacéuticamente activas o inertes^{5-9, 10}.

13.2.6. Límite de Detección:

Mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito. Usualmente se determinan en porcentaje o partes por millón^{5-9, 10}.

13.2.7. Límite de Cuantificación:

Mínima cantidad del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión y exactitud aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en

matrices de muestra y se usa particularmente para la determinación de impurezas y productos de degradación^{5-9, 10}.

La validez de un procedimiento analítico puede verificarse sólo mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto, la documentación de la finalización con éxito de dichos estudios constituye un requisito básico para determinar si un procedimiento es adecuado para sus aplicaciones previstas^{10, 18}.

13.3 FORMULARIO

Fórmula No. 1 Ecuación Lineal

$$Y = mx + b$$

Fórmula No. 2 Intervalo de Confianza para la pendiente

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

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

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

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

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

Fórmula No. 3 Porcentaje de Recuperación

$$\text{Porcentaje de Recobro} = \frac{\text{Cantidad Recuperada}}{\text{Cantidad adicionada}} * 100$$

Fórmula No. 4 Promedio Aritmético

$$\bar{x}_1 = \frac{\sum x_1}{n_1}$$

Fórmula No. 5 Desviación Estándar

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

Fórmula No. 6 Coeficiente de Variación o Desviación Estándar Relativa.

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

Fórmula No. 7 Intervalo de confianza para la media poblacional (Intervalo de confianza para la media poblacional del porcentaje de recobro)

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

Fórmula No. 8 Desviación Estándar de la ordenada al origen

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

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

Fórmula No. 9 Coeficiente de Determinación

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

Fórmula No. 10 Intervalo de Confianza para la ordenada al origen

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

Fórmula No. 11 Coeficiente de Variación de Regresión

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

Fórmula No. 12 Coeficiente de Correlación

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

Fórmula No. 12 Intervalo de Confianza

$$\bar{Y} \pm t_{\alpha/2} \left(\frac{S}{\sqrt{n}} \right).$$

13.4 CÁLCULOS Y BASE DE DATOS

13.4.1 Peso, Concentración, Área y Tiempo de Retención del Estándar.

Valores Estándar	
Peso estándar	30.0 mg
Potencia estándar	95.1840 %BH
Lote estándar	07110750-V
Fecha de vencimiento	24/02/2010
Concentración estándar	0.011422 mg/mL

No.	Área Estándar	TR Estándar
1	365956	4.69
2	367431	4.68
3	365947	4.70
4	367197	4.68
5	366831	4.69
PROM	366672.4	4.69
DSR	0.188715	

13.4.2 Peso y Concentración de la Solución Madre

Valores solución madre	
Lote estándar	07120816-V
Fecha de vencimiento	24/02/2010
Potencia estándar solución Madre	94.441 %B.H.
Peso muestra	393.8 mg
Concentración sol. Madre	1.487635 mg/mL

13.4.3 Cálculos y fórmulas utilizadas:

13.4.3.1 Concentración Estándar en mg/mL

$$\frac{\text{mg pesados Estándar Sibutramina HCl}}{50 \text{ mL}} * \frac{1 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} * \frac{\text{Potencia Estándar B.H.}}{100 \%}$$

13.4.3.2 Preparación Solución Madre

$$\frac{\text{mg pesados Estándar Sibutramina HCl}}{250 \text{ mL}} * \frac{\text{Potencia Estándar B.H.}}{100 \%}$$

13.4.3.3 mg Sibutramina Recuperado/tableta

$$\frac{\text{Área Muestra}}{\text{Área Promedio Estd.}} * \text{Concentración Estd. mg/mL} * 50 \text{ mL} * \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

13.4.3.4 Peso Real Sibutramina (g)

$$\text{Volumen (mL) Solución Madre} * \text{Concentración sol. Madre mg/mL} * \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}}$$

Volumen de Solución Madre agregados: 2, 3, 4, 5 y 6 mL para la solución de 50 %, 75 %, 100 %, 125 % y 150 % respectivamente.

13.4.3.5 Porcentaje de Recuperación de Sibutramina HCl

$$\frac{\text{g de Sibutramina recuperado}}{\text{g de Sibutramina real}} * 100 \%$$

13.4.4 BASE DE DATOS PARA CÁLCULOS DE ESPECIFICIDAD, LINEALIDAD, INTERVALO, EXACTITUD Y PRECISIÓN

Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de las áreas obtenidas en los cromatogramas de las muestras a las diferentes concentraciones y las áreas del estándar, el peso teórico de los gramos adicionados y los gramos recuperados de la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato para realizar los cálculos de los diferentes parámetros. Utilizando para esto el cálculo matemático de la concentración del estándar, la concentración de la solución madre y las diferentes diluciones realizadas para realizar los diferentes análisis estadísticos de la validación del método de cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg.

No.	Porcentaje Sibutramina HCl	Área muestras	TR muestras	Peso teórico de Sibutramina HCl (g)	Peso teórico muestra (g)	Sibutramina HCl (g) Adicionado	Peso real placebo (g)	Peso real muestra (g)	mg Sibutramina HCl / tab recuperado	g Sibutramina HCl /tab recuperado	% Recuperación Sibutramina HCl / tab
1.1	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0656	0.065600	0.000000	0.000000	0.000000
1.2	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0656	0.065600	0.000000	0.000000	0.000000
2.1	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0657	0.065700	0.000000	0.000000	0.000000
2.2	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0657	0.065700	0.000000	0.000000	0.000000
3.1	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0658	0.065800	0.000000	0.000000	0.000000
3.2	0%	0	0	0.000000	0.065700	0.000000	0.0658	0.065800	0.000000	0.000000	0.000000
1.1	50%	190079	4.69	0.003200	0.068900	0.002975	0.0656	0.068575	2.960541	0.002961	99.504986
1.2	50%	190190	4.67	0.003200	0.068900	0.002975	0.0656	0.068575	2.962270	0.002962	99.563094
2.1	50%	189226	4.68	0.003200	0.068900	0.002975	0.0657	0.068675	2.947256	0.002947	99.058447
2.2	50%	188865	4.68	0.003200	0.068900	0.002975	0.0657	0.068675	2.941633	0.002942	98.869466
3.1	50%	186884	4.67	0.003200	0.068900	0.002975	0.0659	0.068875	2.910778	0.002911	97.832427
3.2	50%	186573	4.70	0.003200	0.068900	0.002975	0.0659	0.068875	2.905934	0.002906	97.669620
1.1	75%	284874	4.68	0.004700	0.070400	0.004463	0.0657	0.070163	4.437004	0.004437	99.419657
1.2	75%	284483	4.69	0.004700	0.070400	0.004463	0.0657	0.070163	4.430914	0.004431	99.283200
2.1	75%	282172	4.69	0.004700	0.070400	0.004463	0.0656	0.070063	4.394919	0.004395	98.476672
2.2	75%	282012	4.71	0.004700	0.070400	0.004463	0.0656	0.070063	4.392427	0.004392	98.420833
3.1	75%	284748	4.69	0.004700	0.070400	0.004463	0.0657	0.070163	4.435041	0.004435	99.375683
3.2	75%	284954	4.70	0.004700	0.070400	0.004463	0.0657	0.070163	4.438250	0.004438	99.447576

Fecha de Validación: 18/05/2009

13.4.4 BASE DE DATOS PARA CÁLCULOS DE ESPECIFICIDAD, LINEALIDAD, INTERVALO, EXACTITUD Y PRECISIÓN
Continuación...

No.	Porcentaje Sibutramina HCl	Área muestras	TR muestras	Peso teórico de Sibutramina HCl (g)	Peso teórico muestra (g)	Sibutramina HCl (g) Adicionado	Peso real placebo (g)	Peso real muestra (g)	mg Sibutramina HCl / tab recuperado	g Sibutramina HCl /tab recuperado	% Recuperación Sibutramina HCl / tab
1.1	100%	375086	4.71	0.006300	0.072000	0.005951	0.0658	0.071751	5.842085	0.005842	98.177408
1.2	100%	376650	4.69	0.006300	0.072000	0.005951	0.0658	0.071751	5.866444	0.005866	98.586780
2.1	100%	378579	4.70	0.006300	0.072000	0.005951	0.0659	0.071851	5.896489	0.005896	99.091689
2.2	100%	377123	4.72	0.006300	0.072000	0.005951	0.0659	0.071851	5.873811	0.005874	98.710586
3.1	100%	378323	4.74	0.006300	0.072000	0.005951	0.0656	0.071551	5.892502	0.005893	99.024681
3.2	100%	377582	4.70	0.006300	0.072000	0.005951	0.0656	0.071551	5.880961	0.005881	98.830727
1.1	125%	471666	4.69	0.007900	0.073600	0.007438	0.0659	0.073338	7.346349	0.007346	98.765500
1.2	125%	470219	4.68	0.007900	0.073600	0.007438	0.0659	0.073338	7.323811	0.007324	98.462503
2.1	125%	471529	4.69	0.007900	0.073600	0.007438	0.0659	0.073338	7.344215	0.007344	98.736813
2.2	125%	472913	4.68	0.007900	0.073600	0.007438	0.0659	0.073338	7.365771	0.007366	99.026618
3.1	125%	472240	4.68	0.007900	0.073600	0.007438	0.0657	0.073138	7.355289	0.007355	98.885694
3.2	125%	471113	4.68	0.007900	0.073600	0.007438	0.0657	0.073138	7.337736	0.007338	98.649704
1.1	150%	567480	4.68	0.009500	0.075200	0.008926	0.0656	0.074526	8.838683	0.008839	99.023896
1.2	150%	563803	4.68	0.009500	0.075200	0.008926	0.0656	0.074526	8.781412	0.008781	98.382269
2.1	150%	558124	4.68	0.009500	0.075200	0.008926	0.0659	0.074826	8.692960	0.008693	97.391297
2.2	150%	557205	4.67	0.009500	0.075200	0.008926	0.0659	0.074826	8.678646	0.008679	97.230933
3.1	150%	567612	4.68	0.009500	0.075200	0.008926	0.0657	0.074626	8.840739	0.008841	99.046930
3.2	150%	568405	4.67	0.009500	0.075200	0.008926	0.0657	0.074626	8.853090	0.008853	99.185307

Fecha de Validación: 18/05/2009

13.4.5 PARÁMETROS DE LINEALIDAD E INTERVALO

Resultados obtenidos a partir de cálculos matemáticos y estadísticos del análisis de validación del método de cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg, específicos para linealidad e intervalo.

	X	Y					Y1	Y1 ²
%	Sibutramina HCl adicionada (g)	Sibutramina HCl recuperada (g)	Desviación estándar	XY	X ²	Y ²	% Recobro	(% Recobro) ²
0%	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0%	0.000000	0.000000		0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0%	0.000000	0.000000		0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0%	0.000000	0.000000		0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0%	0.000000	0.000000		0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
0%	0.000000	0.000000		0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
50%	0.002975	0.002961	0.827380	0.000009	0.000009	0.000009	99.529412	9906.103806
50%	0.002975	0.002962		0.000009	0.000009	0.000009	99.563025	9912.795989
50%	0.002975	0.002947		0.000009	0.000009	0.000009	99.058824	9812.650519
50%	0.002975	0.002942		0.000009	0.000009	0.000009	98.890756	9779.381682
50%	0.002975	0.002911		0.000009	0.000009	0.000008	97.848739	9574.375821
50%	0.002975	0.002906		0.000009	0.000009	0.000008	97.680672	9541.513735
75%	0.004463	0.004437	0.491103	0.000020	0.000020	0.000020	99.417432	9883.825829
75%	0.004463	0.004431		0.000020	0.000020	0.000020	99.282994	9857.112799
75%	0.004463	0.004395		0.000020	0.000020	0.000019	98.476361	9697.593714
75%	0.004463	0.004392		0.000020	0.000020	0.000019	98.409142	9684.359196
75%	0.004463	0.004435		0.000020	0.000020	0.000020	99.372619	9874.917469
75%	0.004463	0.004438		0.000020	0.000020	0.000020	99.439839	9888.281515

13.4.6 CÁLCULOS LINEALIDAD E INTERVALO

Con la base de datos y las fórmulas mostradas en el anexo 13.3 se obtuvieron los siguientes resultados para calcular la linealidad e intervalo de la Validación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg.

Número de datos	30
Coeficiente de determinación (R²)	0.99967193
Coeficiente de correlación (r)	0.99983595
Pendiente (b1)	0.98199686
Ordenada al origen (bo)	0.00002866
S _{y/x}	0.00003874
Desviación estándar (s) % recobro	0.60206528
Coeficiente de variación (CV) % recobro	0.60977310
Coeficiente de variación (CV) _{y/x}	0.65974805

13.4.7 PARÁMETROS EXACTITUD Y PRECISIÓN

Resultados obtenidos a partir de cálculos matemáticos y estadísticos del análisis de validación del método de cuantificación de Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en tabletas de 15 mg, específicos para linealidad e intervalo.

%	X	Y	Desviación estándar	XY	X ²	Y ²	Y ₁	Y ₁ ²
	Sibutramina HCl adicionada (g)	Sibutramina HCl recuperada (g)					% Recobro	(%Recobro) ²
50%	0.002975	0.002961	0.827380	0.000009	0.000009	0.000009	99.529412	9906.103806
50%	0.002975	0.002962		0.000009	0.000009	0.000009	99.563025	9912.795989
50%	0.002975	0.002947		0.000009	0.000009	0.000009	99.058824	9812.650519
50%	0.002975	0.002942		0.000009	0.000009	0.000009	98.890756	9779.381682
50%	0.002975	0.002911		0.000009	0.000009	0.000008	97.848739	9574.375821
50%	0.002975	0.002906		0.000009	0.000009	0.000008	97.680672	9541.513735
100%	0.005951	0.005842	0.337958	0.000035	0.000035	0.000034	98.168375	9637.029863
100%	0.005951	0.005866		0.000035	0.000035	0.000034	98.571669	9716.373856
100%	0.005951	0.005896		0.000035	0.000035	0.000035	99.075786	9816.011289
100%	0.005951	0.005874		0.000035	0.000035	0.000035	98.706100	9742.894141
100%	0.005951	0.005893		0.000035	0.000035	0.000035	99.025374	9806.024673
100%	0.005951	0.005881		0.000035	0.000035	0.000035	98.823727	9766.129039
150%	0.008926	0.008839	0.886469	0.000079	0.000080	0.000078	99.025319	9806.013861
150%	0.008926	0.008781		0.000078	0.000080	0.000077	98.375532	9677.745326
150%	0.008926	0.008693		0.000078	0.000080	0.000076	97.389648	9484.743580
150%	0.008926	0.008679		0.000077	0.000080	0.000075	97.232803	9454.217988
150%	0.008926	0.008841		0.000079	0.000080	0.000078	99.051087	9811.117779
150%	0.008926	0.008853		0.000079	0.000080	0.000078	99.182164	9837.101748
SUMA	0.1071120000	0.1055673000		0.0007325088	0.0007436310	0.0007215905	1775.1990125379	175082.2246948900
PROME	0.0059506667	0.0058648500				PROME	98.6221673632	

13.4.8 CÁLCULOS DE EXACTITUD Y PRECISIÓN

Con la base de datos y las fórmulas mostradas en el anexo 13.3 se obtuvieron los siguientes resultados para calcular la exactitud y precisión de la Validación de la Sibutramina Clorhidrato Monohidrato en Tabletas de 15 mg.

Número de datos	18
Desviación estándar (s) % de recobro	0.69665492
Coefficiente de variación (CV) % de recobro	0.70638776
Coefficiente de determinación (R²)	0.99964680
Coefficiente de correlación (r)	0.99982339
Pendiente (b1)	0.98183247
Ordenada al origen (bo)	0.00002229
S _{y/x}	0.00004756
Coefficiente de variación (CV_{y/x})	0.81088020

De los datos y las tablas de la distribución *t* con un 95% de confiabilidad se tiene:

$$\begin{array}{ll} \bar{Y} & 98.62 \\ S & 0.6967 \\ n & 18 \\ t_{\alpha/2} & 2.1098 \end{array}$$

Por lo tanto, el intervalo de confianza del 95% para la media de los datos es el siguiente:

$$98.62 \pm 2.1098 \left(\frac{0.6967}{\sqrt{18}} \right)$$

O equivalentemente:

$$(98.27, 98.98)$$

13.5 Cromatogramas

13.5.1 Fase Móvil

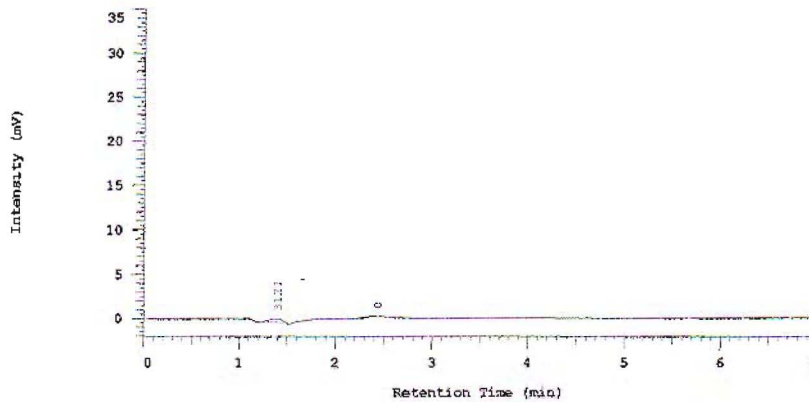
En el presente cromatograma se observa que la fase móvil no presenta ningún tipo de señal que interfiera con la muestra.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 10:14 a.m. Reported: 03/08/09 05:14 p.m.
Processed: 03/08/09 05:13 p.m.
Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
System(acquisition): Sys 3 Series:0116
Application: Samples Vial Number: 1
Sample Name: Fase Móvil Vial Type: UNK
Injection from this vial: 2 of 2 Volume: 20.0 ul
Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
Pump A Type: L-7100
Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina
HCl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletetas, Fase móvil :
Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol
(40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector
UV-227nm.

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
			0	0.000000	0.000000

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.2 Diluyente

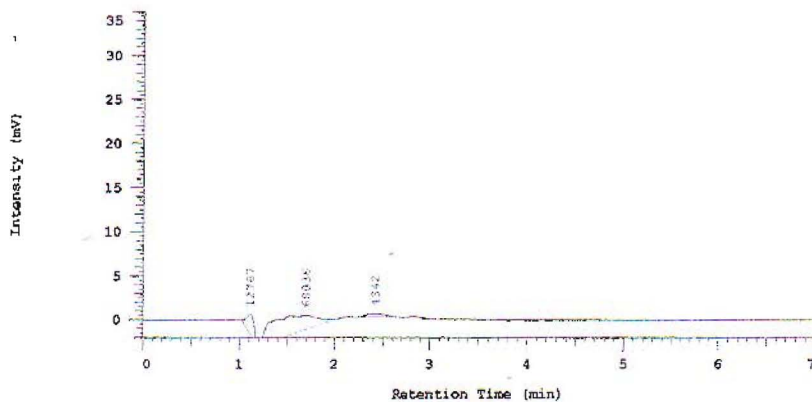
En el presente cromatograma se observó que el diluyente no presenta ningún tipo de señal que interfiera con la muestra.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 10:23 a.m. Reported: 03/08/09 05:17 p.m.
Processed: 03/08/09 05:17 p.m.
Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
System(acquisition): Sys 3 Series:0116
Application: Samples Vial Number: 2
Sample Name: Diluyente Vial Type: UNK
Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
Pump A Type: L-7100
Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
			0	0.000000	0.000000

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.3 Placebo

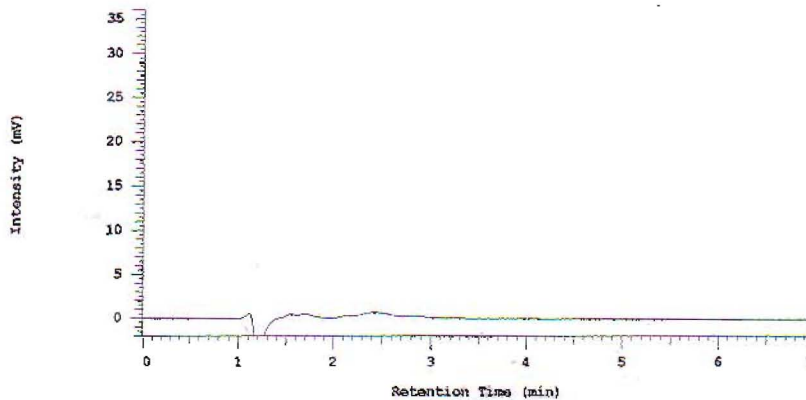
En el presente cromatograma se observa que el placebo no presenta ningún tipo de señal que interfiera con la muestra.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 12:41 p.m. Reported: 10/07/09 07:34 p.m.
Processed: 10/07/09 07:31 p.m.
Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
System(acquisition): Sys 3 Series:0116
Application: Samples Vial Number: 3
Sample Name: Mx.1 0% Vial Type: UNK
Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
Pump A Type: L-7100
Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina
Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil :
Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol
(40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector
UV-227nm.

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
			0	0.000000	0.000000

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.4 Estándar

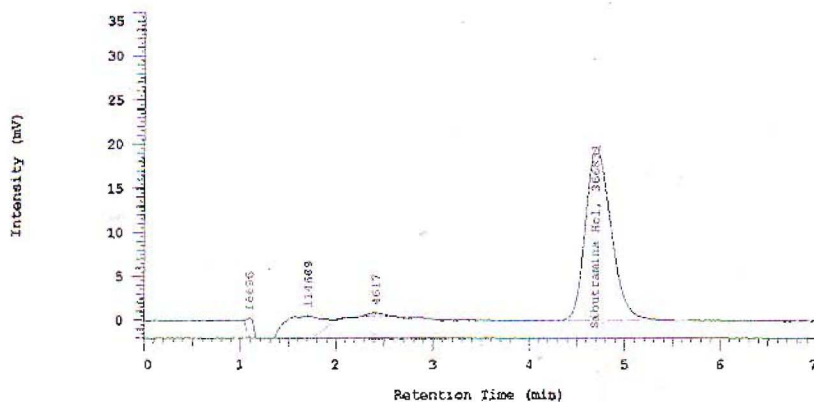
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa el Estándar donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 02:28 p.m. Reported: 10/07/09 07:46 p.m.
 Processed: 10/07/09 07:45 p.m.
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
 Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 System(acquisition): Sys 3 Series:0116
 Application: Samples Vial Number: 7
 Sample Name: Estándar Vial Type: STD1
 Injection from this vial: 5 of 6 Volume: 20.0 ul
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
 Pump A Type: L-7100
 Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
 Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
 Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Scale Factor 2: 1.000
 Calculation Method: EXT-STD
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 %	Conc 2 mg/tab
4	4.69	Sibutramina Hcl	366831	0.0161062	20.1327
			366831	0.0161062	20.1327

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.5 Muestra al 50 %

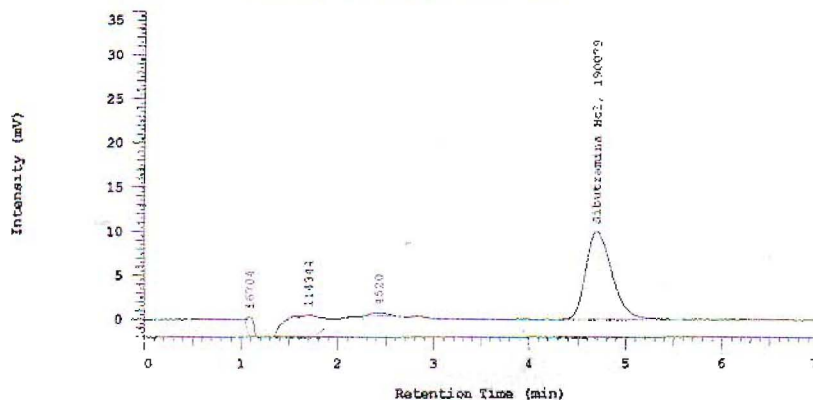
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa una concentración al 50 % donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 03:09 p.m. Reported: 10/07/09 07:46 p.m.
 Processed: 10/07/09 07:46 p.m.
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
 Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 System(acquisition): Sys 3 Series:0116
 Application: Samples Vial Number: 9
 Sample Name: Mx.2 50 % Vial Type: UNK
 Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
 Pump A Type: L-7100
 Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
 Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
 Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tablet. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Sample Amount: 1
 Calculation Method: EXT-STD Scale Factor 2: 1.000
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
4	4.69	Sibutramina HCl	190079	0.00834924	10.4366
			190079	0.00834924	10.4366

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.6 Muestra al 75 %

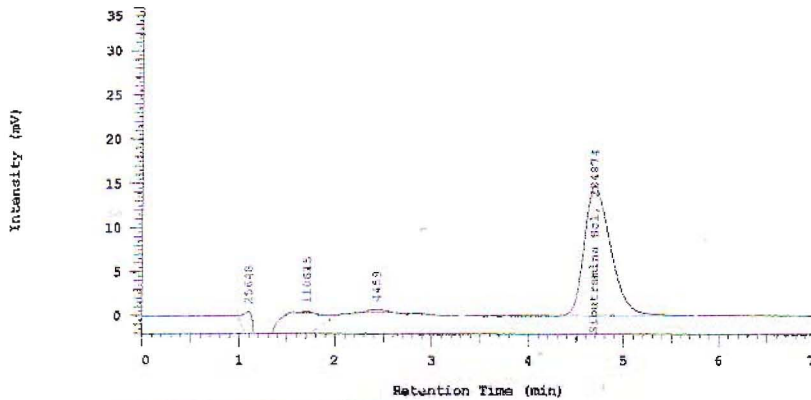
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa una concentración al 75 % donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 03:57 p.m. Reported: 10/07/09 07:47 p.m.
Processed: 10/07/09 07:46 p.m.
Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
System(acquisition): Sys 3 Series:0116
Application: Samples Vial Number: 12
Sample Name: Mx.1 75 % Vial Type: UNK
Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
Pump A Type: L-7100
Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Sample Amount: 1
Calculation Method: EXT-STD Scale Factor 2: 1.000
Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
4	4.68	Sibutramina Hcl	284874	0.0125132	15.6414
			284874	0.0125132	15.6414

Peak rejection level: 0

3.5 Cromatogramas

13.5.7 Muestra al 100 %

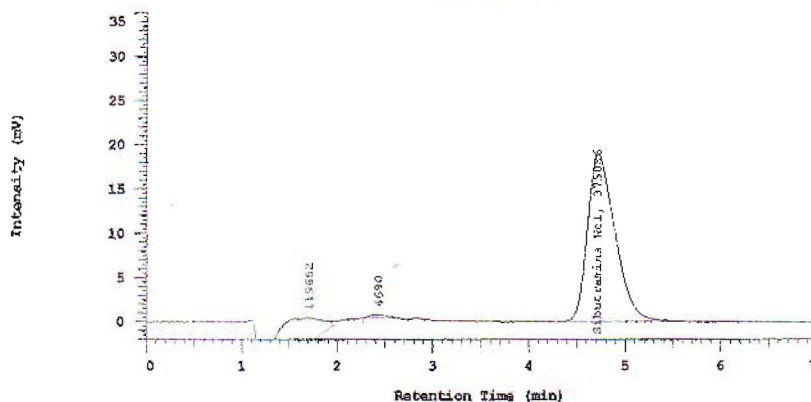
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa una concentración al 100 % donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 05:01 p.m. Reported: 10/07/09 07:47 p.m.
 Processed: 10/07/09 07:47 p.m.
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
 Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 System(acquisition): Sys 3 Series:0116
 Application: Samples Vial Number: 16
 Sample Name: Mx.1 100% Vial Type: UNK
 Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
 Pump A Type: L-7100
 Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
 Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
 Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tablet. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Sample Amount: 1
 Calculation Method: EXT-STD Scale Factor 2: 1.000
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
3	4.71	Sibutramina Hcl	375086	0.0164757	20.5946
			375086	0.0164757	20.5946

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.8 Muestra al 125 %

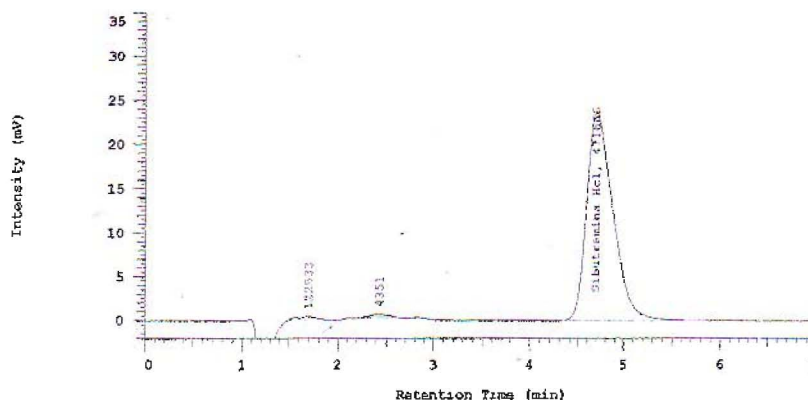
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa una concentración al 125 % donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 06:22 p.m. Reported: 10/07/09 07:48 p.m.
 Processed: 10/07/09 07:48 p.m.
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
 Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 System(acquisition): Sys 3 Series:0116
 Application: Samples Vial Number: 21
 Sample Name: Mx.2 125 % Vial Type: UNK
 Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
 Pump A Type: L-7100
 Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
 Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
 Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Sample Amount: 1
 Calculation Method: EXT-STD Scale Factor 2: 1.000
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
3	4.69	Sibutramina Hcl	471666	0.0207180	25.8975
			471666	0.0207180	25.8975

Peak rejection level: 0

13.5 Cromatogramas

13.5.9 Muestra al 150 %

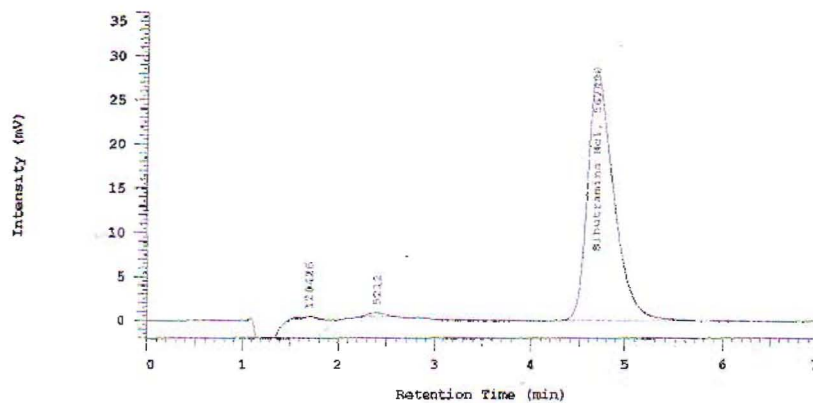
En el presente cromatograma se observa una gráfica que representa una concentración al 150 % donde se observa el área obtenida y el tiempo de retención del mismo.

D-7000 HSM: Samples Series: 0116 Report: modified System: Sys 3

D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 17/05/09 07:10 p.m. Reported: 10/07/09 07:49 p.m.
 Processed: 10/07/09 07:49 p.m.
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0116\
 Processing Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 System(acquisition): Sys 3 Series:0116
 Application: Samples Vial Number: 24
 Sample Name: Mx:1 150 % Vial Type: UNK
 Injection from this vial: 1 of 2 Volume: 20.0 ul
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Reduvan (Sibutramina Hcl)
 Column Type: Sibutramina HCl Developed by: Emma Heer
 Pump A Type: L-7100
 Solvent A: Fase móvil Solvent B: metanol
 Solvent C: acetonitrilo Solvent D: agua
 Method Description: Validación del Método de Cuantificación de Sibutramina Hcl Monohidrato en Reduvan 15 mg Tabletas. Fase móvil : Fosfato de potasio monobásico 0.067M ph 3.70 - Metanol (40-60) Flujo 1 ml/min. Columna AN-055 , detector UV-227nm.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA Sample Amount: 1
 Calculation Method: EXT-STD Scale Factor 2: 1.000
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Name	Area	Conc 1 mg/mg	Conc 2 mg/tab
3	4.68	Sibutramina Hcl	567480	0.0249266	31.1583
			567480	0.0249266	31.1583

Peak rejection level: 0

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN PARA BALANZAS Y BÁSCULAS No.

058-2008

CLIENTE

Compañía **DONOVAN WERKE AG, S.A.**

Dirección **0 Avenidad 4-24, Zona 1**

Col. El Najarito, Villa Nueva

Guatemala

Contacto **Ing. Gabriela Moreno**

Referencia MT **BA-058**

Cliente Ref. **P-018**

BALANZA / BÁSCULA

Fabricante **METTLER TOLEDO**

Modelo **AE200**

Capacidad Max. **205 g**

Valor de Verificación (e) **1 mg**

S/N **L66915**

Departamento / Area **Lab. Control de Calidad**

Test de Máxima Capacidad **200 g**

Precisión (d) **0,1 mg**

PESOS DE REFERENCIA

Set de pesos No. **25272**

Certificado No. **59358**

Fecha **2006-03**

Clase OIML **E2**

1 mg - 200 g

Efectuado por **METTLER TOLEDO**

La Balanza y/o báscula anteriormente mencionada está metrológicamente probada y los resultados reportados de dicho certificado de calibración corresponden a las especificaciones del fabricante

Si

No

Observaciones

TEMPERATURA 22. °C

HUMEDAD RELATIVA 73%

Lugar **VILLA NUEVA GUATEMALA**


Fecha **26/05/2008**

Certificado por **PRECISION, S. A.**

Firma **JACOBO CHUM 48**



Página 1 de 6	Departamento de Servicio Técnico	Sistema HPLC Merck Hitachi LaChrom - OQ	13.7 Verificación HPLC Merck Hitachi MERCK
---------------	----------------------------------	---	---

 VWR INTERNATIONAL VWR International,	Documento:	STM/LC/OQ1Ae
	Título:	Procedimiento Estandar de Operación
	Subtítulo:	Calificación Operacional LaChrom

Sistema No.: G-45	Modelo: LaChrom	Fecha: 03 de octubre de 2008
Equipo: HPLC	Marca: Merck Hitachi	Responsable: Jorge Colaj

Datos del Cliente

Cliente	Laboratorio y Droguería Donovan S.A.
Dirección	0 Avenida 4-24 zona 1 Villa Nueva
Teléfono	6640-9000
Departamento	Control de Calidad
Responsable	Lic. Gabriela Moreno

Lista de Equipos Verificados


Modulo	Modelo	Número de Serie
Bomba	L-7100	1638-016
Automuestreador	L-7200	1618-040
Interfase.	D-7000	1651-034
Detector UV	L-7400	1620-027
Organizador	Organizer	1466-040

Documentación Entregada

Reporte de Verificación Operacional	STM/LCE/OQ1Ae	✓
Bomba L-7100	STM/L7100/OQ1Ae	
Automuestreador L-7200	STM/L7200/OQ1Ae	
Detector UV L-7400	STM/L7400/OQ1Ae	
Sistema Completo	STM/GLP/OQ1Ae	
Certificado de Verificación Operacional		✓
Bomba L-7100		
Automuestreador L-7200		
Detector UV L-7400		
Observaciones y Conclusiones	STM/OBS/OQ1Ae	

Copia Certificadas:		✓
Instrumentos Utilizados:	Cronómetro N/S 61772738	
	Probeta clase A Lote 07.01	
Personal Calificado:		✓
Curso HPLC IQ,OQ,PQ		

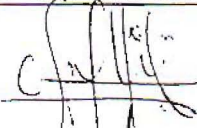

Página 6 de 6	Departamento de Servicio Técnico	Sistema HPLC Merck Hitachi LaChrom - OQ	MERCK
---------------	----------------------------------	---	-------

	Documento:	STM/OBS/OQ1Ae
	Título:	Procedimiento Estándar de Operación
	Subtítulo:	Conclusiones y Observaciones

Sistema No.: G-45	Modelo: LaChrom	Fecha: 03 de octubre de 2008
Equipo: HPLC	Marca: Merck Hitachi	Responsable: Jorge Colaj

El sistema cumple con las especificaciones del fabricante.

Se realizó una prueba de repetibilidad con solución de hidrocarburos, con lo que se califica la operación del sistema incluyendo el software. Se adjunta reporte de resultados obtenidos.

Firma y sello de Cliente:	Firma y sello – Servicio Técnico Merck:
	 Realizó: Jorge Colaj  Aprobó: Ing. Romeo Ruiz Romeo A. Ruiz D. Ingeniero Electricista Colegiado 6516

CERTIFICATE OF ANALYSIS

LiChroCART® 125-4 HPLC-Cartridge

LiChrospher® 100 RP-18 (5µm)

13.8 Certificado de Análisis Columna

Ord. No. 1.50943.0001

Cartridge No. 638613 - 639692

Sorbent Lot No. L 55120617

1. PACKING MATERIAL

This batch of packing material has successfully passed all production quality tests regarding our specifications for reproducibility

- Capacity Factor k
- Selectivity (Separation Factors α)
- Efficiency (Plate Number N/m)
- Chemical Stability
- Packing Stability

2. COLUMN TEST

This column has passed all production quality tests with respect to:

- Capacity Factor k
- Efficiency (Plate Number N/m)
- Asymmetry Factor A_s

Merck, S. A.
Servicio Técnico

Specification for Toluene

$N_{min}/m \geq 50000$

$A_s = 0.8 - 1.4$

Test results for Toluene

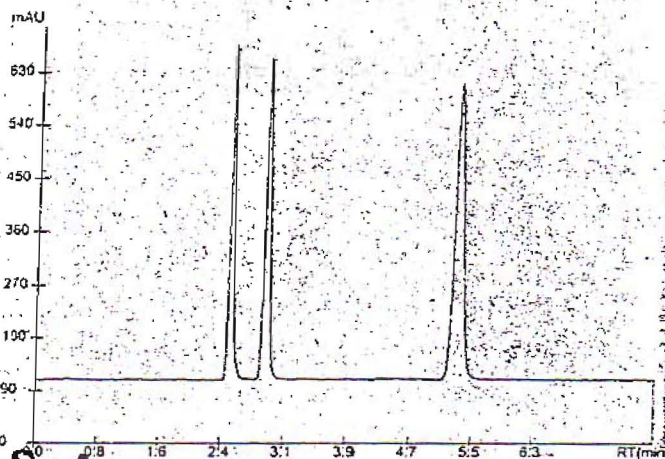
$k = 1.92$

$N/m = 87345$

$A_s = 1.2$

$\Delta P = 33.6 \text{ bar}$

COLUMN PERFORMANCE TEST CHROMATOGRAM



Merck, S. A.
Servicio Técnico

Sample Components

- Toluene (1740 µg/ml)
- Naphthalene (162.5 µg/ml)
- Anthracene (8.8 µg/ml)

Conditions:

Eluent: Acetonitrile/Water (75/25, v/v)

Flow Rate: 1 ml/min

Inj. Volume: 1 µl

Detection: UV 254 nm

Cell Volume: 3.2 µl

Temperature: ambient

Date 25.08.2006

Dr. Hans D.J. Müller

Quality Assurance Production

This document has been produced electronically and bears no signature.

DIVISION PLS

Certified Quality Management System
according to DIN ISO 9001

Merck KGaA · 64271 Darmstadt · Germany

Website: www.chrombook.merck.de, www.chromatography.merck.de

MERCK

13.9 Certificado de Análisis Estándar de Referencia

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: SIBUTRAMINE HCL MONOHYDRATE

Batch : WS/SB/1/08

Quantity : 0.001 KGR

MFG. Date : March 2008

Retest Date : February 2009

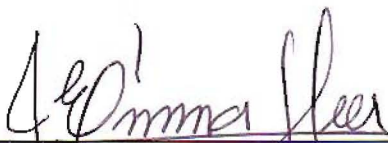
TEST	SPECIFICATIONS	RESULTS
DESCRIPTION	An off white to white crystalline powder	Conforms
IDENTIFICATION .	IR: Similar to the reference standard UV: Similar to the reference standard HPLC: Similar to the reference standard	Conforms Conforms Conforms
WATER.	5.0 - 6.0 %	5.2 %
ASSAY (HPLC)	98.0 - 102.0 % on dried basis	99.9 %

The above data results have been received from the Quality Control Dept.

Technical Director Signature

CHEMO S.A.
 LUGANO BRANCH





Br. Emma Judith Heer Escobar
Tesista



Licda. Lucrecia Martínez de Haase
Asesora



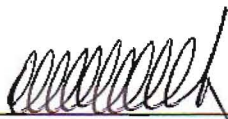
Licda. Marilyn Castillo
Coasesora



Lic. Estuardo Serrano
Revisor



Lic. Estuardo Serrano
Director de Escuela



Oscar Cobar Pinto Ph.D.
Decano