

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO
PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE
PSEUDOEFEDRINA CLORHIDRATO 120MG Y CETIRIZINA
CLORHIDRATO 5MG EN UN PRODUCTO DE UNA INDUSTRIA
FARMACÉUTICA NACIONAL EN EL PERIODO DE MAYO A
AGOSTO DEL 2020**

**MODALIDAD DE INTERNADO EN INDUSTRIA FARMACÉUTICA PARA
OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA EN FARMACIA**

PAULINA MARÍA ZELEDÓN GARCÍA

TUTOR:

DR. RAFAEL SAAVEDRA QUERO

SEDE SAN JOSÉ

SAN JOSÉ, COSTA RICA, DICIEMBRE 2020

Tabla de contenido

<i>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</i>	15
<i>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	15
<i>HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN</i>	17
<i>OBJETIVOS</i>	18
Objetivo General	18
Objetivos Específicos	18
<i>JUSTIFICACIÓN</i>	19
<i>ANTECEDENTES</i>	21
Antecedentes Internacionales	21
Antecedentes Nacionales	23
<i>PROYECCIONES</i>	25
<i>LIMITACIONES</i>	26
<i>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</i>	27
<i>INDUSTRIA FARMACÉUTICA</i>	27
Historia de la industria farmacéutica	27
Industria farmacéutica	27
Industria Farmacéutica en Costa Rica	29
Empresa Farmacéutica MEDIGRAY	30
Misión	31
Visión	31
Papel del Farmacéutico en la Industria Farmacéutica	31
Investigación y Desarrollo	31
Control de Calidad	32
Buenas Prácticas de Manufactura	35

Áreas comprendidas por las Buenas Prácticas de Manufactura	35
FORMAS FARMACÉUTICAS	37
Importancia.....	37
Cápsulas.....	38
Ventajas.....	39
Inconvenientes	39
Cápsulas de Liberación Inmediata	39
Cápsulas de Liberación Prolongada	40
Pellets.....	41
ANTIISTAMÍNICOS Y DESCOGESTIONANTES.....	41
Enfermedades alérgicas	43
Pseudoefedrina Clorhidrato	47
Indicación	47
Mecanismo de acción	47
Dosificación	47
Reacciones adversas.....	48
Interacciones	48
Contraindicaciones	48
Cetirizina Clorhidrato.....	48
Indicación	48
Mecanismo de acción.....	48
Dosificación	48
Reacciones adversas.....	49
Interacciones	49
Contraindicaciones	50
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LA PSEUDOEFEDRINA CLORHIDRATO Y CETIRIZINA CLORHIDRATO	50
Pseudoefedrina Clorhidrato	50
Cetirizina Clorhidrato.....	51
CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTO DESEMPEÑO.....	52

Términos empleados en cromatografía	64
Tipos HPLC	66
Principales usos	68
Aplicaciones de la cromatografía	68
Determinaciones cualitativas: datos de retención para la caracterización de la muestra	68
Determinaciones cuantitativas	69
Características de separación cromatográfica	69
Tiempo de retención (t_r) y tiempo muerto (t_m)	69
Factor de retención (k_i)	70
Eficacia	71
Resolución	71
Métodos de elución	72
Ventajas	74
Análisis cuantitativo de la cromatografía líquida de alto desempeño	74
<i>CROMATOGRAFÍA DE PARES IÓNICOS</i>	<i>79</i>
<i>DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<i>84</i>
Calidad por diseño de métodos analíticos	84
Optimización de métodos analíticos	88
Especificaciones de control de calidad	90
Prueba de Identificación	90
Prueba de Potencia	90
Prueba de Disolución	90
Prueba de Uniformidad de Contenido	92
Prueba de Variación de Peso	92
Prueba de Impurezas	92
<i>VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	<i>92</i>
Validación	92
Parámetros para validación	94

Tipos de validación	96
Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)	97
Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH)	98
Características de un estudio de validación	101
Protocolo de validación	101
Importancia de los protocolos de validación.....	101
Revisión de métodos analíticos validados	101
Pruebas paramétricas	102
<i>MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CETIRIZINA Y PSEUDOEFEDRINA.....</i>	104
<i>CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....</i>	110
Enfoque de investigación	110
Diseño de la investigación.....	110
<i>VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....</i>	111
Unidades de Análisis.....	111
Operacionalización de variable	112
Instrumentos.....	114
Instrumento Cualitativo.....	114
Instrumentos Cuantitativos	114
Procedimientos y recursos	116
Proceso para la Recolección y Análisis de Datos.....	117
<i>CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS</i>	118
Pruebas de aptitud del método analítico	118
Método basado en el test 1 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato	118
Método basado en el test 2 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato	121
Optimización de un método analítico para cápsulas de gelatina dura de pellets	122

Protocolo de validación	128
Evaluación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar la potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de cápsulas de pellets de pseudoefedrina clorhidrato al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de la concentración	130
Evaluación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar la potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de las cápsulas de pellets de cetirizina clorhidrato al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de la concentración.	135
<i>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</i>	<i>144</i>
Conclusiones	144
Recomendaciones	144
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	<i>146</i>
<i>ANEXOS</i>	<i>158</i>

Índice de tablas

Tabla 1. Cantidad de laboratorios activos en Costa Rica	29
Tabla 2. Tipos de reacciones de hipersensibilidad	44
Tabla 3. Característica farmacológica de la cetirizina para enfermedad alérgica	49
Tabla 4. Interacción entre cetirizina y otros fármacos	49
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de la pseudoefedrina clorhidrato	50
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de la cetirizina clorhidrato	51
Tabla 7. Características de las bombas	59
Tabla 8. Características comunes para la extracción de analitos en columnas C8 y C18 ..	64
Tabla 9. Factores que controlan la separación de analitos	80
Tabla 10. Selección de pH.....	81
Tabla 11. Pares iónicos típicos	82
Tabla 12. Unidades de análisis	111
Tabla 13. Operacionalización de variable	112
Tabla 14. Condiciones cromatográficas prueba de método analítico 1	118
Tabla 15. Aptitud del sistema con estándares	119
Tabla 16. Resultados de método analítico basado en el test 1 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato	120
Tabla 17. Condiciones cromatográficas prueba de método analítico 2.....	121
Tabla 18. Método de elución en gradiente con 7,0 g/L de par iónico	124
Tabla 19. Método de elución en gradiente	125
Tabla 20. Condiciones cromatográficas método analítico optimizado	126
Tabla 21. Aptitud del sistema de estándares método analítico optimizado.....	127
Tabla 22. Resultados de método analítico basado en el método analítico optimizado	127
Tabla 23. Evaluación de los parámetros de desempeño	129
Tabla 24. Resultados de validación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de pseudoefedrina clorhidrato.....	130
Tabla 25. Resultados de validación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de cetirizina clorhidrato	135

Índice de figuras

Figura 1. Etapas de control de la calidad de medicamentos.....	33
Figura 2. Actividades que realiza el área de control de calidad	34
Figura 3. Áreas comprendidas por las Buenas Prácticas de Manufactura.....	36
Figura 4. Formas farmacéuticas con su lugar de absorción y estado físico	38
Figura 5. Partes de una cápsula dura	39
Figura 6. Liberación inmediata.....	40
Figura 7. Liberación prolongada	40
Figura 8. Tipos de pellets	41
Figura 9. Localización celular de los receptores de histamina en SNC como H3.....	42
Figura 10. Distribución del sistema inmunitario	43
Figura 11. Incidencia de enfermedades alérgicas en el año 2010	45
Figura 12. Medicamentos antialérgicos y descongestionantes.....	46
Figura 13. Molécula de la pseudoefedrina clorhidrato.....	51
Figura 14. Molécula de la cetirizina clorhidrato	52
Figura 15. Instrumentación de un HPLC.....	53
Figura 16. Diagrama de un HPLC.....	53
Figura 17. Sistema cromatográfico.....	54
Figura 18. Columna para HPLC.....	55
Figura 19. Detectores de HPLC.....	56
Figura 20. Bomba recíproca. (a y b, entrada y salida del solvente de limpieza del pistón; c, pistón; d y e, válvulas de entrada y salida).....	57
Figura 21. Mecanismos que permiten variar el caudal.....	58
Figura 22. Bomba jeringa.....	58
Figura 23. Válvula de inyección.....	60
Figura 24. Sistema de toma y procesamientos de datos de HPLC	61
Figura 25. Propiedades de los solventes.....	62
Figura 26. Ilustración de un equipo de filtración	63
Figura 27. Compatibilidad de la membrana de filtro con los solventes	63
Figura 28. Cromatograma.....	65
Figura 29. Reservorios sobre sistema de HPLC.....	65

Figura 30. Tipos de cromatografía líquida de alto desempeño	66
Figura 31. Información del analito	69
Figura 32. Tiempo de retención y tiempo muerto	70
Figura 33. Fórmula para la determinación del factor de retención.....	70
Figura 34. Fórmula para la determinación del factor de capacidad	70
Figura 35. Anchura de un pico cromatográfico.....	71
Figura 36. Determinación de la resolución en un par de picos cromatográficos	72
Figura 37. Cromatograma según condiciones isocráticas fase móvil:ACN 30:70.....	72
Figura 38. Definición de los tipos de gradiente.....	73
Figura 39. Tipos de gradientes de fase móvil.....	74
Figura 40. Volumen de inyección en columnas de 4 mm de diámetro	75
Figura 41. Cinco etapas de la manipulación de los resultados cromatográficos	75
Figura 42. Integración utilizando integradores digitales	76
Figura 43. Factores que influyen en la cuantificación de los picos cromatográficos, donde k' es retención relativa, w el ancho del pico, h la altura y A el área.....	76
Figura 44. Algunos errores de integración	77
Figura 45. Asimetría del pico cromatográfico.....	78
Figura 46. Reglas para resolver problemas	78
Figura 47. Problemas instrumentales	79
Figura 48. Molécula del ácido 1-octanosulfonato de sodio.....	83
Figura 49. Pares iónicos más utilizados en la actualidad para HPLC	84
Figura 50. Etapas de aseguramiento para la validación de métodos analíticos según QbD	85
Figura 51. Requisitos calidad por diseño de métodos analíticos.....	86
Figura 52. La evolución de la calidad desde el diseño (QbD).....	87
Figura 53. Pasos en el desarrollo de métodos analíticos por HPLC.....	88
Figura 54. Variables a estudiar en optimización de métodos analíticos.....	89
Figura 55. Aspectos para la optimización de la separación de los picos cromatográficos.....	90
Figura 56. Disolutor.....	91
Figura 57. Aparatos utilizados en disolución	91
Figura 58. Documentación de una validación analítica.....	94

Figura 59. Parámetros de una validación de métodos analíticos según la ONODC	95
Figura 60. Tipos de validación	97
Figura 61. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos físico-químicos y potencia microbiológica	97
Figura 62. Estructura de la ICH.....	99
Figura 63. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos	100
Figura 64. Mapa conceptual de pruebas paramétricas.....	102
Figura 65. Cromatograma de pseudoefedrina, fexofenadina y Cetirizina respectivamente	104
Figura 66. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente.....	105
Figura 67. Cromatograma de pseudoefedrina, paracetamol y cetirizina respectivamente	105
Figura 68. Cromatograma de pseudoefedrina, paracetamol y cetirizina respectivamente	106
Figura 69. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente.....	107
Figura 70. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente.....	107
Figura 71. Cromatograma de paracetamol, cetirizina y pseudoefedrina respectivamente	108
Figura 72. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina diclorhidrato respectivamente	109
Figura 73. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato (254 nm)	119
Figura 74. Cromatograma de cetirizina clorhidrato (230 nm).....	119
Figura 75. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con las condiciones cromatográficas prueba de método analítico 2.....	122
Figura 76. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con las condiciones cromatográficas prueba de método analítico 3.....	123
Figura 77. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método analítico 3 (7,0 g/L par iónico).....	123
Figura 78. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método de elución en gradiente con 7,0 g/L de par iónico	124

Figura 79. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método de elución en gradiente con 5,0 g/L de par iónico	125
Figura 80. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato con 4 g/L de par iónico.....	126
Figura 81. Curva para la determinación de linealidad del sistema de pseudoefedrina clorhidrato	132
Figura 82. Curvas para la determinación de linealidad del método de pseudoefedrina clorhidrato	133
Figura 83. Curva de linealidad de sistema contra curva de linealidad de método	134
Figura 84. Curva para la determinación de linealidad del sistema de cetirizina clorhidrato	137
Figura 85. Curvas para la determinación de linealidad del método de cetirizina clorhidrato	137
Figura 86. Curva de linealidad de sistema contra curva de linealidad de método	139
Figura 87. Cromatogramas 3D de pruebas degradativas a 242nm.....	139

Índice de anexos

Anexo 1. Resultados del análisis de varianza para el parámetro de validación especificidad de efecto matriz de pseudoefedrina clorhidrato	158
Anexo 2. Resultados del análisis de varianza para el parámetro de validación especificidad de efecto matriz de cetirizina clorhidrato.....	159

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo, agradecer y expresar mi gratitud a Dios y la Virgen por la bendición de estudiar, por darme la sabiduría, fortaleza, inteligencia, paciencia y dedicación, por ser los guías en los momentos más difíciles y por dejarme llegar a cumplir esta meta tan importante en mi vida de convertirme en farmacéutica.

Quiero agradecer a mis papás, Seidy y Rodolfo, quienes con su esfuerzo y amor me han permitido llegar a cumplir un sueño más, por ser mi pilar fundamental no solo en estos 4 años de carrera universitaria, sino en toda mi vida, por ser los que siempre me han impulsado a dar y ser lo mejor de mí, me han ayudado y animado a seguir adelante, gracias por inculcar en mí un ejemplo de esfuerzo y valentía, porque todo lo puedo en Cristo que me fortalece.

A mis hermanos, Karina y Andrés, por su apoyo y amor incondicional en este proceso, por estar conmigo en todo momento, por los consejos y palabras de aliento que hizo de mí una mejor persona y agradezco a Dios y a la vida porque siempre me acompañan en todas mis metas y sueños.

A Fabián, por siempre ayudarme en todo, por ser mi consejero y siempre darme la motivación que necesito para dar el esfuerzo más grande en todo lo que hago, por acompañarme estudiando en las madrugadas y desestresarme siempre, gracias por su paciencia y apoyo incondicional.

También a mis amigas, Yohaidy, María José, Yurlieth y Rebeca, por todos los momentos que pasamos juntas en la U, por hacer de la U un mejor lugar, por cada loquera, broma y risa juntas, por apoyarnos todas para salir adelante.

A mi tutor, Rafael, por haberme guiado y ayudado en el proceso del trabajo final de graduación, por cada consejo y corrección, gracias a eso hoy puedo sentirme dichosa y satisfecha del proyecto que elaboré.

Al laboratorio farmacéutico MEDIGRAY, por permitirme realizar mi pasantía y gracias a eso tuve la experiencia de aprender el maravilloso campo de la industria farmacéutica.

Para concluir, quiero agradecer a la universidad, porque gracias a los profesores de la facultad de Farmacia, he aprendido a amar y a profesionalizarme en esta carrera tan hermosa y llena de experiencias.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios y a las personas que me han ayudado a cumplir este sueño de ser farmacéutica, mis papás, mis hermanos y mi novio, ya que han estado a mi lado en todo este proceso incondicionalmente.

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló un método de análisis para un producto farmacéutico no farmacopeico, para seguidamente elaborar un protocolo de validación y realizar la validación de potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación del método analítico por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg en una formulación de cápsulas de gelatina dura de pellets.

El enfoque de este trabajo final de graduación es mixto, ya que se requiere la recolección y el análisis de datos tanto cuantitativos como cualitativos y un diseño exploratorio secuencial porque se estudiará el comportamiento de las pruebas para el desarrollo del método analítico, seguido de la recolección de datos cuantitativos y así realizar una interpretación final producto de la comparación e integración de resultados cualitativos y cuantitativos.

La condiciones cromatográficas para el método analítico y la validación son las siguientes: como diluyente para los estándares y muestras se utiliza ácido clorhídrico 0,1N, como fase móvil una solución de un buffer de 1-octanolfonato de sodio y acetato de sodio con metanol 50:50 pH 5,5, agua y metanol, una longitud de onda de 242 nm, velocidad de flujo de 1,5 mL/min, volumen de inyección de 50 μ L y un tiempo de corrida de 18 minutos, con un método de elución de modo gradiente.

El método de análisis es exacto, preciso, específico, lineal y estable a las 24 horas para pseudoefedrina clorhidrato, no obstante, para cetirizina clorhidrato no es específico al efecto de la matriz, pero si exacto, preciso, lineal y estable a las 24 horas. Por lo que la validación del método de análisis no queda rechazada hasta que se realice nuevamente el análisis del parámetro de especificidad para el efecto matriz de la cetirizina clorhidrato y así comprobar su especificidad y determinar si se aprueba o se rechaza la validación.

Se recomienda validar nuevamente el parámetro de especificidad del efecto de la matriz para la cetirizina clorhidrato, además de agregar la prueba de impurezas al método de análisis y realizar la validación de disolución e impurezas.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La innovación en la industria farmacéutica es una práctica que la mayoría de empresas farmacéuticas implementan día a día, ya sea creando nuevas moléculas o mejorando un producto ya existente, esto para generar un impacto de posicionamiento en el mercado con respecto a la competencia. Detrás de un producto ya posicionado en el mercado existió una extensa investigación, de la cual se encarga el departamento de investigación y desarrollo (I+D) generando una gran inversión de recursos para lo que comprende todo el análisis requerido. Es por esta razón que para un laboratorio farmacéutico al tener en su cartera de productos un medicamento no farmacopeico, se ve en la obligación de implementar desde cero su método de análisis y la validación respectiva del método para su confiabilidad al ser aplicado al analizar un medicamento, ya que toda nueva formulación debe tener un desarrollo de método analítico o por otro lado la verificación de un método de análisis para poder ser ingresado al mercado. (Salazar, Cruz, Lloveras y Urriolagoitia, 2015)

El desarrollo de nuevos métodos analíticos es el éxito para poder controlar los productos que se encuentran en el mercado o están por lanzarse al mismo, cumpliendo estándares de calidad, equipos de medición calibrados, personal altamente calificado y una profunda investigación para saber cuál es el método que mejor se adapta al producto que se desea cuantificar, sin embargo en el trayecto se pueden realizar cambios en el método para que éste se adecúe a los parámetros requeridos. Es importante que al proyectar una nueva investigación para desarrollar o mejorar un producto, se tome en cuenta el método con el cual se va a analizar y su validación, ya que si existe un método de análisis para un fármaco y este no es validado, no se puede mantener controlado ni dar fiabilidad del mismo. Por lo que al desarrollar un producto no farmacopeico de dos principios activos diferentes se dificulta su análisis ya que no existe un método adecuado para el control de calidad que requiere. (Delgado, 2017)

Generar un nuevo producto farmacéutico no farmacopeico tiene la dificultad de que no posee un método analítico establecido, es por ello que se debe desarrollar un método de análisis para conocer la calidad del producto terminado, cumpliendo con todos los parámetros establecidos por las guías oficiales. No obstante, se puede tomar como guía las farmacopeas ya existentes, para tener como base la metodología analítica de la materia prima e incluso del producto terminado farmacopeico para desarrollar la nueva metodología analítica. La seguridad y

conformidad de un producto depende de las técnicas analíticas que cuantifiquen el o los principios activos, es por ello que el desarrollo de un nuevo método analítico debe ser necesario ya que si este no es validado no garantizaría confiabilidad de los resultados. (Dastre, 2015)

El proceso de validación para un método analítico debe cumplir con los requerimientos necesarios de los estudios analíticos como lo es el reglamento de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos, ya que si no, estos no serían adecuados ni fiables, siendo documentados con datos del laboratorio, cumpliendo así con el aseguramiento de la calidad de los resultados futuros por parte del analista o laboratorista en próximos análisis de medicamentos o productos. Es importante que exista un registro de los datos estadísticos de los parámetros validados, así como también los criterios de aceptación de cada uno de ellos. Por esta razón, se debe realizar la validación de métodos analíticos, ya que si no, sería un método de análisis que no demuestra confiabilidad ni seguridad. (Galán, Fernández y Díaz, 2012)

Las industrias farmacéuticas se ven en la obligación de proporcionar la calidad y seguridad de los productos, para así demostrar la confiabilidad necesaria que se requiere, para que de esta manera se logren conseguir certificaciones que aprueben la calidad del producto, por medio de validaciones de los métodos de análisis, y así poder asegurar los datos obtenidos y que estos sean aprobados y autorizados. Se debe cumplir con las buenas prácticas de manufactura de laboratorio, así como también las de control de la calidad, ya que si no, el análisis del producto podría demostrar resultados que no son seguros ni confiables. (Samaniego y Arias, 2016)

Pregunta de investigación

¿Cuál es un método analítico que cumpla con los criterios de aceptación para la determinación cuantitativa de Pseudoefedrina Clorhidrato 120mg y Cetirizina Clorhidrato 5mg?

¿Cuál es el nivel de cumplimiento del método analítico al aplicar el protocolo de validación para la formulación de cápsulas de Pseudoefedrina Clorhidrato 120mg y Cetirizina Clorhidrato 5mg?

HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Los principios activos Pseudoefedrina clorhidrato 120mg y Cetirizina clorhidrato 5mg poseen un método de análisis adecuado para ser cuantificados de forma simultánea.

El método de análisis desarrollado para el análisis de contenido de principios activos en cápsulas de gelatina dura de Pseudoefedrina clorhidrato 120mg y Cetirizina clorhidrato 5mg cumple con criterios de validación según la categoría analítica.

OBJETIVOS

Objetivo General

Desarrollar un método analítico para el análisis de contenido de principios activos de cápsulas de gelatina dura de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg validándolo de acuerdo a los lineamientos establecidos por RTCA 11.03.39:06 en un producto de una industria farmacéutica nacional en el periodo comprendido del mes de mayo al mes de agosto del año 2020.

Objetivos Específicos

1. Diseñar un método de análisis no farmacopeico para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.
2. Elaborar un protocolo de validación para el método analítico de una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.
3. Validar la prueba de potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.

JUSTIFICACIÓN

La fase de desarrollo de nuevos métodos analíticos puede realizarse de varias maneras, como por ejemplo, hacer el ajuste de un método ya existente pero sin garantizar que la validación nueva será fiable o empezar a diseñar un método de análisis nuevo aplicando experiencias y conocimientos para idear un método final adecuado. Es por esto que desarrollar métodos analíticos es de suma importancia y de mucho cuidado para garantizar la veracidad de los resultados. (Morillas *et. al*, 2016)

Según el Reglamento Técnico Centroamericano de verificación de la calidad de productos farmacéuticos y medicamentos para uso humano (2007), los medicamentos para uso humano, necesitan ser verificados por control de calidad del laboratorio fabricante, estableciendo distintas pruebas para las diferentes formas farmacéuticas, en el caso de capsulas duras, cuentan con once diferentes pruebas que son necesarias de realizar para evaluar la calidad del medicamento, las cuales deben de cumplir con los parámetros obligatorios según sea indicado por las farmacopeas o por el fabricante del producto. Por lo que se evidencia que el control de calidad es fundamental en el desarrollo de medicamentos. (Ruiz, Estrada, Mayora, Rosa y Solórzano, 2007)

La validación de un método analítico se efectúa para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos en un análisis, es por ello que se emplean diversas pruebas para que la validación demuestre ser veraz, aplicando diferentes parámetros ya estandarizados para la validación de un medicamento. Desarrollar un método de análisis completamente nuevo demanda mucha dedicación y entrega, para poder proporcionar resultados fiables y adecuados para la finalidad que se requiere. Es por esto que, es de suma importancia ya que numerosas de las decisiones son tomadas con base a los resultados obtenidos de la validación de un método, así como también ser utilizado en control de calidad con seguridad. (Arias, 2014)

En los productos farmacéuticos, la evaluación de la calidad de los medicamentos requiere de una adecuada validación del método analítico para obtener con seguridad resultados precisos y exactos que se encuentren dentro de especificaciones. Todo procedimiento y prueba elaborada debe ser documentada, y esta documentación ser revisada y aprobada. Por lo que es de suma importancia que un método analítico sea validado correctamente para que obtenga el visto bueno

por la autoridad reguladora del país, para que el medicamento pueda salir al mercado dando seguridad y confianza de su efectividad. (Ruiz, Cuevas, Mayora, Rosa y Arguello, 2006)

Según el Reglamento Técnico Centroamericano sobre buenas prácticas de manufactura para productos farmacéuticos y medicamentos de uso humano de una industria farmacéutica (2014), las buenas prácticas de manufactura (BPM) en el desempeño de las pruebas de un método analítico son implementadas en la industria farmacéutica con el fin de que las producciones de los lotes sean uniformes para así garantizar calidad y eficacia, así como también utilizar las BPM en las pruebas analíticas para cumplir con los debidos procedimientos y demostrar la seguridad del producto. Se evidencia que para el aseguramiento de productos farmacéuticos es necesario el uso correcto de las buenas prácticas de manufactura, con el fin de asegurar la calidad, seguridad y eficacia de los productos que se fabrican.

ANTECEDENTES

En los años 80 con la ayuda de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) se crea la Red Panamericana de Laboratorios de Control de Calidad, en la cual para contar con el aseguramiento de medicamentos se establece una normativa de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y un Programa de Control Externo de Calidad. En el año 1996 la OPS junto a la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) realizan consultas a expertos sobre el desarrollo de estándares farmacopéicos teniendo como objetivo discutir la capacidad de los laboratorios de control de calidad, fue así como en el año 1997 en la primer Conferencia Panamericana para la Armonización Farmacéutica se reconoce que es necesario acreditar los laboratorios para el control analítico de muestras de medicamentos. Es así como para el 2005 se crea el Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio para fortalecer el desempeño del análisis de medicamentos garantizando la calidad de los resultados de las pruebas en los laboratorios farmacéuticos. (Red PARF, 2013)

En el año 1990 se realizó una primera reunión en la cual participaron entidades como la Asociación Americana de Científicos Farmacéuticos (AACF), la Federación Internacional de Farmacéuticos (FIF), Food and Drug Administration (FDA), donde fue planeada la validación de métodos de análisis, en busca de pactar requerimientos y procedimientos para la validación. Fue así como en el año 1999 la FDA publica la primera guía de validación de métodos para análisis como borrador, es ahí donde nace en el año 2000 una reunión planeada por la AACF y la FDA, con el objetivo de promover el borrador de la guía que la FDA había desarrollado y para el año 2001 se publica la primera guía oficial de validación de métodos analíticos. (González, Cabrera y Bermejo, 2015)

Antecedentes Internacionales

Silupu y Toribio (2011), en su tesis titulada “Validación del ensayo de disolución por cuantificación espectrofotométrica UV/VIS de Cetirizina en tabletas recubiertas 10mg”. El estudio se realizó con el objetivo de demostrar que el ensayo de disolución cumple con los parámetros de validación que son establecidos por la farmacopea americana. Para realizar la prueba de disolución se preparó un medio de HCl 0,1N, aparato de canastilla, a 100rpm y 37°C de temperatura, además como instrumento de medición para el método analítico un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 232nm, validando la precisión del método

por medio de 2 analistas y 2 laboratoristas diferentes en días distintos. Se obtiene resultados conformes en todos los aspectos requeridos de la validación. En conclusión, el ensayo de disolución demuestra resultados confiables para utilizarlo en control de calidad.

Blas (2012), en su tesis titulada “Determinación de factores que influyen en los parámetros de desempeño de la validación de un método analítico para la cuantificación de Cetirizina diclorhidrato mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)”. Realizó un estudio con el objetivo de demostrar que el método analítico por cromatografía líquida de alta resolución cumple con los parámetros de validación requeridos por la USP. Se tomó un HPLC como instrumento de medición a una longitud de onda de 232nm, validando aptitud del sistema, selectividad, linealidad, precisión y exactitud. Se obtiene que el resultado final de la validación cumple con todos los parámetros requeridos. En conclusión, el nuevo método analítico desarrollado demuestra confiabilidad para la utilización en control de calidad y que el factor que influye en el desempeño de la validación es el tipo de columna C18 que se utilice.

Sarmiento y Espinosa (2012), en su artículo denominado “Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de venlafaxina en suero mediante HPLC-UV”, el cual fue realizado con el objetivo de demostrar que el método analítico por HPLC-UV cumple con los requisitos de validación requeridos por la farmacopea americana. Se utilizó como instrumento de medición un cromatógrafo líquido de alta precisión a una longitud de onda de 229nm, ya que es un método altamente sensible, exacto, y reproducible para ser utilizado en validaciones de métodos analíticos. Se consiguió como resultado que la validación con respecto a exactitud, precisión, linealidad y reproductividad del método, son conformes con respecto a los parámetros requeridos por la USP. En conclusión, el método analítico indica ser confiable para ser utilizado en control de calidad del laboratorio colaborador.

Torralvo (2017), en su tesis titulada “Validación de un método químico analítico de HPLC en R”, cuyo estudio se realiza con el objetivo de validar un método químico analítico por medio de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para identificar y valorar un principio activo en R. Se tomaron datos de una validación anteriormente ejecutada de un principio activo por medio de HPLC y se le replicó todo el análisis estadístico en R, validando especificidad, selectividad, precisión, exactitud, linealidad y límite de detección y cuantificación. Se obtuvo como resultado que todas las pruebas de validación fueron conformes a lo requerido.

En conclusión, el método analítico evidencia que es confiable para identificar y valorar el principio activo en estudios de estabilidad y en control de calidad.

Marron y Rodríguez (2018), en su tesis titulada “Validación del método analítico para análisis de disolución y contenido de clorhidrato de Cetirizina en cápsulas blandas por cromatografía líquida de alta resolución”, cuyo estudio se realizó con el objetivo de validar el método analítico para el análisis de disolución y uniformidad de contenido de clorhidrato de Cetirizina en cápsulas blandas por HPLC. Se utilizó como instrumento de medición un HPLC a una longitud de onda de 230nm, en el cual se validaron aspectos como aptitud del sistema, selectividad, linealidad del sistema y del método, precisión, exactitud, rango o intervalo, robustez, estabilidad y prueba de filtros (solamente para análisis de disolución) para las pruebas de disolución y uniformidad de contenido. Se obtiene como resultado que todas las pruebas de validación realizadas para ambos métodos fueron conformes a lo establecido por la farmacopea. En conclusión, el método analítico de disolución y contenido para clorhidrato de cetirizina presenta confiabilidad ya que cumple con todos los parámetros requeridos.

Guarniz (2018), en su tesis titulada “Validación de un método analítico por HPLC para la cuantificación de Cetirizina diclorhidrato 5 mg/mL en solución oral gotas”. Realizó un estudio con el objetivo de validar cuantitativamente un método por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de cetirizina diclorhidrato en gotas orales. Se tomó como instrumento de análisis un HPLC a una longitud de onda de 231nm, cuantificando parámetros de validación como especificidad, exactitud, precisión, linealidad y robustez. Se alcanzó como resultado de la validación, que método analítico es conforme con todas las pruebas realizadas en el estudio del producto no farmacopeico. En conclusión, la solución oral en gotas de cetirizina diclorhidrato cumple con todos los parámetros de validación, lo que demuestra una gran confiabilidad del método.

Antecedentes Nacionales

Pérez y Rojas (2016), en su artículo titulado “Validación de un método para cuantificación de acetaminofén en tabletas de 500 mg por espectrofotometría ultravioleta para la prueba de uniformidad de contenido”. Se realizó el estudio con el objetivo de validar cuantitativamente el método analítico de uniformidad de contenido para tabletas de acetaminofén por medio de un espectrofotómetro ultravioleta. Se tomó exclusivamente un lote de tabletas

distribuidas por la CCSS, donde su método de análisis fue validado por parámetros como linealidad, repetibilidad, precisión intermedia y exactitud por medio de un espectrofotómetro ultravioleta a una longitud de onda de 242nm. Se obtuvo como resultado que el método analítico es adecuado y conforme, ya que de acuerdo a los resultados presenta linealidad, precisión y exactitud. En conclusión, el método de análisis para tabletas de acetaminofén 500mg es confiable para su utilización en control de calidad gracias a los resultados satisfactorios.

Murillo (2017), en su tesis titulada “Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta presión, para la determinación de Montelukast, 5mg tabletas, en la formulación de Gutis Ltda”, cuyo estudio se realizó con el objetivo de validar un método de análisis por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), para determinar Montelukast, 5mg tabletas fundamentado en la farmacopea británica 2017. Se tomó como instrumento de medición un HPLC, en el cual se validaron parámetros como especificidad ante la matriz, linealidad, estabilidad de las soluciones de prueba y precisión del sistema y del método, aplicadas para pruebas de valoración, uniformidad de contenido, disolución y sustancias relacionadas. Se consiguió como resultado que el método de análisis validado para todas las pruebas realizadas se encuentra conformes con respecto a lo requerido por la farmacopea británica. En conclusión, el método analítico validado muestra ser confiable y específico para la cuantificación de Montelukast para las pruebas de control de calidad.

PROYECCIONES

- Se pretende desarrollar un método de análisis para determinar cuantitativamente Pseudoefedrina Clorhidrato y Cetirizina Clorhidrato.
- Se pretende mostrar que el método analítico desarrollado cumpla adecuadamente con cada prueba que se realice para determinar cada principio activo.
- Se proyecta determinar los parámetros de una validación para cuantificar dos principios activos.
- Se desea evidenciar que los parámetros de la validación se acepten según los estándares de calidad.
- Se espera aportar un nuevo método de análisis ya validado, para que sea utilizado en control de calidad de la empresa farmacéutica nacional.

LIMITACIONES

- Disponibilidad de equipos para realizar las pruebas.
- Tutor inicial no se encontraba en el lugar de pasantía.
- Disminución de jornada laboral debido a pandemia COVID-19.
- Dificultad para trasladarme por motivo de pandemia COVID-19.
- No se cuenta con un espacio de trabajo estable.
- No ingresa el pedido completo de estándar de un principio activo para realizar la validación de disolución.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Para la elaboración del marco teórico se procede a hacer uso de referencias bibliográficas superiores a 10 años de antigüedad, debido a que se cuentan con pocas fuentes de información en diversos temas.

INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Historia de la industria farmacéutica

En el siglo XIX en Europa se comienzan a lograr grandes avances con la química orgánica en la aplicación de la medicina, fue allí que se empiezan los nuevos descubrimientos para la elaboración de medicamentos, donde pasan de las extracciones tradicionales de principios activos por medio de plantas medicinales, a la síntesis orgánica y a aislar moléculas que poseían efectos terapéuticos. Constituyentes de especies vegetales fueron obtenidas con alta pureza y esto facilitaba el estudio de distintos componentes para la prevención y cura de enfermedades. (Godínez y Aceves, 2014)

De acuerdo con Godínez y Aceves (2014) las secuelas de la revolución industrial, dio paso a la introducción de maquinaria pesada para los procesos de manufactura de los productos farmacéuticos, por lo que se abre una gran puerta a la comercialización masiva de medicamentos o productos farmacéuticos, donde muchas personas involucradas en la investigación y el desarrollo de nuevos medicamentos, abandonaron dichas funciones para dedicarse a las grandes compañías que ya contaban con recursos tecnológicos y económicos para estas actividades a mayor escala.

Industria farmacéutica

Según Abrutzky, Bramuglia y Godio (2015) las industrias farmacéuticas se dedican a la fabricación, distribución y comercialización de medicamentos los cuales están asociados con la salud y con la necesidad de salvar la vida de las personas mostrando un nivel de supervivencia y bienestar tanto individual como social. Durante estos años, fuentes confiables ubicaban a la industria farmacéutica como la industria que más ganancias dejaba con relación a los activos que se reflejaban, por lo que además de beneficiarse ellas, beneficiaban también a las industrias que les proporcionaban las materias primas con las que producían los medicamentos.

Las industrias farmacéuticas llegaron a ofrecer un gran avance de la medicina mejorando los avances en la salud pública y desarrollos de nuevas tecnologías sanitarias, formando parte de

fundamental de la economía tanto social como productiva de países avanzados, generando así empleos a las personas y brindándoles ganancias. Es un sector con un rápido crecimiento y un volumen de negocios extremadamente alto, estando presente en procesos de globalización, mercados de bienes, manufacturas y servicios. (Iñesta y Oteo, 2011).

Muchos de los avances científicos para la creación de nuevos medicamentos en las industrias aceleran los descubrimientos para lograr una mayor actividad terapéutica y así garantizar a la persona que será beneficiada por ese producto y brindarle menos efectos secundarios, aumentando la especificidad del metabolito que hará el efecto, pero también produce una preocupación por la protección de cada trabajador de la industria ya sea su salud y su seguridad, esto por los equipos que se utilizan o por algunos químicos, por lo que es necesario todo el equipo de protección que sea necesaria. (Tait, 2012)

Según Gereffi (1983) para el año 1980, la producción mundial de medicamentos fue de 84000 millones de dólares, los cuales la mayoría estaban concentrados en países avanzados y contaban con casi el 70% de estas ganancias, donde le sigue la Unión Soviética, Europa Oriental y China con el 19% de las ganancias y los países apenas en desarrollo con un 11% de las ganancias en total. El consumo de productos farmacéuticos es mayor en países desarrollados desde los años ochenta, mientras que los países de tercer mundo son menores ya que dependían de importaciones. Dichas importaciones de los países desarrollados consistían en productos terminados o semiterminados, y no tanto de las materias primas o intermedias.

Montilla (2014) menciona que la industria farmacéutica con el pasar de los años y lo que ha ido avanzando, necesita personal altamente calificado en lo que se dedican, para lograr así desarrollar productos de muy alto nivel, para que demuestre confiabilidad al paciente aumentando la esperanza y la calidad de vida. Además, mejorar la comercialización de cada producto, el control general tanto sanitario como también la inspección de los medicamentos, ya que se tiende mucho a dar la falsificación de medicamentos y ventas ilegales de los mismos, por lo que la industria debe estar al tanto de lo que pueda suceder.

La principal característica que tiene la industria farmacéutica es a nivel social, la cual es una relación directa a una necesidad del ser humano, para que éste pueda gozar de una mejor calidad de vida, pero posee un alto grado de vigilancia y control a nivel del país en donde se comercialice, ya que se espera eficacia y seguridad para el paciente y que este también haga un uso racional del mismo. Es por esto que en muchos países existen reglas muy estrictas como la

elaboración y la importación de los medicamentos para así promover la utilización de productos de calidad. (PROCOMER, 2006)

Industria Farmacéutica en Costa Rica

El sector de la industria farmacéutica en Costa Rica ha ido en aumento en las producciones que realizan como también en exportaciones e importaciones a otros países especialmente a Centroamérica, no obstante a nivel regional tienen tanto convenios de proveer a farmacias comunitarias o privadas, así como su mayor fuente de ingreso como lo es La Caja Costarricense del Seguro Social que es el principal importador y consumidor de productos farmacéuticos en el país, abarcando para el año del documento un 75% de consumo y el restante 25% se distribuye en farmacias privadas. (Lao, Ruiz, Ortega y Ramírez, 2004)

Costa Rica cuenta con 77 laboratorios farmacéuticos los cuales la mayoría de estos se encuentran ubicados en el gran área metropolitana (GAM) contabilizándose sólo en San José el 54%, y los restantes ubicándose en Alajuela, Cartago y Heredia. Se pueden clasificar en dos tipos de industria, los laboratorios humanos que se dedican a fabricar productos para la salud y prevenir o controlar enfermedades, y los laboratorios que se encargan de la cosmética, donde fabrican productos para mejorar la imagen y estética de cuerpo humano. (Sánchez, Gutiérrez, Calderón y Duran, 2019)

Tabla 1. Cantidad de laboratorios activos en Costa Rica

Provincias	Cantidad de Laboratorios
San José	41
Alajuela	16
Cartago	10
Heredia	9
Limón	0
Puntarenas	0
Guanacaste	0

Fuente: Estudio del mercado privado de medicamentos a nivel detallista en Costa Rica, 2019

Ajún, 2013 indica que el mercado en Costa Rica es muy competitivo esto porque hay una muy baja diferencia entre los precios de cada producto que ofrecen, ya que los productos no son completamente exclusivos de un laboratorio porque ofrecen medicamentos de un mismo principio activo pero con diferente nombre comercial y por esta razón los pacientes tienen diversas opciones de donde pueden escoger, así como también el profesional encargado de prescribir o recomendar. Las industrias farmacéuticas nacionales no son innovadoras, si no que se dedican a desarrollar productos genéricos, los cuales se basan principalmente en producir anticonceptivos, antiinflamatorios, analgésicos y antialérgicos.

En Costa Rica el Ministerio de Salud es el que vela por los registros sanitarios de cada medicamento y todos los permisos que se requieren para la comercialización de un producto farmacéutico, ya sea de interés humano como también de interés cosmético, por lo que el Ministerio rige una serie de regulaciones muy estrictas en cuanto a la verificación de la calidad, seguridad y efectividad de cada producto, esto con el fin de ofrecer al consumidor la confiabilidad necesaria del producto, sin dejar de lado que no estamos exentos de que un problema con un producto pueda surgir. (Porrás y Vargas, 2015)

La industria farmacéutica en Costa Rica tiene un programa de buenas prácticas de manufactura, que constituye un factor que asegura que los medicamentos y productos que se producen sean uniformemente fabricados y bajo estándares definidos y controlados donde todas las empresas del país están en la obligación de seguirlas, como por ejemplo disponer de logística técnico-administrativa o personal debidamente entrenado y capacitado en la fabricación y manipulación de los productos para así ofrecer en todas las industrias nacionales productos de calidad. La demanda de estos productos farmacéuticos está determinada por el tamaño, la composición y el crecimiento de la población, pero también influye de gran manera en la incidencia de enfermedades. (PROCOMER, 2006)

Empresa Farmacéutica MEDIGRAY

La compañía farmacéutica nacional Medigray es una empresa que día a día lo que busca es atender las necesidades de la población, para principalmente velar por la salud de las personas de manera integral y ética para así hacer negocios competentes del mercado. Es una empresa la cual brinda sus servicios y productos a nivel nacional tanto público como lo es la CCSS así como

también a nivel privado, además de internacionalmente especialmente Centroamérica. (MEDIGRAY, 2015)

Misión

Desarrollar, producir y comercializar medicamentos y cosméticos diferenciados con valor, mediante un vínculo de amistad y confianza, para lograr la satisfacción y el crecimiento de nuestros clientes, colaboradores y accionistas.

Visión

Contribuir significativamente con la salud en América.

Papel del Farmacéutico en la Industria Farmacéutica

El farmacéutico en una industria farmacéutica cuenta con variedad de roles a cumplir, como lo es el desarrollar y producir medicamentos en sus diferentes formas farmacéuticas estériles y no estériles, el aseguramiento de la calidad de los medicamentos, velar por el cumplimiento de las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). El farmacéutico se encuentra para servir a la comunidad, esto lleva a dar una solución a un problema o necesidad que tiene la sociedad, además el farmacéutico tiene una gran responsabilidad para aprobar o rechazar, según proceda, las materias primas, los materiales de acondicionamiento, los productos intermedios, productos a granel y productos terminados y también, para autorizar la puesta en el mercado de cada lote de medicamentos, certificada su conformidad y formalizada su garantía de calidad mediante documentos y registros adecuados. (Del Río, 2015)

Investigación y Desarrollo

El departamento de Investigación y Desarrollo (I+D) es el encargado de la creación y elaboración de nuevos medicamentos o productos farmacéuticos, esto para generar mayor conocimiento sobre la enfermedad tratante y así aumentar su adherencia a los tratamientos desarrollados. “La I+D de nuevas drogas es un proceso largo y costoso en donde por cada 5000 a 10 000 nuevos compuestos que ingresan a las pruebas preclínicas, solo uno es aprobado”. (Bayona y Fajardo, 2012)

La investigación y el desarrollo de medicamentos es patrocinado por la empresa farmacéutica donde se lleve a cabo el proyecto, la cual tiene interés de ofrecer productos de la más alta calidad, así como también teniendo en cuenta intereses económicos de comercializar en gran cantidad. Se ha notado que la innovación científica para nuevos medicamentos ha estado disminuida y que las prioridades de investigaciones están siendo condicionadas por los productos

que en el momentos están siendo de mayor venta o más buscados por los pacientes, esto con el fin de generar mayores competencias en el mercado y más oportunidades de comercialización. (Páez, 2011)

Desde hace años atrás como lo menciona Granda (2005) investigación y desarrollo son conceptos que muchas veces superan el valor real de su palabra y significado para ser convertidas en monedas de cambio a nivel mundial, no dejando de lado que es uno de los sectores que deben aportar un gran esfuerzo de investigación, ya sea creando moléculas nuevas para la producción de medicamentos originales o generando ya sean medicamentos genéricos o similares, esto con el fin de dar valor a la protección o sanación de la salud.

Cada compañía farmacéutica ha mejorado con la tecnología con el fin de valorar nuevos fármacos, pero se nota que año con año las innovaciones en medicamentos han declinado. Se tiene un punto de vista optimista que señala que los pocos fármacos que salen al mercado aprobados son mejores esto porque su desarrollo está basado estrictamente en los criterios científicos, de ética y regulatorios que se rigen en los ensayos clínicos. Es por esta razón que muchos laboratorios farmacéuticos no son innovadores ya que son estudios muy largos y no disponen del presupuesto necesario para realizarlo. (Magos y Lorenzana, 2009)

Investigación y desarrollo no es sólo la creación de nuevos medicamentos, sino también el desarrollo de nuevas estrategias para mantenerse activo en el mercado, ya sea incorporando medicamentos genéricos o similares a los ya existentes o por otro lado, realizando modificaciones a un producto ya comercializado porque está presentando desajustes en su análisis. Al desarrollarlos se realizan estudios clínicos y la estadística indica que los países que realizan mayores estudios clínicos son Estados Unidos, Canadá y Europa, que contabilizan el 83% de estudios en el mundo, bien es cierto que se efectúan estudios para las cuatro fases de los análisis clínicos, pero la mayor parte de los recursos de I+D se destinan en la tercera fase, donde se enfocan en los ensayos hacia el paciente, sobre la seguridad y eficacia del medicamento en estudio. (BDO, 2013)

Control de Calidad

El control de calidad para productos farmacéuticos implica análisis repetitivos de muestras de los principios activos de productos farmacéuticos, en el cual se necesita un método analítico con el cual las personas encargadas de realizarlo sean capaces de determinar si el producto se encuentra dentro de especificaciones o no. Se encargan del control de muestreo,

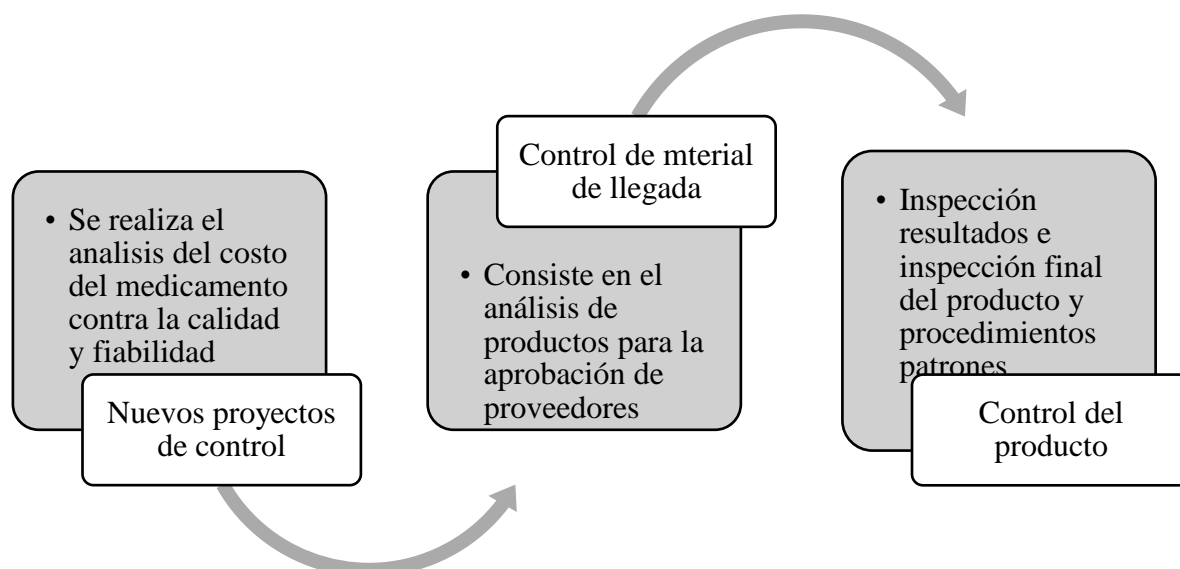
análisis de ingredientes farmacéuticos activos, excipientes, materiales de envase y/o productos farmacéuticos, ensayos de estabilidad, ensayos contra especificaciones y ensayos de investigación. (Organización Panamericana de la Salud, 2010)

El control de la calidad de medicamentos se presenta también como una necesidad de competitividad que relaciona la calidad y la innovación de productos farmacéuticos, por lo que se crea un modelo binominal denominado calidad-innovación, en el cual la calidad ofrece elementos que hace que el producto demuestre mayor confiabilidad y por otro lado, la innovación un factor de modificación de mercados y de crecimiento para la empresa. (García, Campoverde y Jaramillo, 2015)

Como lo menciona García, Campoverde y Jaramillo (2015) el control de calidad cumple un principio básico de las buenas prácticas de manufactura:

El control de calidad, debe ser integral de tal manera que asegure al consumidor que cada lote de un producto, esté de acuerdo a las especificaciones establecidas, que cada unidad cumpla con las indicaciones estipulas en la etiqueta y que los requisitos legales, concuerden con la calidad del producto, independientemente de las regulaciones adicionales que la empresa productora haya adoptado para cada caso o para todos (p. 97)

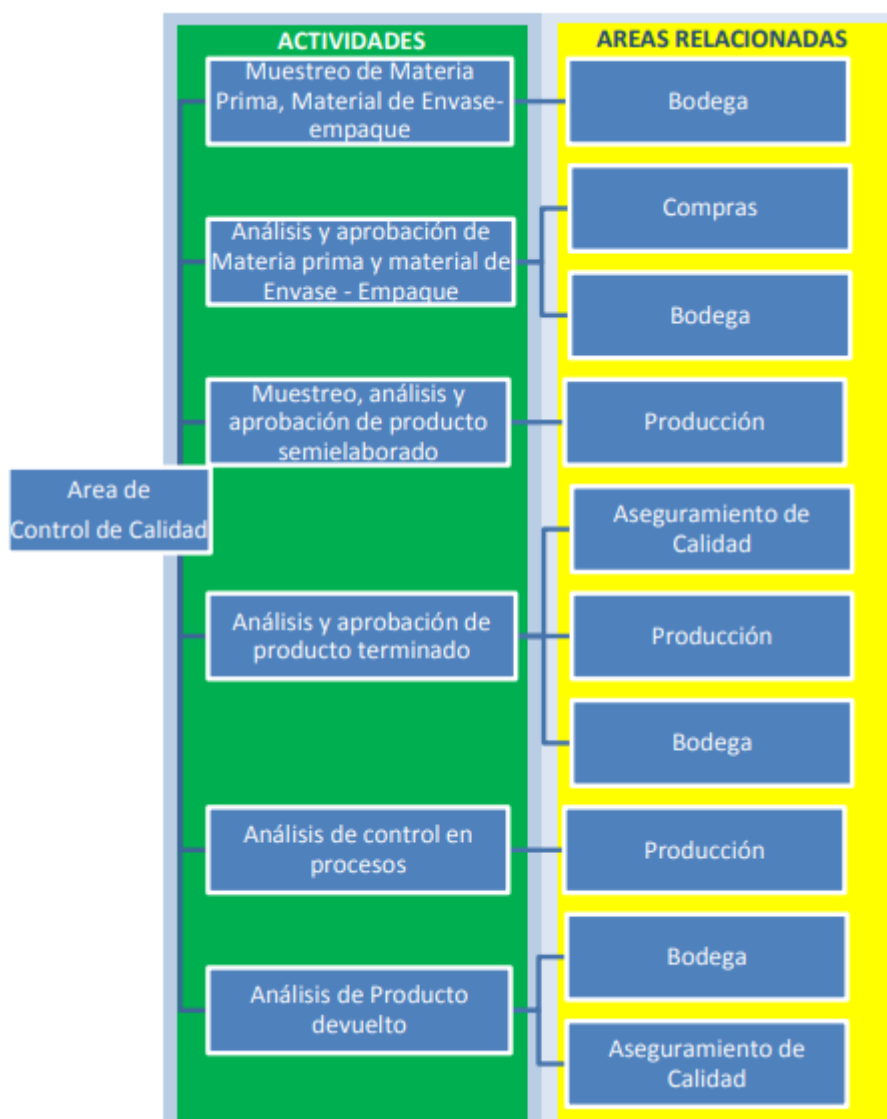
Figura 1. Etapas de control de la calidad de medicamentos



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en el artículo Control de calidad de los medicamentos (García, Campoverde y Jaramillo, 2015)

La calidad implica producir un producto con respecto a las especificaciones que se determinaron en la fase de desarrollo para hacer del producto final un producto con el mayor valor posible, satisfaciendo las expectativas del usuario, esto comprende que se conserven diferentes lotes de un mismo producto, garantizando la efectividad del mismo, al momento de su administración o aplicación y su estabilidad a través del tiempo. Además, la calidad de un medicamento se basa principalmente por el contenido del principio activo y de su pureza. (Daste, 2015)

Figura 2. Actividades que realiza el área de control de calidad



Fuente: (Daste, 2015, p. 23)

De acuerdo con Romero (2001) aunque para todos los sectores industriales la calidad es un parámetro fundamental, es aún mayor para la industria farmacéutica ya que se estaría relacionando con la salud de un paciente, y las consecuencias que el producto traería si no cumple con los estándares de calidad. El cumplimiento de la calidad de un producto farmacéutico puede atribuirse a que el producto sea completamente efectivo para el tratamiento de una determinada patología y que no se produzcan efectos no deseados por lo que se refiere a que sea seguro para la salud.

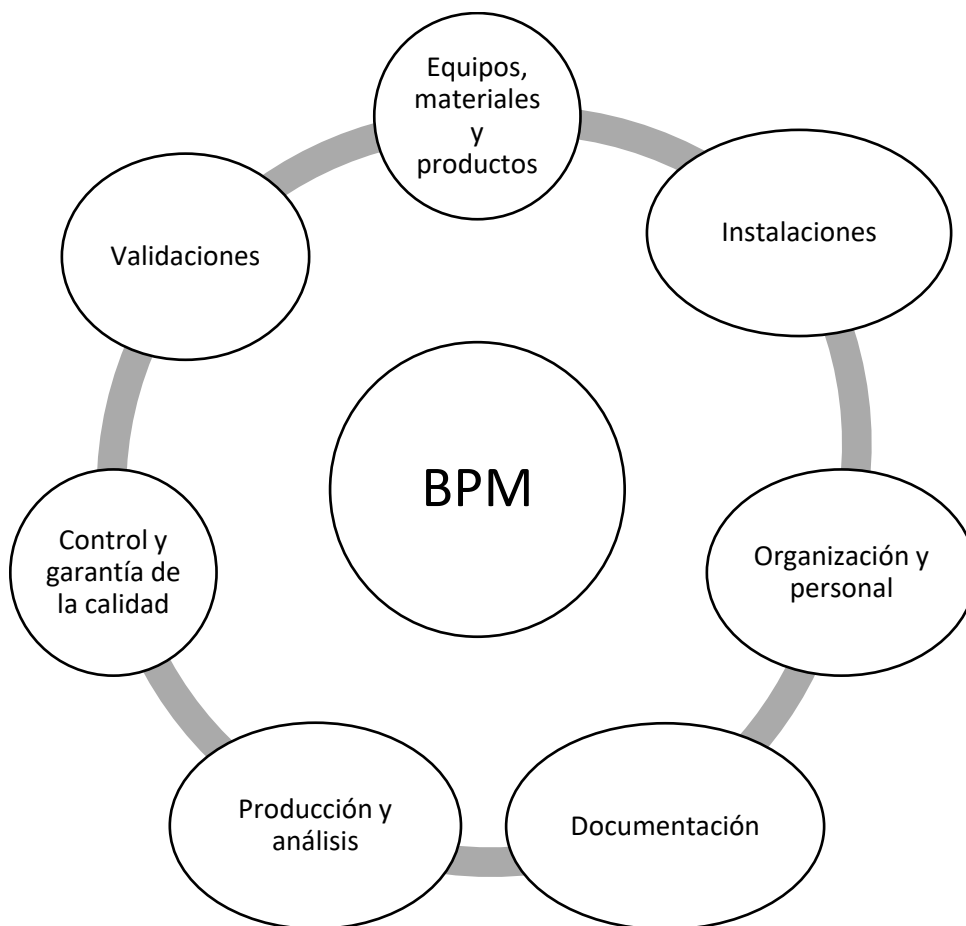
Buenas Prácticas de Manufactura

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) mantienen un grado muy alto de la garantía de la calidad tanto en el desarrollo, como la fabricación y control de producto farmacéutico, esto con el fin de mantener no solo la normativa para garantizar la salud del paciente sino también porque debe cumplir con los requerimientos de la producción para su futura comercialización, tanto a nivel nacional como internacional. Las BPM aseguran que todos los productos farmacéuticos sean producidos uniformemente y controlados según los estándares de calidad. (Dr. Quesada, 2008)

Las buenas prácticas de manufactura son la base de las operaciones de una industria farmacéutica para mantener garantizado su producto en calidad, eficacia y aceptación, no obstante también de cualquier empresa que desee ponerlas en práctica. Además se encargan de velar para que el almacenamiento de los productos para que se encuentren en condiciones óptimas y sanitarias. Además una norma muy importante es que toda persona involucrada con el producto farmacéutico, ya sea en el área de fabricación, control de calidad, bodega o transporte, se encuentre capacitada y actualizada sobre las buenas prácticas de manufactura. Las BPM exigen que todo quede registrado, es por esto que toda capacitación al personal de la compañía debe ser perfectamente registrada, ya que en cualquier auditoría, ya sea interna o externa, exijan estos informes. (Ing. Flores, 2010)

Áreas comprendidas por las Buenas Prácticas de Manufactura

Las áreas que comprenden las BPM son las siguientes:

Figura 3. Áreas comprendidas por las Buenas Prácticas de Manufactura

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en RTCA 11.03.42:07.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha venido impulsando las buenas prácticas de manufactura, esto para garantizar que los procesos de fabricación y hasta los de distribución de medicamentos, aseguren al comprador la calidad en todos los lotes que fueron y serán elaborados. Acoplarse a las buenas prácticas de manufactura ha sido un gran esfuerzo en cuanto a la inversión se refiere, ya que tiene como efecto secundario un aumento en los costos finales. (Zuleta y Junca, 2001)

Cumplir con las buenas prácticas de manufactura no es una tarea fácil, lo más difícil de las BPM es mantenerlas constantes y cumplirlas al pie de la letra, es por esto que se desarrollan manuales para lograr controlar que todo funcione, estos manuales poseen procedimientos y documentos necesarios para poder desempeñar las BPM con los criterios establecidos y así poder asegurar la calidad del medicamento y necesidades del consumidor. (Núñez, 2013)

Uno de los objetivos de las buenas prácticas de manufactura es proteger a las personas del consumo de medicamentos de dudosa o mala calidad, por lo que las BPM permiten asegurar que los productos farmacéuticos o medicamentos que están listos para su comercialización son de calidad y son adecuados para el uso indicado, pero si estas prácticas en el momento de la distribución no se cumplen, su calidad puede ser afectada, por lo que todo proceso debe ser de muchísimo cuidado. (Juarez, 2014)

FORMAS FARMACÉUTICAS

Importancia

Una forma farmacéutica es la forma física de cómo se presenta el producto farmacéutico, garantizando su liberación correspondiente al usuario para así tener una adecuada acción del fármaco, además de facilitar su vía de administración y dosificación. Tienen como objetivo proteger al fármaco de factores externos como lo es el polvo, la luz, la humedad; así como enmascarar sabores y olores y darle una mayor estabilidad al fármaco. (Dr. Bustamante, 2016)

La biodisponibilidad de un medicamento, que se refiere a como ingresan los metabolitos activos a la circulación sanguínea para alcanzar su lugar de acción, se ve afectada también por la forma farmacéutica en la cual se presente, por ejemplo, capsulas, tabletas, cremas, óvulos, etc., o por el método de fabricación y no solamente por factores anatómicos, fisiológico o enfermedades. Por lo que antes de administrar una forma farmacéutica se debe tomar en cuenta el tipo de paciente, la enfermedad, vía de administración, donde se ubica la patología y sitio de absorción, como parámetros básicos. (González, s.f)

Figura 4. Formas farmacéuticas con su lugar de absorción y estado físico

LUGAR DE ADMINISTRACIÓN	ESTADO FÍSICO	FORMA DE DOSIFICACIÓN
Oral	Sólido	Cápsulas, comprimidos, grageas, granulados
	Líquido	Soluciones orales, jarabes, elixires, suspensiones y emulsiones orales
Rectal	Sólido	Supositorios
	Líquido	Enemas
Parenteral	Sólido	Comprimidos de implantación
	Líquido	Soluciones inyectables, suspensiones y emulsiones inyectables
Piel y mucosas	Semisólido	Pomadas
	Líquido	Colirios, gotas nasales y gotas óticas
	Gas	Aerosoles

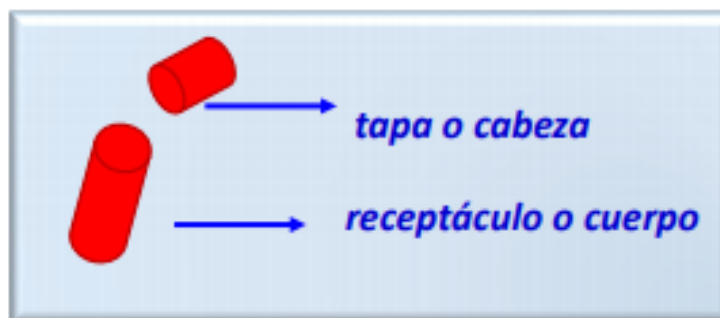
Fuente: (Vila, 2001, p. 17)

Los objetivos más habituales al momento de desarrollar una forma farmacéutica de un medicamento es hacer posible la administración del mismo, a través de la vía más fácil y segura según el uso que requiera, además de proteger los principios activos de las condiciones atmosféricas y brindar la mayor estabilidad al producto, y por otro lado, tener seguridad del lugar de acción que los metabolitos activos proporcionan para así tener en cuenta cuál es la forma que más se ajusta a la necesidad de lograr el efecto terapéutico esperado, ya sea que se pretenda una liberación inmediata o controlada. (Vila, 2001)

Cápsulas

Según González (2017), las cápsulas con formas farmacéuticas que se catalogan como sólidas, tienen la función principal de ser contenedores del compuesto farmacéutico, almacenando líquidos o polvos, tabletas, gránulos o pellets. El material de las cápsulas tiene que ser neutro y no debe ser compatible con el producto que lleva dentro, pero por el contrario debe ser compatible con los excipientes que contiene el medicamento. Las cápsulas de gelatina dura son las que poseen dos partes, el cuerpo que es donde se introduce el fármaco y la tapa que es la encargada del cierre de la cápsula.

Figura 5. Partes de una cápsula dura



Fuente: (Calvo, Esquisabel, Hernández e Igartua, 2015)

Ventajas

Como lo cita González en el año 2017 algunas de las ventajas de las cápsulas son las siguientes:

- Resistencia física
- Enmascara sabores y olores desagradables
- Protege al fármaco de agentes externos pero no de la humedad

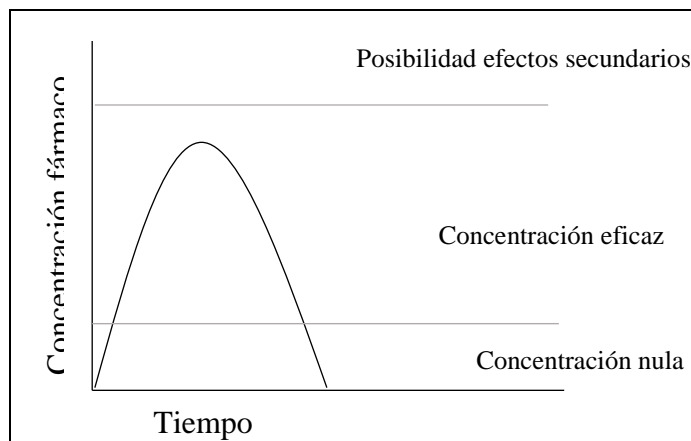
Inconvenientes

Como lo menciona González en el 2017 algunas de las ventajas de las cápsulas son las siguientes:

1. No se fraccionan
2. Producción más costosa
3. Condiciones de almacenamiento especiales

Cápsulas de Liberación Inmediata

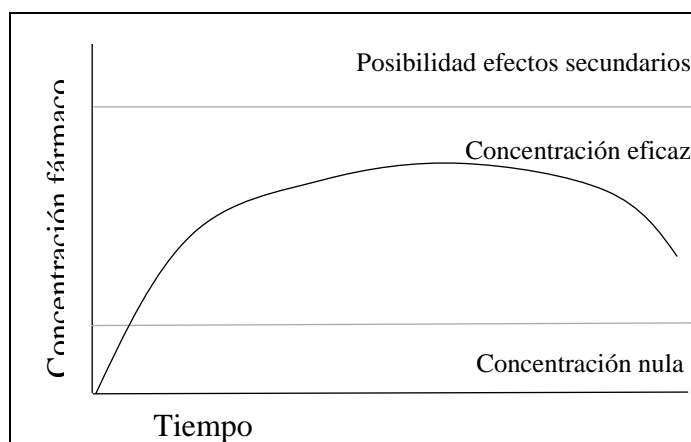
Las Cápsulas de Liberación Inmediata son las que al llegar a estar en contacto con los ácidos del estómago se desase su cubierta y libera el fármaco para que realice su acción farmacológica. Alrededor de los 30-45 minutos de administrado el medicamento, el fármaco inicia a hacer su función terapéutica, es por ello que hay que este tipo de forma farmacéutica resulta tener un perfil de seguridad-tolerancia menos favorable que las cápsulas de liberación modificada. (Martín, 2005)

Figura 6. Liberación inmediata

Fuente: Elaboración propia, 2020

Cápsulas de Liberación Prolongada

Según Martín (2005) las cápsulas de liberación prolongada es la forma farmacéutica diseñada de tal manera que se modifica la velocidad o el lugar de liberación del principio activo respecto a las formas farmacéuticas de liberación inmediata de un diferente o del mismo principio activo. Tiene un perfil de seguridad-tolerancia más favorable que las cápsulas de liberación inmediata. Se pueden utilizar cápsulas que posean un contenido de fármaco de liberación inmediata junto con liberación prolongada.

Figura 7. Liberación prolongada

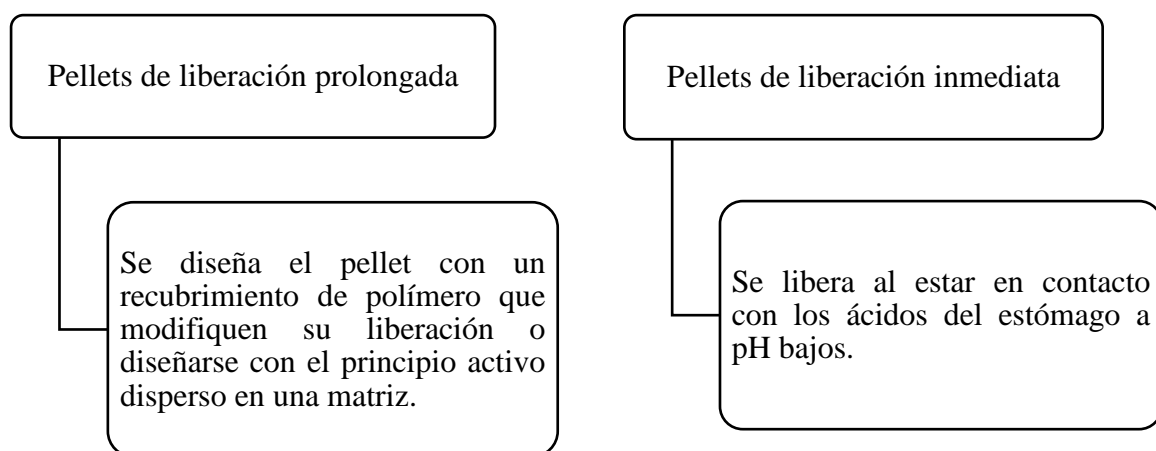
Fuente: Elaboración propia, 2020

Pellets

Los pellets son partículas pequeñas que parecen ser de forma esférica, son obtenidos por recubrimiento o por micro encapsulación, lo cual ayuda a mejorar la solubilidad que va estrechamente relacionada a la porosidad. Suelen ser utilizados cuando se buscan capsulas con un perfil de liberación modificada. Son sumamente buenos para el flujo, distribución homogénea y tamaño regular, que garantiza un llenado uniforme de las cápsulas. (Vila, 2001)

Los pellets son formas farmacéuticas que están conformadas por partículas pequeñas sólidas de forma uniforme, las que pueden ser esféricas o no ya que no es un requisito, son también conocidas como perlas. Esta forma farmacéutica tiene la ventaja de que se puede combinar con diferentes principios activos que posean incompatibilidad, ya sea física o química, por otro lado, los pellets pueden ser administrados de dos formas, vía oral o por medio de inyección como los implantes. (ARSA, 2014)

Figura 8. Tipos de pellets



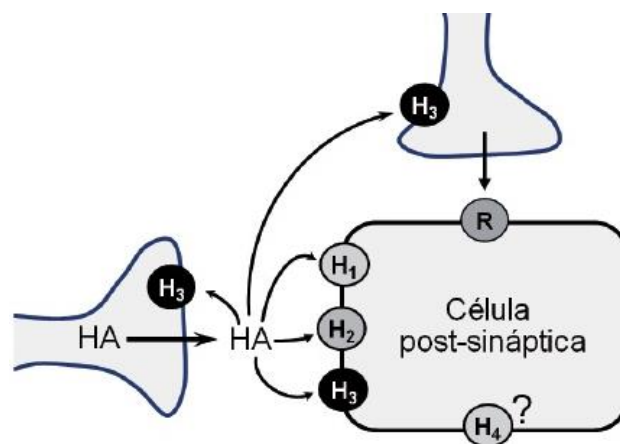
Fuente: Elaboración propia (2020), con base en la agencia de regulación sanitaria de Honduras, 2014.

ANTIISTAMÍNICOS Y DESCOGESTIONANTES

La histamina es una amina que es derivada del imidazol, el cual es encontrado en las mucosas tanto de tracto respiratorio como del tracto gastrointestinal, encontrándose mayormente en los mastocitos que se encuentran en los tejidos de forma inactiva, por lo que al producirse un estímulo como lo es un daño en el epitelio que puede ser por acción de toxinas, la histamina se libera y produce de inmediato una dilatación de los vasos sanguíneos, por lo que se va a provocar un edema por extravasación de líquidos y proteínas plasmáticas. (Benedí, 2005)

Se han identificado tres tipos de receptores para la histamina los cuales son: H₁, H₂ y H₃. Al respecto Benedí (2005) menciona que: “Los tipos H₁ y H₂ son los responsables, fundamentalmente, de la mayor parte de las acciones histamínicas conocidas, mientras que el H₃ tiene un papel esencialmente modulador de la liberación de histamina” (p. 54). Los H₁ se encargan de la contracción del músculo liso tanto de las vías respiratorias como del tracto intestinal, los H₂ estimulan la secreción de ácido clorhídrico y pepsina, encontrándose en el útero, cerebro y mucosa gástrica y H₃ se hayan en pequeña proporción en tejidos periféricos, no obstante también en pulmón, estómago, intestino y páncreas, el cual disminuye la liberación de neurotransmisores. (Bendí, 2005)

Figura 9. Localización celular de los receptores de histamina en SNC como H₃



Fuente: (Aquino y Arias, 2012)

De acuerdo con Andrés, Corominas, Llop y Lleontart (2019) los antihistamínicos de los receptores H₁ son los medicamentos más utilizados como tratamiento de enfermedades alérgicas, existen los de primera y segunda generación, sin embargo se recomienda los de segunda generación si la administración es vía oral, ya que posee una acción más selectiva por los receptores H₁ y una menor liposolubilidad por lo que la distribución a nivel de sistema nervioso central (SNC) ya que es limitada.

Según Benedí y Romero (2006) los descongestionantes nasales actúan en:

Los descongestivos nasales actúan estimulando los receptores adrenérgicos alfa del músculo liso de la pared vascular, provocando una vasoconstricción local y, por tanto, una disminución del edema nasal; no tienen efecto sobre los estornudos, el picor o la rinorrea.

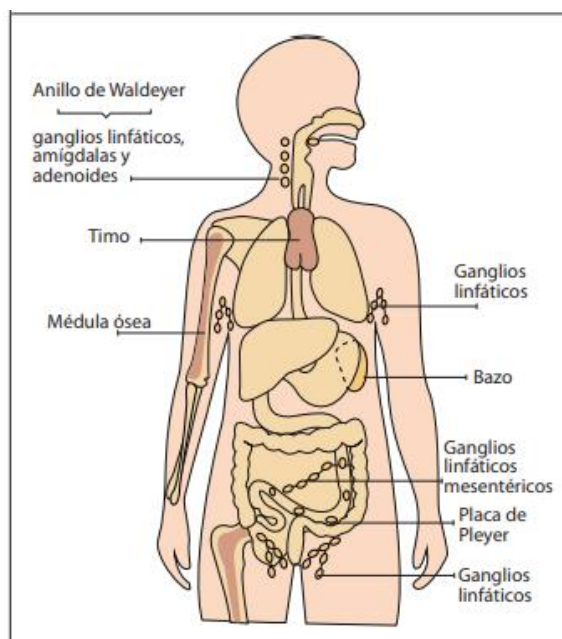
Suelen utilizarse en formulaciones tópicas (cremas, pomadas, gotas y nebulizadores), aunque también existen preparados orales (p. 59).

Existen dos tipos de descongestionantes nasales: las aminas simpaticomiméticos que se refiere a la fenilefrina, principalmente son los α_1 –agonista y por otro lado a los imidazoles más conocidos como oximetazolina, principalmente son los α_2 –agonistas. Aunque la sensibilidad en el tejido venoso es para ambos fármacos, los vasos de resistencia o sea las arterias son predominantemente α_2 – sensibles. (Benedí y Romero, 2006)

Enfermedades alérgicas

El sistema inmune tiene dos funciones principales las cuales se basan en el reconocimiento de lo que es propio del cuerpo y lo que forma parte del organismo, además de identificar lo que es extraño y perjudicial y su otra función es la defensa, a ataques tanto del exterior como virus y bacterias, como del interior como tumores. Por lo que, el sistema inmunitario debe reaccionar a aproximadamente 10^9 diferentes tipos de antígenos, pero por otro lado el sistema es capaz de reconocer rápidamente una segunda exposición a un antígeno específico el cual había generado anteriormente. (Dr. Zubeldia, Dra. Baeza, Dr. Jáuregui, Dr. Senent, 2012)

Figura 10. Distribución del sistema inmunitario



Fuente: (Dr. Zubeldia *et al.*, 2012, p. 52)

A pesar de que las alergias suelen ser muy frecuentes y causan síntomas de los que la mayoría de personas conocen, es realmente desconocida, ya que es muy difícil determinar donde se localiza la alteración que la desencadena, por lo que en una enfermedad alérgica lo que se altera es el sistema inmune. Con respecto al Dr. Zubeldia *et al.* (2012) “Como consecuencia de esta alteración del sistema inmune, y al encontrarse distribuido por todo el organismo, las enfermedades alérgicas pueden producir síntomas en cualquier parte del cuerpo aunque sean más frecuentes los problemas respiratorios, digestivos o de piel” (p. 52).

De acuerdo con Restrepo (2015) la hipersensibilidad se divide en cuatro tipos los cuales corresponden a los siguientes:

Tabla 2. Tipos de reacciones de hipersensibilidad

Tipo I	Hipersensibilidad inmediata (15 minutos - 30 minutos)	Ya la persona fue sensibilizada, Posteriormente, ante un nuevo contacto, se genera rápidamente la liberación de varios mediadores inflamatorios. Mediado por inmunoglobulina IgE.
Tipo II	Hipersensibilidad citotóxica (Minutos a horas)	Se da cuando un anticuerpo dirigido a antígenos en una membrana celular, activa el complemento. Mediado por inmunoglobulina IgG e inmunoglobulina IgM.
Tipo III	Hipersensibilidad del complejo inmune (3-8 horas hasta semanas)	Complejo antígeno-anticuerpo induce una respuesta inflamatoria tisular, al depositarse en esos lugares. Está mediado por Ig G e Ig M.
Tipo IV	Hipersensibilidad tardía o mediada por células (2 días - 3 días o más)	Es función de linfocitos T (LT), tanto linfocitos T citotóxicos (LTC), como linfocitos T cooperadores (LTh) 1, no de anticuerpos. Los LTh, sensibilizados por Ag, liberan

		linfoquinas hasta el segundo contacto con el mismo Ag, que inducen inflamación y activan los macrófagos.
--	--	--

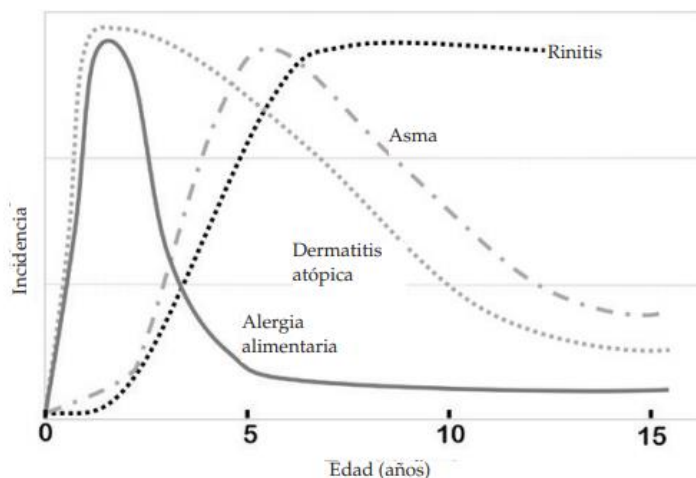
Fuente: Elaboración propia (2020), con base a (Restrepo, 2015, p. 72)

Las enfermedades alérgicas es el resultado de la combinación entre la predisposición genética y/o factores ambientales como por ejemplo la exposición a alérgenos, tabaco, animales, dieta, estrés, bacterias, componentes microbianos, que pudieron intervenir desde la vida intrauterina o en el transcurso de la infancia, esto sin omitir que a lo largo de la vida se pueden desarrollar alergias a diferentes factores como lo son las comidas. (Castro, Krause, Uauy y Casanello, 2016)

De acuerdo con Saranz *et al.* (2016) las enfermedades alérgicas son muy comunes y es una causa por la que los pacientes visitan los consultorios médicos, desde niños, jóvenes y adultos:

Las enfermedades alérgicas constituyen las patologías crónicas más frecuentes, con elevados costos sanitarios para el diagnóstico y tratamiento y afectación de la calidad de vida. En Latinoamérica, aproximadamente el 20% de los niños y adolescentes padece alguna patología de origen alérgico y se observa una tendencia creciente en su prevalencia (p. 278).

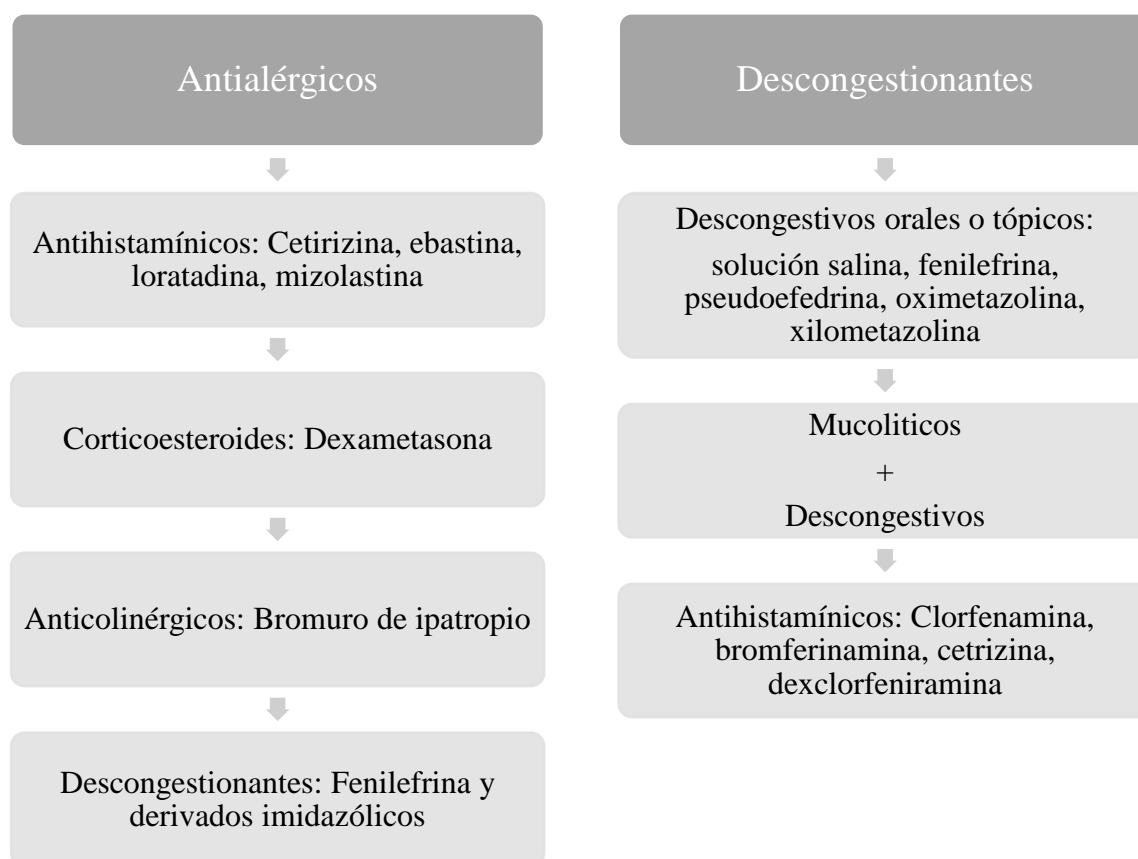
Figura 11. Incidencia de enfermedades alérgicas en el año 2010



Fuente: (Saranz *et al.*, 2016, p. 279)

Como primera vía de tratamiento farmacológico de las alergias se encuentran los antihistamínicos, los de primera generación causan somnolencia por lo que muchas veces son mayormente recomendados, los de segunda generación como lo son: cetirizina, ebastina, loratadina, mizolastina, utilizados por vía oral tienen efectos favorables sobre la rinorrea, los estornudos y el prurito nasal. Y en caso de congestión nasal, los descongestionantes como la fenilefrina o pseudoefedrina y derivados imidazólicos que ayudan a producir vasoconstricción de la mucosa, reduciendo la obstrucción. (Romero y Carrión, 2017)

Figura 12. Medicamentos antialérgicos y descongestionantes



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Romero y Carrión, 2017, p. 12) y (Delgado, 2013, p. 10)

Los antihistamínicos son eficientes para la disminución de prurito, estornudos y rinorrea, no obstante, tienen muy bajo efecto sobre la congestión nasal. Se habla de la sedación y disminución de la capacidad como efectos secundarios y peligrosos de los antihistamínicos de primera generación si no se toman bajo indicación médica o con recomendación farmacéutica, por lo que es mejor indicar según sea el objetivo los de segunda generación. (Dr. Mendoza y Dr. Mansilla, 2002)

Según los Dres. Mendoza y Mansilla (2002) se han realizado combinaciones en algunos medicamentos antihistamínicos junto con descongestionantes:

En los 5 últimos años se han realizado formulaciones con base a antihistamínicos de segunda generación no sedantes junto con descongestionantes alfa adrenérgicos que proveen beneficio casi inmediato pero de corta duración; sin embargo, al momento no existen estudios de seguridad con su uso en la población pediátrica (p. 52).

Pseudoefedrina Clorhidrato

La pseudoefedrina es una droga simpaticomimética, esteroisómero de la efedrina, muy usada en los preparados orales para aliviar la congestión nasal y casi siempre asociada a antihistamínicos. Es utilizado en cuadros catarrales por su acción descongestionante nasal. (Moreno, Cuesta, Figueroa, Umpiérrez, & Bombín, 2002) Según el Vidal Vademecum Español la pseudoefedrina clorhidrato posee las siguientes características:

Indicación

Alivio local y temporal de la congestión nasal asociada a rinitis, resfriado común y gripe para adultos y adolescentes mayores a los 12 años.

Mecanismo de acción

La pseudoefedrina tiene unos efectos similares a los de la efedrina, aunque su actividad vasoconstrictora y los efectos centrales son inferiores que los de ésta. Se comporta como agonista de los receptores alfa-1 adrenérgicos, dando lugar a una vasoconstricción de los vasos sanguíneos, incluidos los de la mucosa nasal, disminuyendo el contenido de sangre y la hinchazón de la mucosa, lo que produce un efecto descongestionante de las vías nasales y en menor medida de los receptores beta dando lugar a broncodilatación, disminuyendo la resistencia al flujo de aire.

Dosificación

Oral: Adultos y adolescentes mayores de 12 años pueden ingerir 30-60 mg/6 h (chicles) o 120 mg/12 h (comprimidos o cápsulas de liberación prolongada). Su dosis máxima alcanza los 240 mg/día. Intervalo entre dosis: 12 h. No usar con otros descongestivos.

Reacciones adversas

Síntomas de excitación del SNC incluidos: nerviosismo, inquietud, trastornos del sueño, ansiedad, temblor muscular; distorsión del gusto.

Interacciones

Efecto disminuido de: anticoagulantes (acenocumarol). Aumento severo de tensión arterial con: dihidroergotamina. Precaución con: antidepresivos tricíclicos. Monitorización cardíaca y de tensión arterial con: β -bloqueantes adrenérgicos, levodopa. Estimulación aditiva del SNC con: estimulantes del SNC (anfetaminas, xantinas). Aumenta el efecto con: hormonas tiroideas. Evitar con: IMAO.

Contraindicaciones

Hipersensibilidad a pseudoefedrina o a otros simpaticomiméticos. Pacientes con enfermedades cardiovasculares (enfermedad isquémica cardíaca, taquiarritmia e hipertensión arterial grave). Hipertiroidismo. Pacientes que estén tomando o hayan tomado IMAO en las 2 semanas precedentes o durante las 2 semanas posteriores a la interrupción de dicho tratamiento. Niños menores de 12 años.

Cetirizina Clorhidrato

La cetirizina clorhidrato inhibe la unión de la histamina a su receptor impidiéndose así, que la histamina actúe por lo que es catalogado como un antihistamínico de segunda generación, tratante de la alergia. (Ficha técnica AEMPS, 2020) Según el Vidal Vademecum Español la cetirizina clorhidrato posee las siguientes características:

Indicación

Alivia síntomas nasales y oculares de rinitis alérgica estacional y perenne, y síntomas de urticaria crónica idiopática, en adultos y niños mayores de 2 años.

Mecanismo de acción

Antagonista H1 selectivo. Inhibe la fase inicial de la reacción alérgica, y reduce la migración de células inflamatorias y la liberación de mediadores asociados a respuesta tardía.

Dosificación

Oral. Adultos y adolescentes mayores de 12 años: 10 mg 1 vez/día. Niños 6-12 años: 5 mg 2 veces/día o 10 mg 1 vez/día. Niños 2-6 años o menores de 30 kg: 2,5 mg 2 veces/día o 5 mg 1 vez/día.

Con insuficiencia renal (I.R): Adultos: I.R. moderada (Aclaramiento renal (Clcr) 30-49 ml/min): 5 mg 1 vez/día; I.R. grave (Clcr menor a 30 ml/min): 5 mg/48 h; niños: ajuste individual según Clcr, edad y peso.

Tabla 3. Característica farmacológica de la cetirizina para enfermedad alérgica

Presentación	Dosis ≥12 años	Dosis <12 años	Inicio acción (h)	Duración acción h)	Ajuste dosis
Gotas 10 g = 5 mg Solución oral 5 mg / 5 mL Comprimidos 10 mg	Vía oral: 10 mg / 24 h	Vía oral: 2-5 años 2,5 mg / 12 h 6-11 años 5 mg / 12 h	0,7	>24	Insuficiencia renal

Fuente: (Andrés, Corominas, Llop y Lleonart, 2019)

Reacciones adversas

Fatiga, puede causar somnolencia. Además, en adultos.: cefalea, mareo, sequedad de boca, dolor abdominal, faringitis, náuseas y en niños 6 meses-12 años: diarrea, rinitis.

Interacciones

No se han notificado ni interacciones farmacodinámicas ni farmacocinéticas significativas en los estudios de interacción fármaco-fármaco desarrollados. La absorción de cetirizina no se reduce con la comida, aunque la velocidad de absorción disminuye. (Ficha técnica AEMPS, 2020)

Tabla 4. Interacción entre cetirizina y otros fármacos

Metabolismo hepático	Interacciones farmacológicas	Fármacos con los que interaccionan	Efecto producido por la interacción
<40%	Poco probable	Alcohol, antidepresivos tricíclicos, barbitúricos u otros depresores del SNC	Potencien los efectos sedantes

Fuente: (Andrés, Corominas, Llop y Lleonart, 2019)

Contraindicaciones

Hipersensibilidad a cetirizina, hidroxizina u otro derivado piperazínico. Enfermedad renal terminal (Clcr menor a 10 ml/min).

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LA PSEUDOEFEDRINA CLORHIDRATO Y CETIRIZINA CLORHIDRATO

Pseudoefedrina Clorhidrato

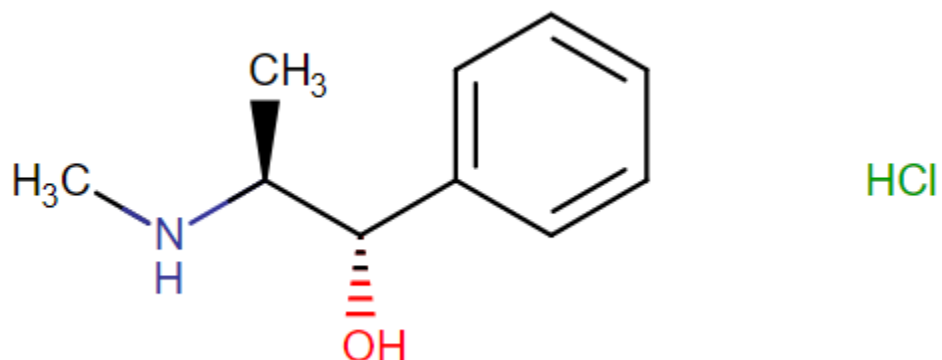
Según la base de datos DrugBank (Wishart *et al.* 2018) algunas propiedades fisicoquímicas de la pseudoefedrina clorhidrato son las siguientes:

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de la pseudoefedrina clorhidrato

Número CAS	345-78-8
Peso	201.693 g/mol
Fórmula química	C ₁₀ H ₁₆ ClNO
Nombre IUPAC	Clorhidrato de (1S, 2S) -2- (metilamino) -1-fenilpropan-1-ol
Solubilidad en agua	8,26 mg / ml
logP	1,32
LogS	-1,3
pka	13,89 y 9,52
Aceptores de hidrógeno	1
Donadores de hidrógeno	2
Área de superficie polar	32,26 Å ²

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Wishart *et al.* 2018)

Figura 13. Molécula de la pseudoefedrina clorhidrato



Fuente: (Wishart *et al.* 2018)

Cetirizina Clorhidrato

Según la base de datos DrugBank (Wishart *et al.* 2018) algunas propiedades fisicoquímicas de la cetirizina clorhidrato son las siguientes:

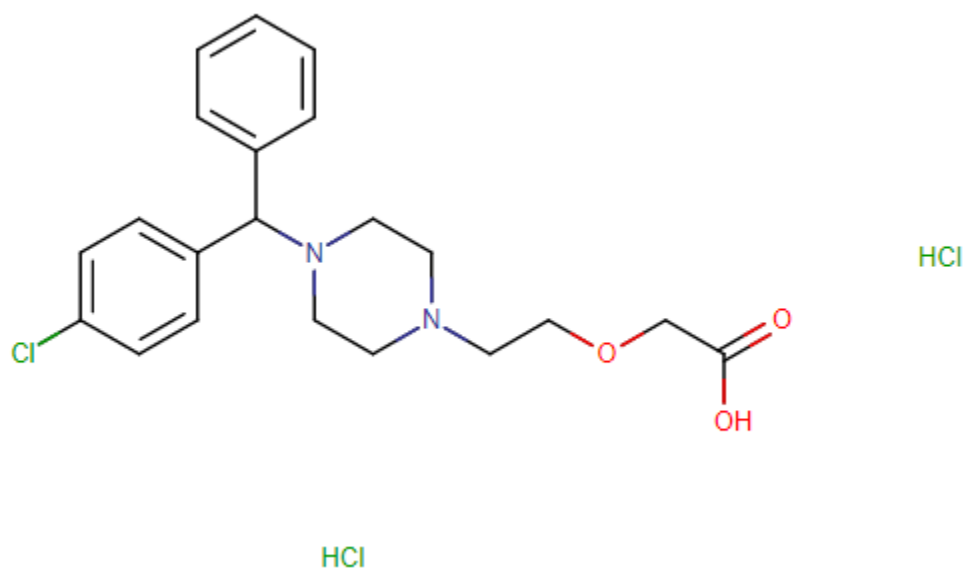
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de la cetirizina clorhidrato

Número CAS	83881-52-1
Peso	461.81 g/mol
Fórmula química	C ₂₁ H ₂₇ Cl ₃ N ₂ O ₃
Nombre IUPAC	Dihidrocloruro de ácido 2- (2- {4 - [(4-clorofenil) (fenil) metil] piperazin-1-il} etoxi) acético
Solubilidad en agua	0,0658 mg / ml
logP	0,86
logS	-3.8
pka	3,58 y 7,74

Aceptores de hidrógeno	5
Donadores de hidrógeno	1
Área de superficie polar	53,01 Å ²

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Wishart *et al.* 2018)

Figura 14. Molécula de la cetirizina clorhidrato



Fuente: (Wishart *et al.* 2018)

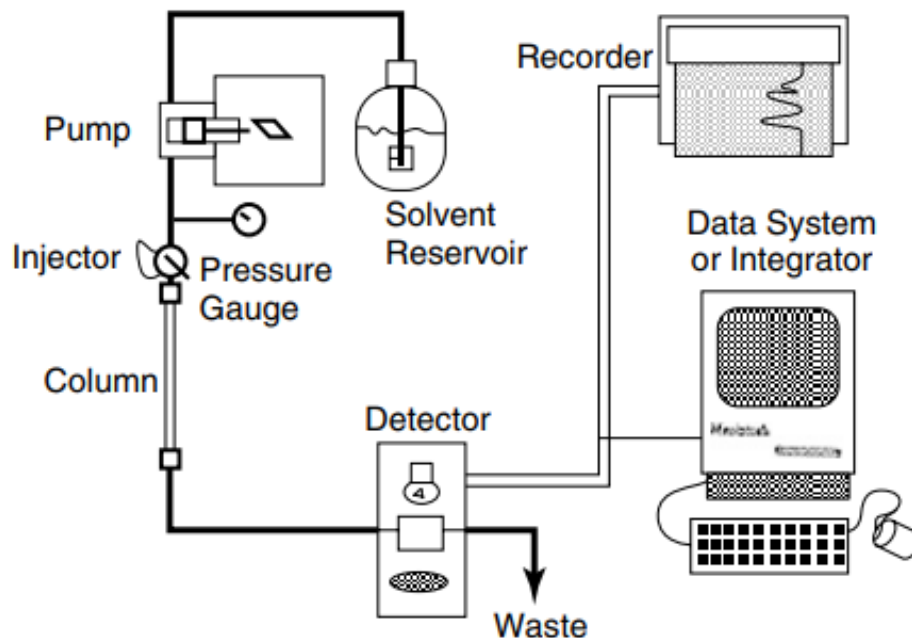
CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO DESEMPEÑO

Según García, Álvarez, Guevara y Castillo (2014) la cromatografía es un método utilizado para separar los componentes de una mezcla, es sensible, específico y reproducible, es una alternativa muy útil y utilizada para el estudio y cuantificación de un analito en específico como lo son los principios activos de un medicamento. También es muy utilizada para el control de la calidad ya sea para productos terminados como para materias primas, además de la bioquímica y química analítica.

Para Miller (2009), algunos ejemplos de aplicaciones de la cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) son: “separación y cuantificación de componentes individuales en mezclas complejas, análisis de compuestos nominalmente puros para trazas de impurezas y aislamiento de compuestos puros para sintéticos y/o fines de identificación” (p.1072). Además puede ser

utilizado para analizar productos ya sean líquidos o sólidos, de concentraciones usuales como de 10 μ L de una solución de 0,1-100 mg/mL, hasta concentraciones muy pequeñas como de 10⁻⁶ g.

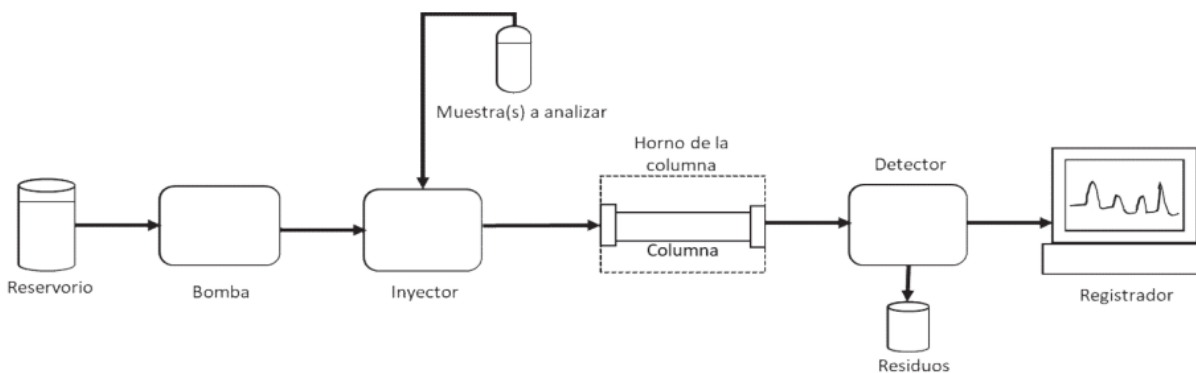
Figura 15. Instrumentación de un HPLC



Fuente: (Miller, 2009, p.1073)

Se puede lograr apreciar otro diagrama básico de un cromatógrafo líquido de alto rendimiento:

Figura 16. Diagrama de un HPLC



Fuente: (Suarez y Morales, 2018)

La cromatografía líquida de alto desempeño es un método muy utilizado gracias a su capacidad de separar analitos de diferente naturaleza que se encuentran presentes en una mezcla,

es por esto que se emplea en distintos ámbitos a nivel industrial como lo es la farmacéutica, la de alimentos, la bioquímica, química forense, medicina clínica y productos de la industria química, pero es por esto que es muy difícil tomar la decisión en el momento de diseñar un proceso de separación de un analito por este método. (Suarez y Morales, 2018)

Figura 17. Sistema cromatográfico



Fuente: (Agilent Technologies, 2006)

De acuerdo con García y Yusá (2016) el HPCL es un sistema que brinda gran variedad de funciones como lo son:

El desarrollo instrumental de HPLC no cesa en la búsqueda de mejor sensibilidad y selectividad en la detección, mayor rapidez en los análisis y necesidad de menor cantidad de muestras y disolventes. HPLC separa y determina analitos (solutos) orgánicos e inorgánicos en las muestras de prácticamente cualquier naturaleza, pues su principal ventaja y propiedad inherente es precisamente determinar cualquier compuesto disuelto en cualquier líquido (p. 5)

En el HPLC la fase móvil puede necesitar de la mezcla de líquidos ya que su composición es muy importante, porque compite activamente con la fase estacionaria por los analitos. El sistemas de suministro de disolventes posee válvulas que son las que dosifican los volúmenes de disolvente, por lo cual, un cromatógrafo puede tener hasta cuatro líneas para así permitir la mezcla de mayor cantidad de disolventes para la fase móvil si así se requiere. (Miller, 2009)

La fase móvil llega a la columna por medio de un sistema de bombeo de alta presión con una capacidad de hasta 40 MPa y velocidades de flujo para el análisis de 0,1-10 mL/min, además de tener la capacidad de poseer dos técnicas para administras la fase móvil, la primera es la isocrática que no cambia la cantidad de fase móvil desde que inicia el análisis hasta que este termine y la segunda es la técnica de gradiente en donde la disposición de la fase móvil de dos, tres o cuatro componentes se cambia de manera gradiente, escalonada o continua durante todo el análisis. (Miller, 2009)

De acuerdo con Miller (2009) las fases móviles siempre son utilizadas para el desarrollo de análisis y señala que algunos ejemplos son:

La fase móvil que comúnmente se utiliza en cromatografía líquida de alto desempeño incluye agua, soluciones buffer de pH acuosas diluidas, acetonitrilo, tetrahidrofurano, metanol, cloroformo, hexano y cloruro de metileno, así como mezclas miscibles compuestas por uno o más de estos solventes (p.1073).

Lo principal de un cromatógrafo es la columna, la cual es la encargada de realizar la separación de uno o más analitos. Las columnas más comunes poseen longitudes que van desde los 3 cm hasta los 25 cm y de 2 mm a 5 mm de diámetro, con tubos de acero inoxidable, con empaques de partículas pequeñas de tamaños de 3 a 50 μm que forman parte de la fase estacionaria y tienen diferentes propiedades físicas y químicas. (Miller, 2009)

Figura 18. Columna para HPLC



Fuente: (Agilent Technologies, 2015)

Los detectores de la cromatografía líquida de alto desempeño comúnmente se basan en el espectrofotómetro de absorción UV/Vis clásico, aunque hay diferentes tipos de detectores para

los demás cromatógrafos que existen como por ejemplo para la cromatografía de gases. Además los detectores más frecuentes para HPLC absorben la radiación a longitudes de onda que van desde los 190 nm hasta los 700 nm, mientras que también compuestos que no se absorben a esas longitudes pueden hacer reacción químicas y formar especies absorbentes. (Miller, 2009)

Según Miller (2009), existen tres tipos de detectores UV/Vis los cuales se detallan a continuación:

1. Detectores los cuales la longitud de onda es fija, o sea que operan en una sola longitud de onda, esto por lo general de 254 o 280 nm, donde un gran porcentaje de compuestos orgánicos exhibe al menos alguna absorbancia (p. 1075).
2. Los detectores de longitud de onda variable, los mismos operan a cualquier longitud de onda seleccionada que se encuentre entre 190 y 700 nm (p. 1075).
3. Detectores de matriz de fotodiodos, ellos pueden monitorizar toda la región de longitud de onda entre 190 y 700 nm (p. 1075)

Figura 19. Detectores de HPLC

Spectroscopic

Ultraviolet absorption (UV/Vis)

Fixed wavelength UV

Variable wavelength UV

Photodiode array (PDA), also called
diode array detector (DAD)

Fluorescence

Mass spectrometer (MS)

Electrical

Electrochemical detector (ECD);
amperometric

Conductivity detector

Other

Refractive index (RI)

Evaporative light scattering detector
(ELSD)

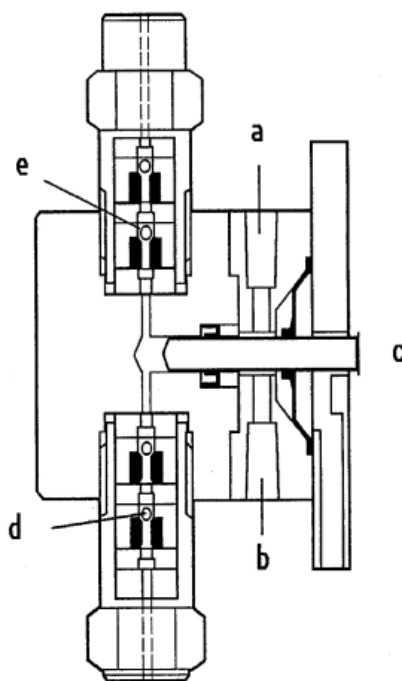
Fuente: (Miller, 2009, p. 1074)

Las bombas de HPLC son las encargadas de impulsar la fase móvil que vienen desde los reservorios y van hacia el inyector, para llegar hasta a columna, el caudal de trabajo es muy variable, hay bombas que tienen la capacidad de dar caudales de microlitos/minuto y para los

análisis convencionales de mililitros/minuto. Existen dos tipos de bombas, las de pistón o bombas reciprocantes que son las de uso más difundido y fáciles de adaptar a la rutina de laboratorio y las de desplazamiento continuo o de jeringa, estas no emiten pulsos en la entrega del solvente. (Quattrocchi, Abelaira y Laba, 1992)

Las bombas reciprocantes son muy utilizadas desde tiempos antiguos hasta la actualidad. Existen varios tipos de bombas reciprocantes que pueden ser de uno, dos o tres pistones, bomba tándem y la bomba a pistón y diafragma. El volumen de la cámara del pistón es pequeño, normalmente entre 35 y 400 μL , este volumen puede cambiar fácilmente la fase móvil y disminuye el tiempo que tarda para hacer un cambio en la composición del solvente si se está en un gradiente de elución. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

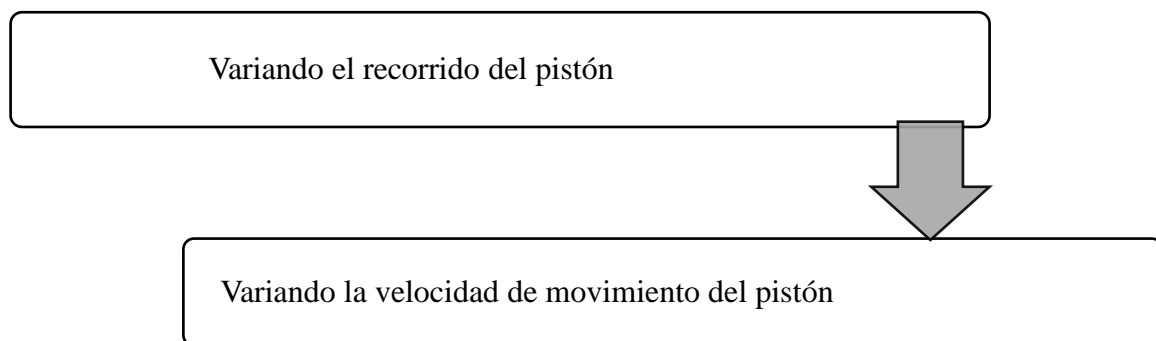
Figura 20. Bomba reciprocante. (a y b, entrada y salida del solvente de limpieza del pistón; c, pistón; d y e, válvulas de entrada y salida)



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 17)

Según Quattrocchi *et al.*, (1992) las bombas reciprocantes pueden modificar el caudal por los siguientes mecanismos:

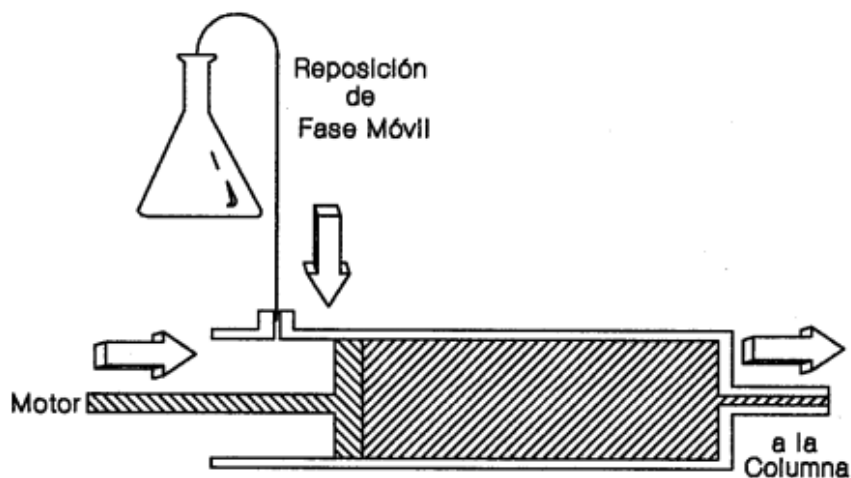
Figura 21. Mecanismos que permiten variar el caudal



Fuente: Elaboración propia (2020)

Las bombas jeringa son dispositivos de desplazamiento continuo, o sea que el solvente que se encuentra en un reservorio es impulsado hacia el inyector por medio de un movimiento continuo y hacia adelante del pistón, su principal ventaja es que es ausente de pulsos en su totalidad, ya que la cámara no necesita ser recargada, pero su gran desventaja está dada por el caudal o el tiempo que necesita para recargar la cámara cuando se vacía. Es el sistema ideal para la modalidad de microbore y capilar ya que el rango de caudal es muy bajo, se limita a pocos $\mu\text{L}/\text{min}$. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Figura 22. Bomba jeringa



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 20)

Tabla 7. Características de las bombas

Caudal	HPLC convencional va entre 0.1 y 10 mL/min y con presiones de hasta 6000 psi, y el caudal de un HPLC de microbore entre 0.01 a 0.5 mL/min
Exactitud en el caudal	Se puede observar en la determinación de los tiempos de retención de los analitos a cuantificar
Ruido	Son variaciones en el caudal de solvente entregado en intervalos cortos de tiempo. Son originados en la detección del caudal durante movimientos habituales de la bomba
Deriva	Cambio continuo ya sea positivo o negativo en la entrega de solvente que se produce en intervalos de tiempo muy largos (por ejemplo toda la noche)
Sistema de corte	Evita que excesos en la presión del sistema pueda dañar los componentes más sensibles como la columna o la celda de los detectores.

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992, pp. 15-16)

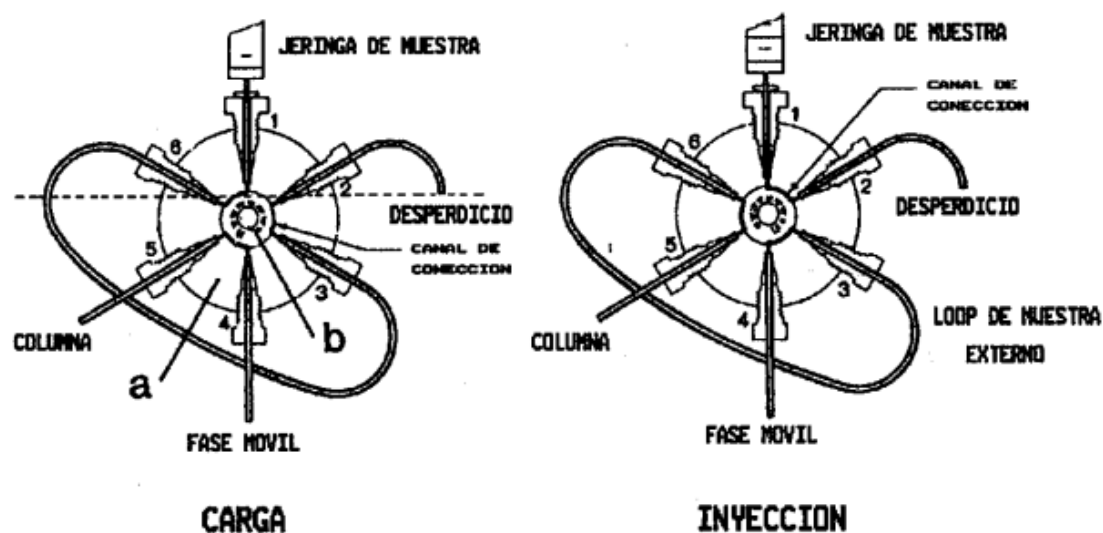
El inyector es el dispositivo encargado de introducir la muestra en solución sin interrumpir el caudal de solvente a través del sistema. En su totalidad los inyectores de HPLC son válvulas que guían al caudal hacia la columna, pasando o no por un loop en el cual se introduce la muestra o solución que se desea inyectar para ser analizada. Poseen un cuerpo fijo, un rotor con un sello que gira y un loop de muestra que se encuentra externo que contiene la muestra, este loop se puede intercambiar haciendo que a la cantidad de muestra inyectada se le pueda escoger una medida estándar que va entre los 5 y 2000 uL. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

De acuerdo con Quattrocchi *et al.*, (1992) un inyector debe cumplir con las siguientes características:

1. Debe ser fácil de operar
2. Debe ser inerte al ataque químico y capaz de soportar alta presiones

3. Debe ser preciso en cuanto a la cantidad de muestra introducida en el sistema
4. No debe provocar diluciones importantes de la solución inyectada
5. En algunos casos especiales puede requerirse que opere a altas temperaturas, por lo que puede ser necesario que algunos componentes sean de titanio o politetrafluoroetileno (PTFE).

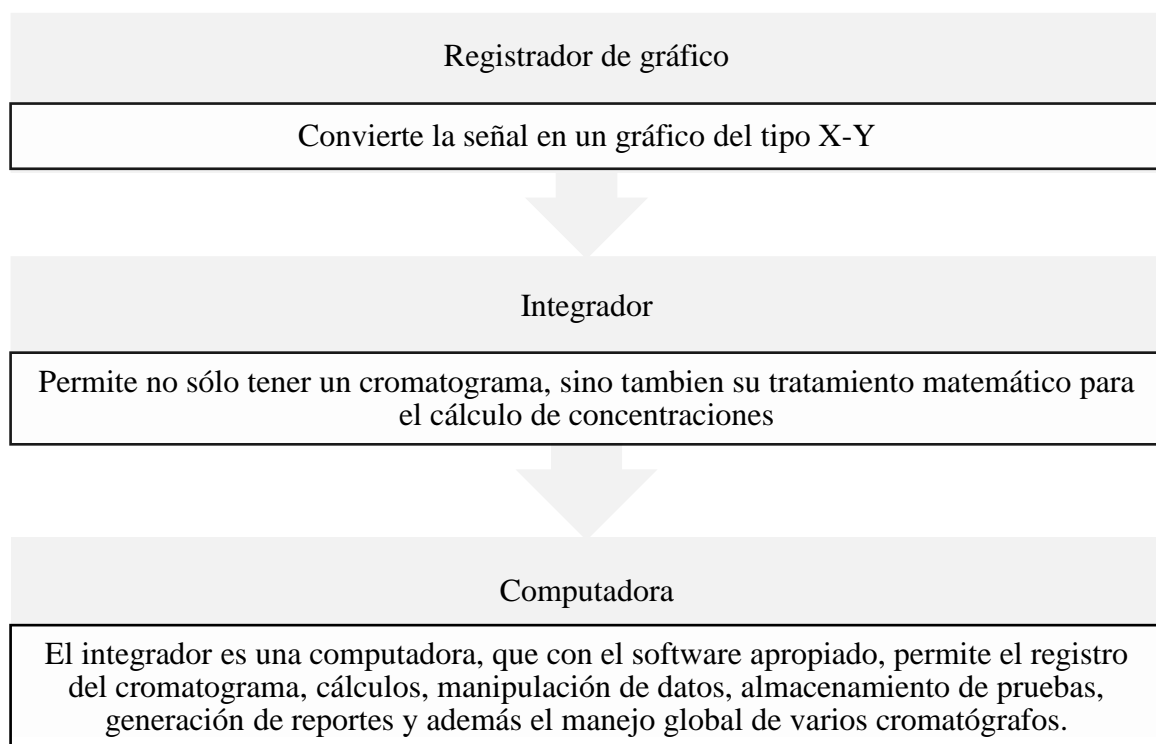
Figura 23. Válvula de inyección



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992j, p. 24)

Según Quattrocchi *et al.*, (1992) el ensayo cromatográfico debe contemplar la obtención de fracciones separadas de los componentes de la muestra y por otro lado, obtener un gráfico o cromatograma donde se pueda interpretar conclusiones tanto cualitativas como cuantitativas, por lo que dichos datos se consiguen gracias a un sistema de toma y procesamientos de datos que se basan en un registrador de gráficos, un integrador y una computadora.

Figura 24. Sistema de toma y procesamientos de datos de HPLC



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992)

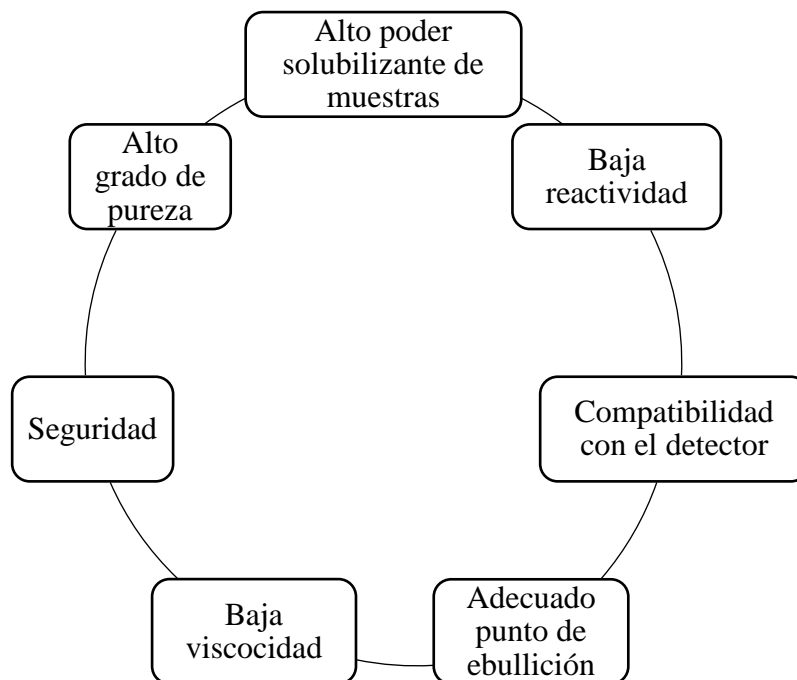
Esquivel y Leal (2004) hacen referencia a las características de los termostatos en cromatografía:

En muchas aplicaciones no se necesita un control estricto de la temperatura y las columnas trabajan a temperatura ambiente. Sin embargo, si se controla la temperatura de las columnas se obtienen mejores cromatogramas. La mayoría de los aparatos lleva hornos que controlan la temperatura en las columnas. Otra forma de controlar con precisión la temperatura es colocando las columnas en camisas con agua que provenga de un baño de temperatura constante (p. 44).

Los disolventes deben tener un tratamiento especial, los solventes que se contienen en los recipientes se equipan con un sistema especial para eliminar los gases disueltos como oxígeno y nitrógeno, los cuales pueden interferir en la formación de burbujas en el sistema de detección del analito. Se puede utilizar un desgasificador que consiste en un sistema de bombeo por vacío o sistemas de difusión que se encargan de deslizar gases que se encuentran disueltos fuera de la

solución por medio de burbujas de un gas inerte que posee una solubilidad baja. (Esquivel *et al.*, 2004)

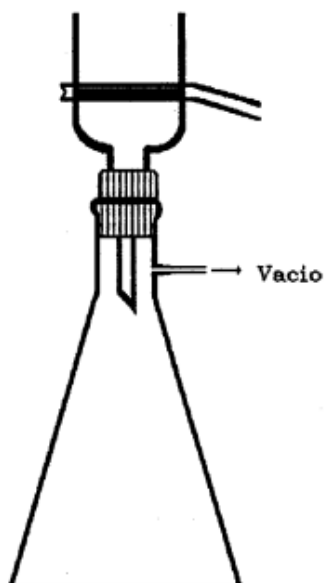
Figura 25. Propiedades de los solventes



Fuente: Elaboración propia (2020) con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992)

La filtración de las fases móviles es parte de un tratamiento para cuidar el adecuado funcionamiento del HPLC, ya que algunas partículas que se encuentren presentes en la fase móvil podrían bloquear los filtros y tuberías del sistema, esto produce un desgaste de sellos y problemas en el inyector y válvulas de entrada y salidas de las bombas. Es recomendable que la filtración se realice por medio de membranas de 0.45 o 0.22 μm en equipos adecuados como lo es un kitasato, además se deben filtrar las soluciones que se desean inyectar, con membranas similares a las empleadas para la fase móvil. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Figura 26. Ilustración de un equipo de filtración



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 83)

De acuerdo con Quattrocchi *et al.*, (1992) es de suma importancia conocer cuales membranas son las adecuadas para la filtración de una muestra:

Figura 27. Compatibilidad de la membrana de filtro con los solventes

Membrana	Tipo de solvente		
	Acuoso	Ac/Org	Orgánico
Celulosa regenerada			R
Ester de celulosa	R	NR	NR
Nitrato de celulosa	R	*	NR
Fluoruro de polivilideno	R	R	R
Nylon	R	R	R
Politetrafluor etileno (PTFE)	NR	NR	R
Teflon	NR	NR	R

R = recomendable NR = no recomendable

* = usar como máximo con 30 % de solvente orgánico

Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 83)

El proceso de extracción de un analito en una muestra sólida comprende principalmente la solubilidad que este posea en relación al solvente que sea utilizado, esto con ayuda de agitación ya sea manualmente, agitadores mecánicos o ultrasónicos. La extracción depende de las características del analito y matriz que lo rodea, el solvente, velocidad y tiempo de agitación. Esta

metodología comenzó a utilizarse para la extracción de sustancias orgánicas en los años ochenta. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Tabla 8. Características comunes para la extracción de analitos en columnas C8 y C18

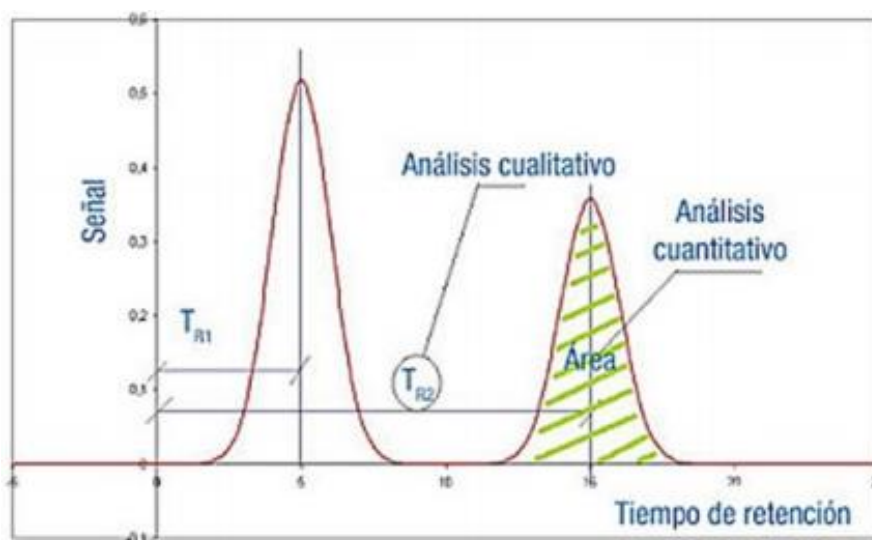
Material de relleno	Tipos de analitos	Activación de la columna	Solvente de elución
C8/C18	- Sustancias no polares - Sustancias ionizadas, en su forma no ionizada	- Metanol - Agua	MeOH/ACN o mezclas de estos con agua o buffers de pH adecuado

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 213)

Términos empleados en cromatografía

Con referencia a la Ing. Corzo (2019) los términos comúnmente utilizados en cromatografía son los siguientes:

1. Fase estacionaria: es una sustancia que se encuentra fija y es con la que interactúan de diferentes maneras los componentes de la muestra a analizar
2. Fase móvil: es uno o una mezcla de líquidos que fluyen a través del sistema cromatográfico arrastrando los solutos
3. Corrida cromatográfica: es la acción por la cual los componentes de la muestra son arrastrados por la fase móvil
4. Elución: fenómeno de desplazamiento de los compuestos de una mezcla, a través de la fase estacionaria, impulsados por la fase móvil
5. Eluyente: es la fase móvil que atraviesa la columna
6. Cromatograma: se refiere al gráfico que muestra el resultado de la corrida cromatográfica, se logra visualizar los componentes de la muestra analizada en forma de picos.

Figura 28. Cromatograma

Fuente: (Corzo, 2019, p. 14)

Por otro lado, según Ettre (2015) se pueden agregar términos fundamentales de cromatografía:

7. Muestra: hace referencia a un determinado número de componentes cuya separación se alcanza en el lecho cromatográfico cuando son arrastrados o eluidos por la fase móvil
8. Solute: son los componentes de una muestra
9. Disolvente: aunque el disolvente hace referencia a la fase móvil, pero el termino disolvente no es recomendable, estos son almacenados en reservorios

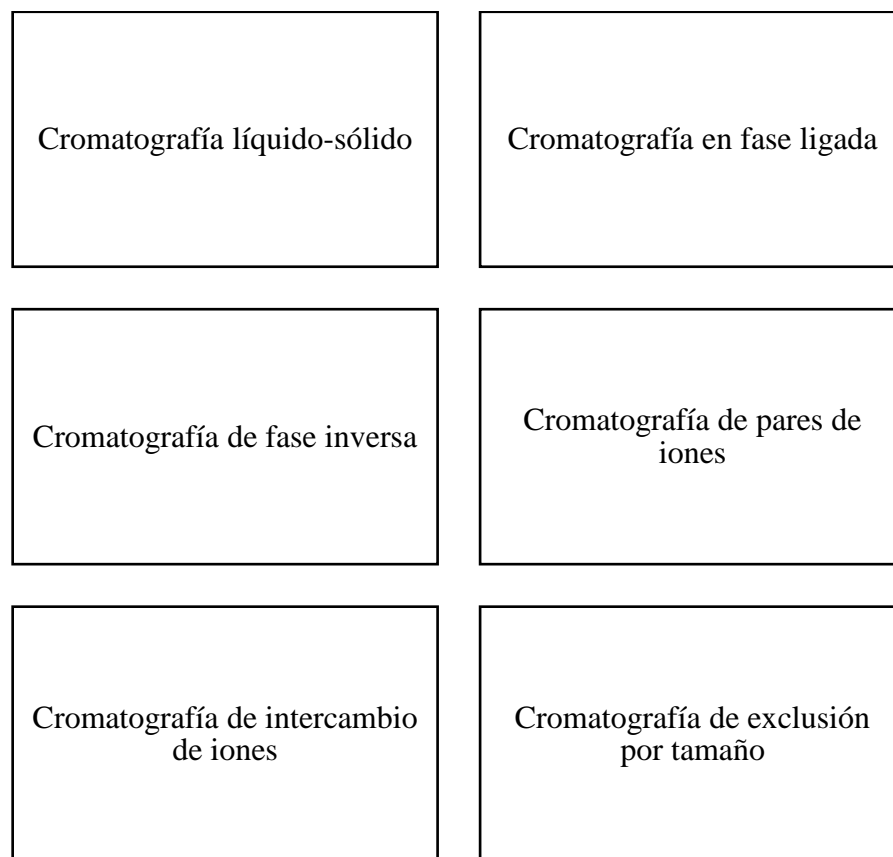
Figura 29. Reservorios sobre sistema de HPLC

Fuente: (García y Yusá, 2016, p. 23)

10. Pico: es la parte de un cromatograma que muestra la respuesta del detector cuando un compuesto es eluido de la columna
11. Platos teóricos (N): es un número que indica las prestaciones de la columna, las cuales dependen de la anchura del pico
12. Flujo: Es el volumen de fase móvil que pasa por la columna por unidad de tiempo, se mide a la salida de la columna a presión y temperatura.

Tipos HPLC

Figura 30. Tipos de cromatografía líquida de alto desempeño



Fuente: Elaboración propia (2020) con base a Miller, 2009

Según Miller (2009) existen distintos tipos de HPLC los cuales se basan en:

1. Cromatografía líquido-sólido: Es conocida también como como cromatografía de adsorción ya que se basa en un método de separación por medio de la adsorción. “Es el más antiguo, combina una fase estacionaria polar (sílice o alúmina) con una fase móvil no polar o ligeramente polar (ejemplo, heptano, hexano o pentano,

posiblemente mezclado con un disolvente más polar como cloruro de metileno, cloroformo o isopropanol)” (p. 1076).

2. Cromatografía en fase ligada: Se basa en que “una fase líquida se liga químicamente a un soporte sólido para convertirse en la fase estacionaria” (p. 1078). Tiene una ventaja que es que la fase estacionaria es estable y no es posible que suceda una eliminación química o física por parte de la fase móvil.
3. Cromatografía de fase inversa: Se basa en columnas no polares, donde la fase móvil que se utiliza es polar. “Típicamente, en la cromatografía de fase inversa o reversa, se usa un soporte hidrocarbonado, como metil-, octil- u octadecilsiloxano (ODS), con un MP compuesto de agua, metanol, acetonitrilo (ACN), tetrahidrofurano o una mezcla de algunos o todos de estos disolventes” (p. 1078)
4. Cromatografía de pares de iones: La técnica se basa en que la fase móvil contenga iones que se combinen con los que posea la muestra y así lograr pares de iones que se conviertan en neutros.

Quando los iones están presentes en las muestras analizadas por cromatografía de fase inversa, normalmente eluyen muy rápidamente (con poca o ninguna retención) porque no interactúan apreciablemente con el SP apolar. Como consecuencia, no están separados unos de otros. Una forma de remediar esta situación es agregar un contraión a la fase móvil y formar pares de iones que no estén cargados (p. 1079).

5. Cromatografía de intercambio de iones: Se basa en la separación de algunos compuestos que sean iónicos, orgánicos o inorgánicos, se realiza en fase estacionaria que contengan en su superficie sitios iónicos usando fases móviles acuosas que posean iones.
6. Cromatografía de exclusión por tamaño: Es utilizada para la separación de analitos en función de su tamaño físico. Posee dos clasificaciones:
 - a. Con fases móvil acuosa: Cromatografía de filtración en gel
 - b. Fase móvil no acuosa: Cromatografía de permeación en gel.

Principales usos

Los principales usos de una cromatografía líquida de alto desempeño utilizada en un laboratorio farmacéutico es que permite analizar y cuantificar simultáneamente los principios activos del medicamento, permite el estudio de numerosas muestras en un corto período de tiempo manteniendo un alto nivel de reproducibilidad y precisión, por otro lado es un método que permite diferenciar principios activos diferentes leyendo a distintas longitudes de onda cada uno. (García, G., Álvarez, M., Guevara, J., y Castillo, 2014)

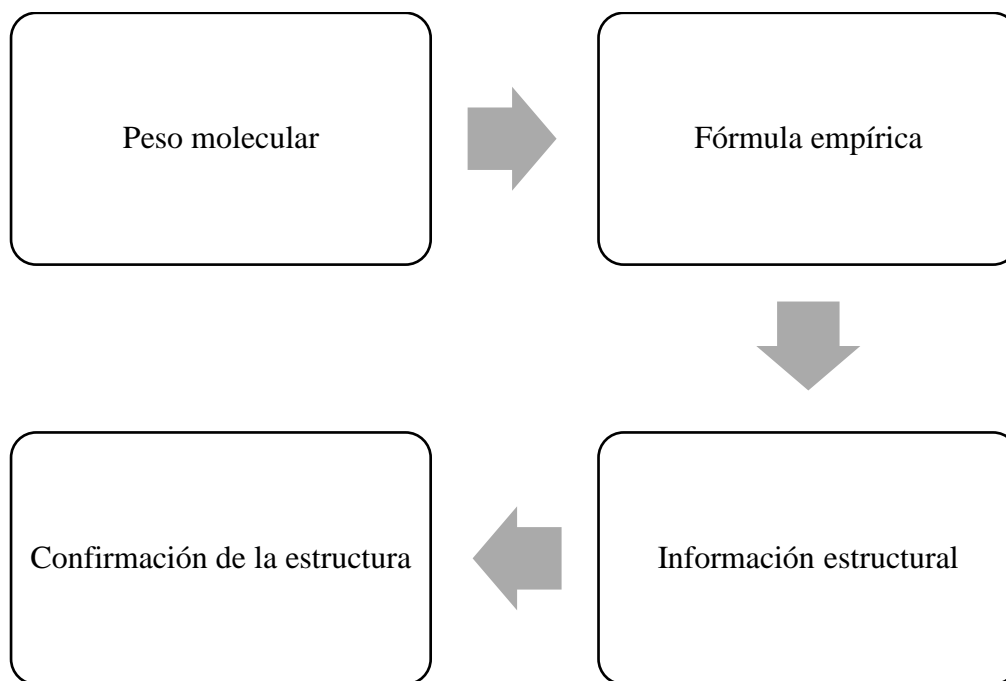
Aplicaciones de la cromatografía

Determinaciones cualitativas: datos de retención para la caracterización de la muestra

De acuerdo con Gomis (2008) la determinación cualitativa en datos de retención se refiere a:

En un sistema cromatográfico estable, el tiempo de retención de un soluto particular es constante, y por lo tanto puede utilizarse para identificar ese soluto. Así, aunque la cromatografía es primordialmente una técnica de separación, es posible identificar los compuestos separados de una mezcla compleja por medio de sus tiempos de retención (p. 2.13).

Los tiempos de retención se pueden pronosticar por medio de tiempos conocidos de otros miembros de una serie que sea homóloga, no obstante una coincidencia exitosa se basa primordialmente en el conocimiento que se tenga de la muestra o el analito. Por otro lado, el éxito también es dependiente de la disponibilidad de compuestos de referencia, pero si estos no se encuentran a disposición se debe recurrir a la información de las estructuras moleculares del analito para que este sea debidamente estudiado y analizado. (Gomis, 2008) La información que se puede obtener del analito es la siguiente:

Figura 31. Información del analito

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Gomis, 2008)

Determinaciones cuantitativas

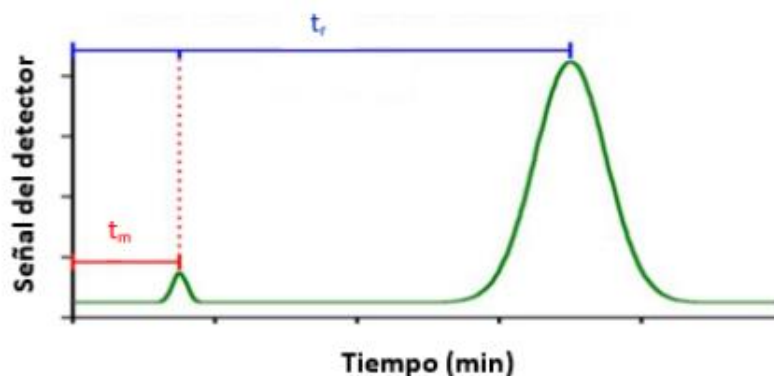
De acuerdo con Gomis (2008) las determinaciones cuantitativas se basan en:

En cromatografía en columna la señal analógica generada por el detector se registra en la forma familiar de los picos cromatográficos. El área bajo estos picos puede integrarse en una variedad de maneras y los datos resultantes relacionarse con la composición de muestras desconocidas (p. 2.13)

Características de separación cromatográfica

Tiempo de retención (t_r) y tiempo muerto (t_m)

El tiempo de retención se refiere al tiempo que transcurre desde el momento que se inyecta una muestra hasta cuando se expresa un pico cromatográfico, el cual alcanza una señal máxima por el detector el cromatógrafo, o sea que la muestra es retenida y se puede reflejar plasmado en el cromatograma, el cual es un indicador del metabolito activo que se está analizando. Por otro lado, el tiempo muerto es el tiempo que se necesita para que el analito no se retenga en la fase estacionaria. (Domingo, 2018)

Figura 32. Tiempo de retención y tiempo muerto

Fuente: (Domingo, 2018)

Factor de retención (k_i)

El factor de retención “es una medida de la velocidad a la que migran los solutos en la columna, y viene dado por la siguiente expresión, que tiene en cuenta el tiempo de retención y el tiempo muerto” (Domingo, 2018) Lo que expresa que existe una relación entre el tiempo que el soluto pasa tanto en la fase estacionaria como en la fase móvil, entre mayor sea el valor del factor de retención de un analito en la columna, así será su retención en la fase estacionaria.

Figura 33. Fórmula para la determinación del factor de retención

$$k_i = \frac{t_r - t_m}{t_m}$$

Fuente: (Domingo, 2018)

Factor de capacidad (k')

El factor de capacidad es el cociente entre el número de moles de soluto en la fase estacionaria y el número de moles de soluto en fase móvil. El factor k' disminuye al aumentar el componente orgánico como por ejemplo el metanol o acetonitrilo y aumenta al aumentar la proporción de agua. Su valor de aceptación se ajusta entre 2-10 para la separación de pocos componentes y 0.5-20 y son muchos picos. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Figura 34. Fórmula para la determinación del factor de capacidad

$$k' = \frac{\text{Número de moles de soluto en la fase estacionaria}}{\text{Número de moles de soluto en la fase móvil}}$$

Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 46)

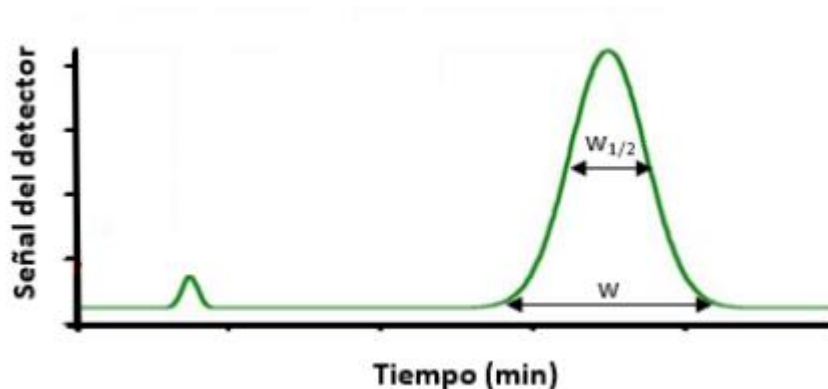
Eficacia

De acuerdo con Domingo (2008) el concepto de eficacia se encuentra relacionado a lo siguiente:

Es un factor que está relacionado con la anchura de una banda o pico. La anchura de pico puede medirse en la base del cromatograma (w) o a mitad de su altura ($w_{1/2}$), se podría decir que cuando los picos del cromatograma sean más estrechos, mayor será la eficacia de la columna (p. 7)

La eficacia de un pico cromatográfico se mide mediante dos factores muy importantes los cuales normalmente el software del equipo cromatográfico brinda estos valores para cada pico, los cuales son: la altura de plato teórico (H) y el número de platos teóricos (N), además cabe recalcar que entre mayor sea el número de platos teóricos, mayor será la eficacia del pico y por otro lado, entre menor sea la altura de plato teórico, mayor será la eficacia del pico cromatográfico. (Domingo, 2008)

Figura 35. Anchura de un pico cromatográfico



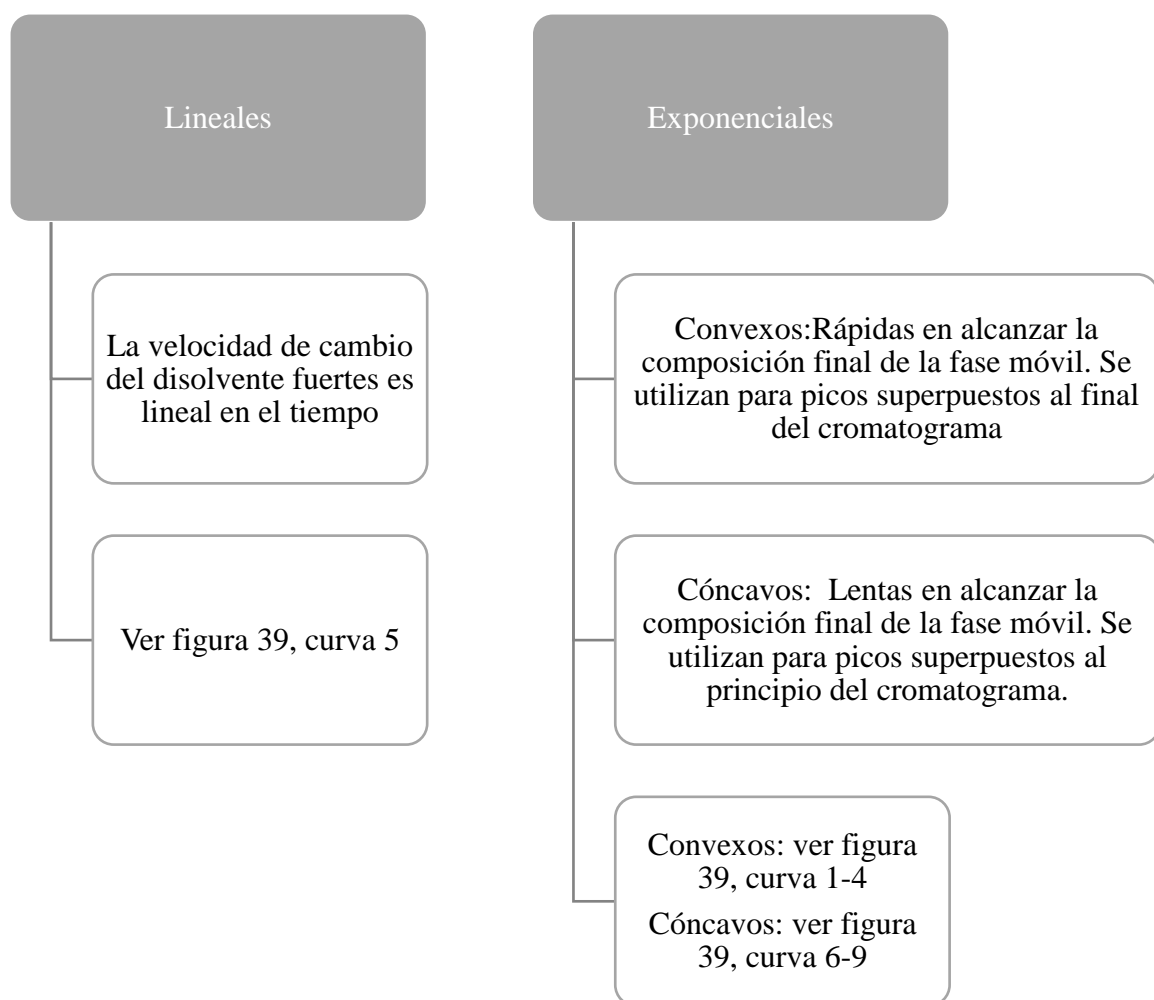
Fuente: (Domingo, 2008)

Resolución

La resolución se basa en la medición cuantitativa que posee una columna cromatográfica para la separación de dos analitos. Su cálculo comprende el tiempo de retención y longitud de la base del pico cromatográfico de dos compuestos en análisis, no obstante la resolución de los picos se puede adquirir rápidamente por medio del software del equipo cromatográfico donde se desarrolla el análisis. El valor adecuado de la resolución es de mayor o igual a 1,5. (Domingo, 2008)

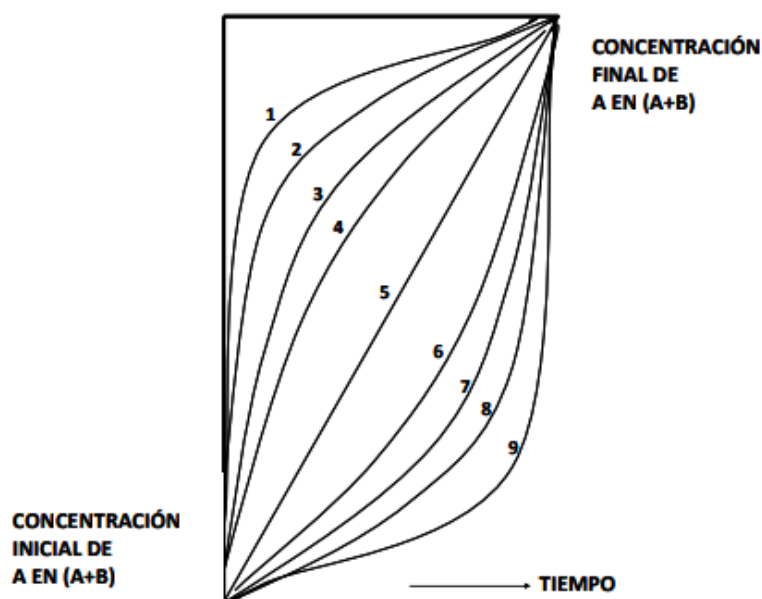
El segundo método de elución es conocido como elución en gradiente, el cual se lleva a cabo cambiando de manera continua la proporción de los o el disolvente a utilizar para el análisis, de forma que si es solamente un disolvente su fuerza vaya incrementando o disminuyendo conforme pasa el tiempo, y si son diversos disolventes, ir cambiando los porcentajes de cada uno a conveniencia de lo que se requiere en el análisis. (Sacristán *et al.*, 2011)

Figura 38. Definición de los tipos de gradiente



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Sacristán *et al.*, 2011, pp. 51-52)

Figura 39. Tipos de gradientes de fase móvil



Fuente: (Sacristán *et al.*, 2011, p. 52)

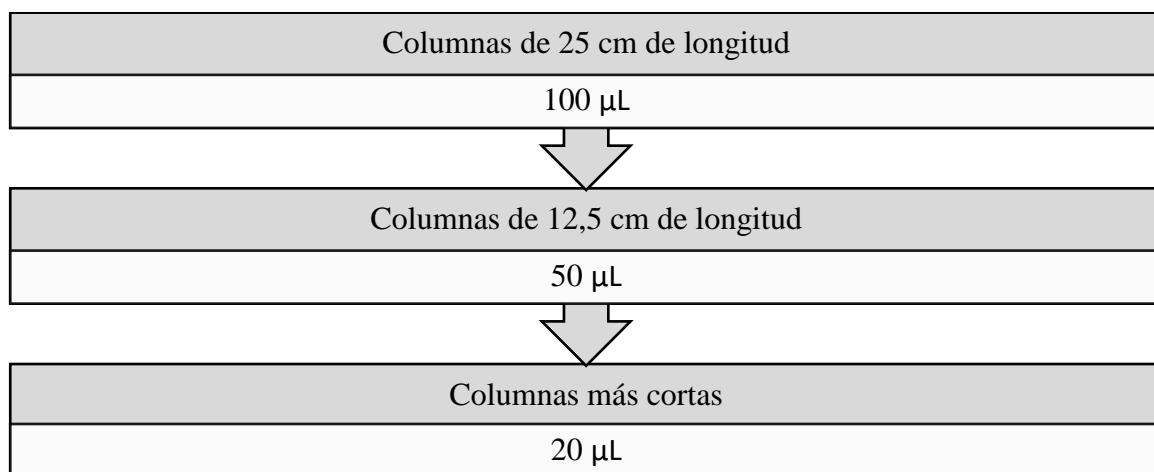
Ventajas

Como lo mencionan García, Álvarez, Guevara y Castillo (2014) la técnica de HPLC tiene la ventaja de ser más rápida y también tiene la capacidad de estudiar un mayor número de muestras, obteniendo resultados en pocos minutos, no obstante no se deben excluir el uso de los métodos convencionales en vista de que algunos casos ameritan estudios complementarios para su identificación o no se cuenta con un HPLC. Además de tener la capacidad de obtenerse diferentes picos cromatográficos a distintas lecturas y todo esto en un mismo momento.

Análisis cuantitativo de la cromatografía líquida de alto desempeño

La inyección de la muestra es uno de los errores más importantes que existen dentro del HPLC. Entre mayor sea el volumen de inyección, mejor es la precisión; se debe tener en cuenta que si se aumenta el volumen por encima del valor adecuado se va a aumentar el ensanchamiento del pico y esto va a causar que se pierda la eficiencia que no se le adjudica a la columna. El volumen de inyección se elige y se ajusta según la longitud y diámetro que posea la columna. (Quattrocchi *et al.*, 1992). En columnas de 4mm de diámetro se recomienda utilizar los siguientes volúmenes:

Figura 40. Volumen de inyección en columnas de 4 mm de diámetro

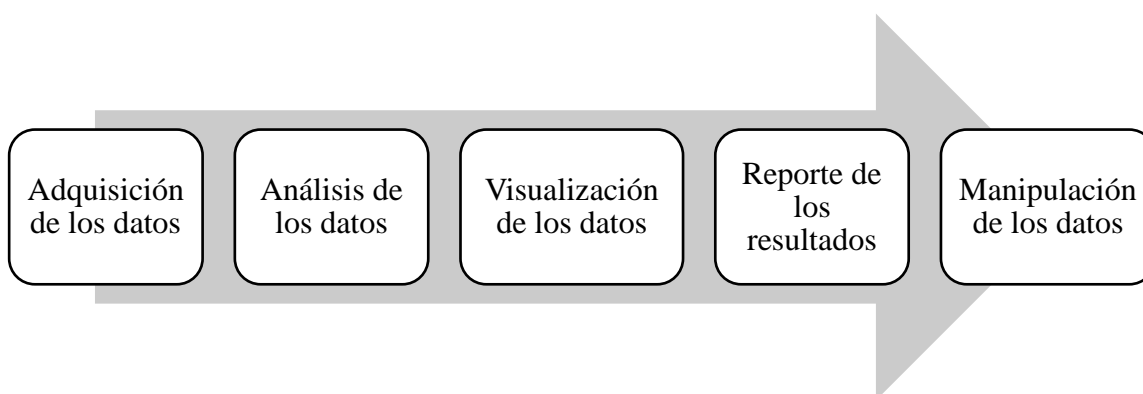


Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Los errores asociados a la separación de analitos es un tema muy importante ya que estos errores pueden surgir del desarrollo de métodos analíticos o relacionados a su aplicación rutinaria, para disminuir estos errores se deben controlar algunos parámetros como lo son el factor de capacidad, la asimetría y la resolución. Es por esta razón que al realizar las pruebas para determinar si el método es adecuado para la separación, debe evaluarse si esta separación es la adecuada para la cuantificación. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

La integración de la señal se produce por el detector que transmite a los registradores, estos son los encargados de graficar el pico y su área manualmente, o los integradores que convierten la señal analógica en digital, los cuales calculan el área o altura de los picos y efectúan una serie de operaciones que están programadas para realizar el reporte de análisis. (Quattrocchi *et al.*, 1992) Actualmente la integración es automática, por lo que la misma computadora lo hace.

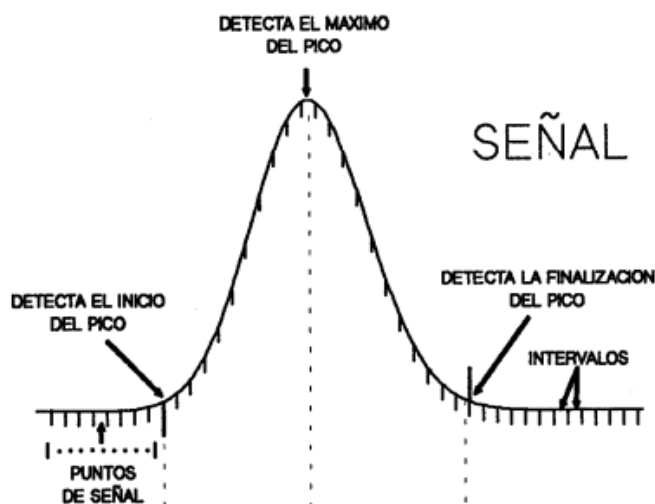
Figura 41. Cinco etapas de la manipulación de los resultados cromatográficos



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992)

Según Quattrocchi *et al.* (1992) la integración utilizando integradores digitales detecta por sí sola el inicio y finalización del pico, el máximo del pico y proporciona el área del mismo:

Figura 42. Integración utilizando integradores digitales



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 254)

La medición del área del pico es fundamental para la cuantificación de un análisis, esto porque la concentración de un analito es directamente proporcional al área del pico, es por esto que cualquier factor que modifique el valor del ancho del pico influirá sobre el análisis, como por ejemplo, un aumento en el tiempo de retención se acompaña de un aumento en el valor del ancho del pico y por consiguiente una disminución de la altura del mismo. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

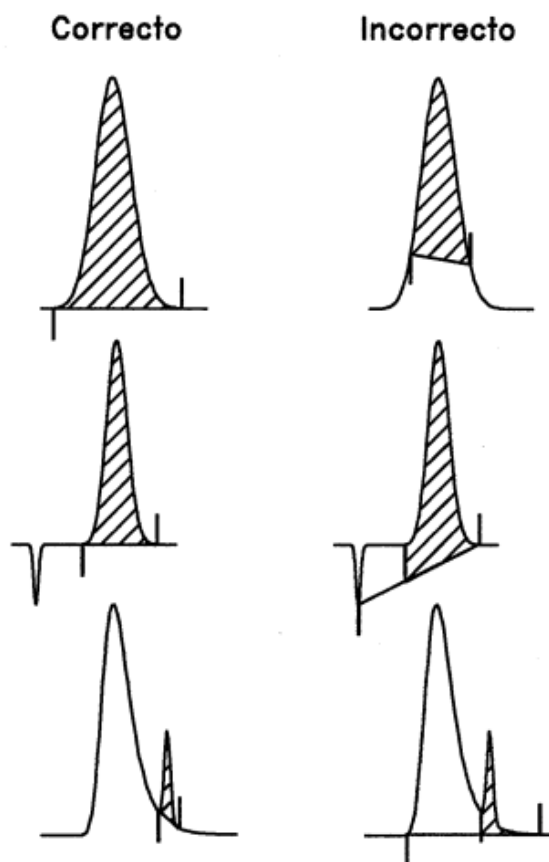
Figura 43. Factores que influyen en la cuantificación de los picos cromatográficos, donde k' es retención relativa, w el ancho del pico, h la altura y A el área

VARIABLE	Se modifican			
	k'	w	h	A
Composición del solvente	si	si	si	no
Temperatura	si	si	si	no
Compresión en la cabeza de la columna	no	si	si	no
Contaminación en la cabeza de la columna	no	si	si	no

Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 259)

Como se observa en la figura 44, uno de los errores más comunes en la integración digital de picos es que a pesar de ser muy simple de utilizar, se producen estos errores por una mala definición de las condiciones de trabajo o un mal uso del software utilizado para integración y obtención de resultados. Los valores de pendiente o umbral muy bajos conducen a la integración de ruidos en la línea base, o al contrario, valores de pendiente muy altos podría eliminar parte de la integración de un pico. (Quattrocchi *et al.*, 1992)

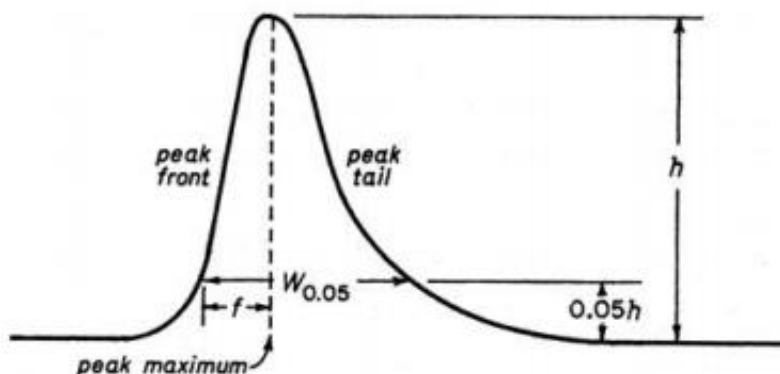
Figura 44. Algunos errores de integración



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 258)

El factor de asimetría o de cola es una medida de la señal que es producida por el analito. Para que un pico sea perfectamente simétrico debe tener un factor de simetría de 1,0, por lo que un pico que presenta un ensanchamiento al inicio del mismo tendrá un pico con valores inferiores a 1,0, mientras que si el pico muestra un ensanchamiento al final de él, o sea una cola, tendrá un pico con valores superiores a 1,0. (Reyes, 2013) El factor de asimetría debería encontrarse entre 0,8 y 1,5, aunque pueden aceptarse valores de hasta 2,0, si es que la monografía no indica lo contrario. (Reyes 2013), citando a (Pérez *et al.* 2001)

Figura 45. Asimetría del pico cromatográfico



Fuente: (Reyes, 2013, p. 26)

Quattrocchi *et al.* (1992), citando a Dolan y Snyder (1989) proponen seis reglas básicas que resultan buenas prácticas para la resolución de los problemas que se pueden presentar en un análisis con HPLC:

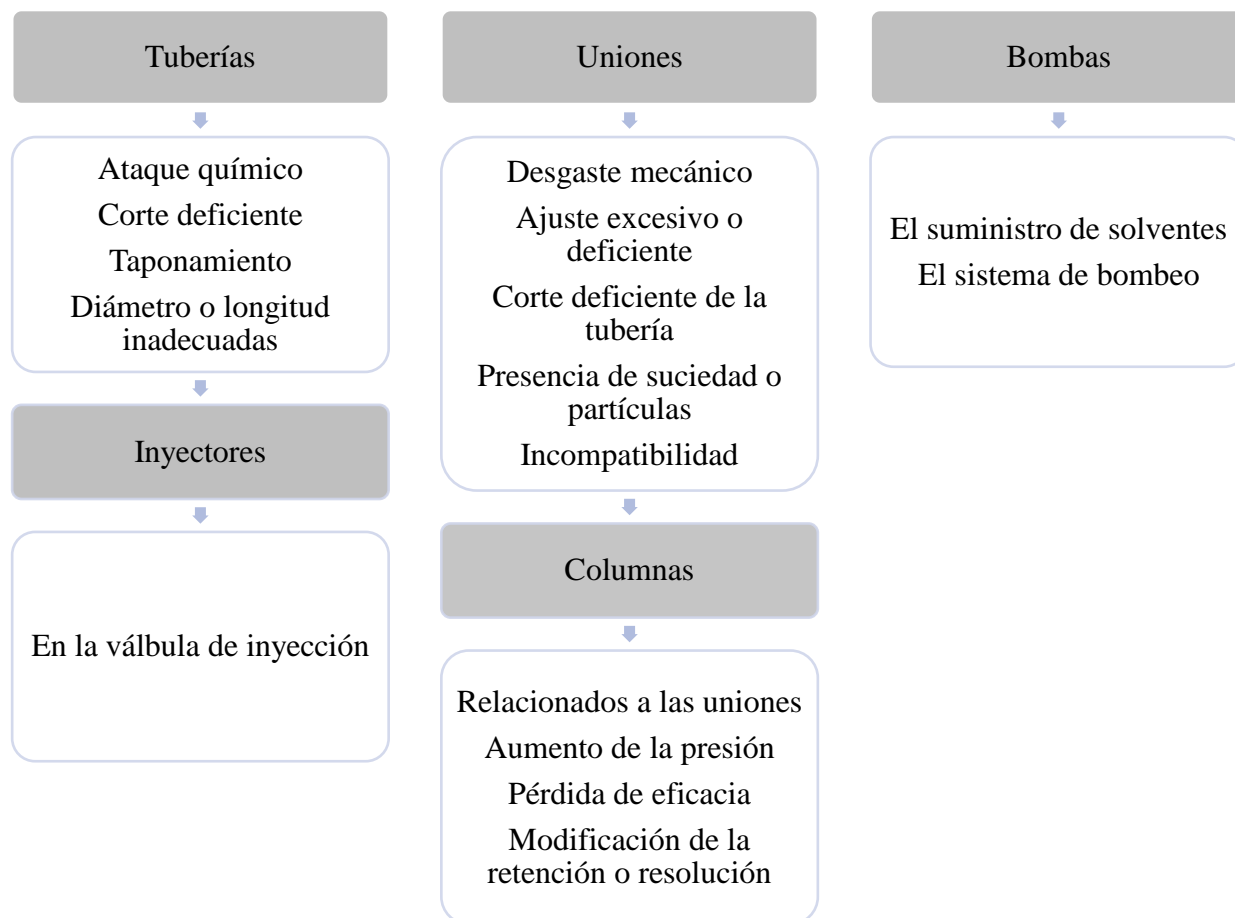
Figura 46. Reglas para resolver problemas

Regla 1	<ul style="list-style-type: none"> • Modifique un sólo factor a la vez • Modificar varios factores a la vez puede resolver el problema pero el operador jamás sabrá cual fue
Regla 2	<ul style="list-style-type: none"> • Asegúrese de que el problema exista • Se debe confirmar el problema antes de tomar acción. Asegurarse del equilibrio de la fase móvil y que la columna no esté eliminando sustancias muy retenidas
Regla 3	<ul style="list-style-type: none"> • Sustituir la parte que falla • Sustituir la parte que supuestamente está fallando, es una vía muy rápida para confirmar la fuente del problema
Regla 4	<ul style="list-style-type: none"> • Vuélvalo a colocar • Volver a colocar la parte sustituida para confirmar el problema. No es conveniente volver a colocar sellos de bombas o inyectores
Regla 5	<ul style="list-style-type: none"> • Escríbalo • Llevar el registro anotado de todos los cambios y todas las observaciones de los cambios que se realicen para tener conocimiento y en dado caso, no volver a repetirlo
Regla 6	<ul style="list-style-type: none"> • Regla buffer • Consiste en la eliminación completa de los buffer y sales del equipocada vez que se utilizan, ya que se pueden precipitar columnas, filtros o tuberías

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en Quattrocchi *et al.* (1992)

Con referencia a Quattrocchi *et al.* (1992) se encuentran los problemas instrumentales que se refieren a las fallas que se originan en el equipo cromatográfico:

Figura 47. Problemas instrumentales



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Quattrocchi *et al.*, 1992)

CROMATOGRAFÍA DE PARES IÓNICOS

Cuando en cromatografía se utilizan pares iónicos es común regular la selectividad e retención y separación que tienen las muestras iónicas por el cambio de su naturaleza y concentración del contraión con el que se está combinando, además, también de poder mejorar las posibilidades de detectar un analito considerablemente, por otro lado “una muestra que no se absorbe UV, con la carga opuesta migrará con la fase móvil orgánica como un par de iones que, debido a la alta capacidad de absorción del contraión, tendrá una alta absorbancia UV” (Denkert, Hackzell, Schill y Sjogren, 1981)

De acuerdo con Denkert, Hackzell, Schill y Sjogren (1981) los pares iónicos en sistemas de cromatografía se detectan como:

Los sistemas cromatográficos de pares iónicos de fase inversa con un contraión que absorbe UV en la fase móvil han demostrado que pueden ser muy adecuados para la detección de aniones y cationes que no absorben UV de tipos muy diferentes. Las muestras dan lugar a picos positivos o negativos dependiendo de su carga y retención y tanto los picos positivos como los negativos son muy adecuados para la cuantificación (p. 32).

Según Gloor y Johnson (1977) los factores que controlan la separación de analitos con pares iónicos son:

Tabla 9. Factores que controlan la separación de analitos

Factor	Efecto
Par iónico	Entre mayor es la capacidad de emparejamiento, mayor es la retención del pico
Tamaño de par iónico	Entre más grande sea el tamaño del par iónico, mayor será la retención
Concentración del par iónico	Entre mayor es la concentración, mayor es la retención. (con límite)
pH	La retención aumenta a medida que el pH maximiza la concentración de la forma iónica de soluto
Modificador orgánico	Entre mayor sea la naturaleza lipofílica, menor es la retención
Concentración de modificador orgánico	La retención disminuye al aumentar la concentración
Temperatura	Al aumentar la temperatura, la retención disminuye
Fase estacionaria	Entre más lipofílico o mayor grado

	de cobertura, más retención.
--	------------------------------

Fuente: (Gloor y Johnson, 1977, p. 414)

La separación gracias a los pares iónicos se considera una separación de fase inversa, ya que la elución es en orden de polaridad decreciente del par iónico. El control del pH es muy importante ya que establece la concentración de la forma iónica del soluto, siendo una restricción para elegir el pH, la estabilidad del relleno de la columna, por lo que se debe estudiar muy bien la molécula química para optimizar el pH y así lograr el resultado que se desea. (Gloor y Johnson, 1977) Por lo que una guía para seleccionar el pH es el siguiente:

Tabla 10. Selección de pH

Tipo de soluto	Ejemplos	pH para par iónico	Comentario
Ácido fuerte (pKa < 2)	Sulfonatos	2 – 7,4	Estos solutos se ionizan en todo el rango de pH; El pH real seleccionado depende de otros tipos de solutos presentes.
Ácidos débiles (pKa > 2)	Aminoácidos, Ácidos carboxílicos	6 – 7,4	Solutos ionizados; la retención depende de la naturaleza del par iónico.
		2 - 5	Se suprime la ionización de solutos; retención dependiente de la naturaleza del soluto (no del par de iones)
Bases fuertes (pKa > 8)	Aminas cuaternarias	2 - 8	Los solutos se ionizan en todo el rango de pH; similar a los ácidos fuertes.
Bases débiles (pKa < 8)	Catecolaminas	6 – 7,4	Se suprime la ionización; la retención depende de la naturaleza del soluto.
		2 - 5	Los solutos están ionizados; la retención depende de la

			naturaleza del par iónico.
--	--	--	----------------------------

Fuente: (Gloor y Johnson, 1977, p. 414)

Para un buen funcionamiento del par iónico es de suma importancia tener en cuenta los diversos tipos de pares iónicos, los solventes y las columnas más utilizadas y adecuadas. Los disolventes comúnmente empleados son agua: metanol, agua: acetonitrilo, ambos combinados con su respectivo buffer, aunque la principal limitación es la solubilidad del par iónico; por otro lado, las columnas más utilizadas con las de empaquetamiento con grupos alquilo C2, C8 y C18, la longitud puede o no ser un factor importante ya que la separación puede cambiar con la longitud del grupo alquilo. (Gloor y Johnson, 1977) Los pares iónicos más utilizados son:

Tabla 11. Pares iónicos típicos

Tipos	Principales aplicaciones
Aminas cuaternarias. Ejemplo: iones tetrametil, tetrabutyl, palmitil trimetil amonio	Para ácidos fuertes + débiles: ácidos carboxílicos
Aminas terciarias Por ejemplo: trioctilamina	Sulfonatos
Alquil y aril sulfonatos, Ejemplo: metano o heptano sulfonato, ácido canforsulfónico	Para bases fuertes + débiles: Sales de benzalconio, catecolaminas
Ácido perclórico	Forma pares de iones muy fuertes con una amplia gama de soluciones básicas
Alquil sulfatos; lauril sulfato	Similar a los ácidos sulfónicos; produce diferentes selectividades.

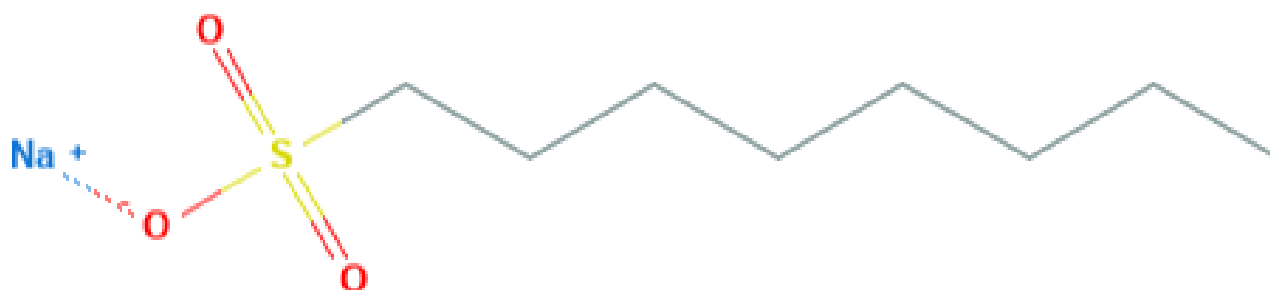
Fuente: (Gloor y Johnson, 1977, p. 415)

La retención de analitos que se encuentran ionizados en la fase estacionaria con enlaces no polares se ve casi en la obligación de utilizar y unirse a un contraión o par iónico en la fase móvil, para que este se convierta en una forma no ionizada y se puede retener. Este fenómeno se podría explicar con la formación de pares de iones en la fase móvil con la retención realmente fuerte del complejo que se forma, o la transformación de la fase estacionaria en un intercambio de

iones. (Horvath, Melander, Molnar, I y Molnar, P, 1977) Por lo que los autores lo explican de la siguiente manera:

El análisis de los equilibrios pertinentes muestra que la dependencia hiperbólica o parabólica observada de los factores de capacidad en la concentración del par iónico no puede arrojar luz sobre el mecanismo. Sin embargo, los datos experimentales obtenidos para la retención de catecolaminas mediante el uso de sulfatos de alquilo C₄-C₁₀ y otros pares iónicos similares en un amplio rango de concentración, podrían interpretarse mecánicamente a partir de la dependencia de la longitud de la cadena de los parámetros para la relación entre los factores de capacidad y la concentración del par iónico (p. 2295).

Figura 48. Molécula del ácido 1-octanosulfonato de sodio



Fuente: Base de datos PubChem, 1-octanosulfonato de sodio

Como lo mencionan Knox y Hartwick (1981) existen dos mecanismos de cromatografía de pares iónicos, los cuales son: la formación de un par iónico en la fase móvil antes de que suceda su adsorción sobre la fase estacionaria y en segundo lugar un intercambio iónico, donde “los iones liófilos alquilo no apareados se adsorben en la superficie unida y hacen que la columna se comporte como un intercambio de iones dinámico” (p. 4). Por lo que en el intercambio iónico, los iones soluto se acercan a la superficie unida y ahí se unen a los ya adsorbidos para formar pares de iones, y la formación de pares iónicos en la fase móvil, los pares primero se convierten en el eluyente y luego pasan a la superficie adherida donde se adsorben.

Figura 49. Pares iónicos más utilizados en la actualidad para HPLC

Producto
Ácido 1-Butano Sulfónico Sal Sódica
Ácido 1-Decano Sulfónico Sal Sódica
Ácido 1-Heptano Sulfónico Sal Sódica
Ácido 1-Heptano Sulfónico Sal Sódica 1-hidrato
Ácido 1-Hexano Sulfónico Sal Sódica
Ácido 1-Hexano Sulfónico Sal Sódica 1-hidrato
Ácido 1-Octano Sulfónico Sal Sódica
Ácido 1-Pentano Sulfónico Sal Sódica
Tetrabutilamonio di-Hidrógeno Fosfato
Tetrabutilamonio Hidrógeno Sulfato

Fuente: (PanReac AppliChem, s.f)

DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Calidad por diseño de métodos analíticos

Nethercote y Ermer (2013) ofrecen un concepto muy amplio y concreto sobre la calidad por diseño de métodos analíticos:

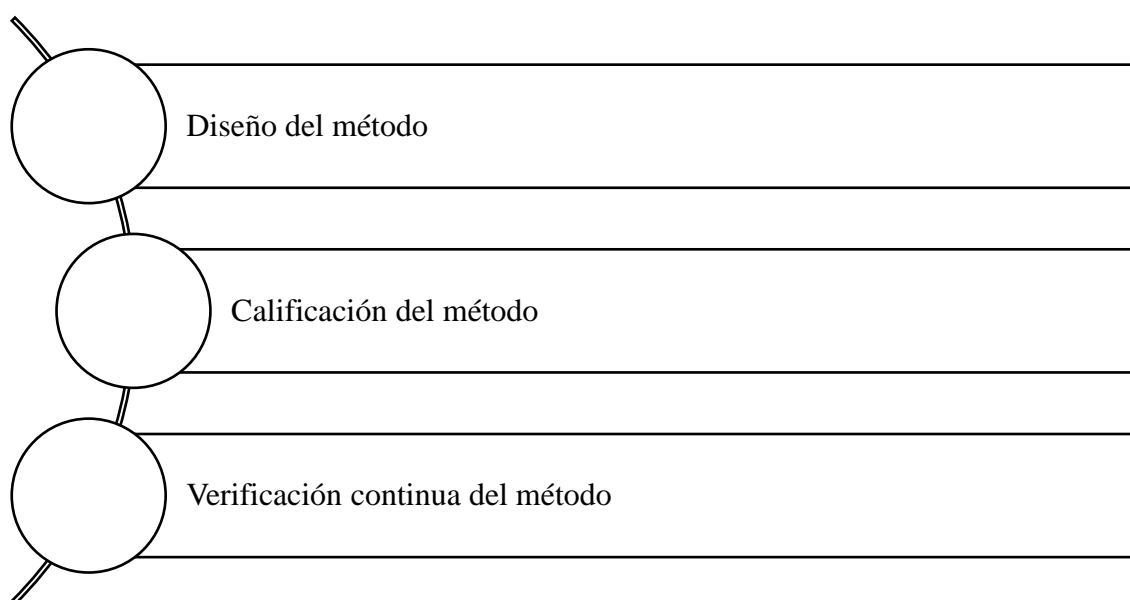
Los conceptos de la QbD están dirigidos a mejorar la robustez de los procesos de manufactura con base en la adopción de un esquema sistemático y científico para desarrollar e implementar una estrategia de control basada en la comprensión mejorada del proceso que proporciona esto. Muchas compañías farmacéuticas también han reconocido que los conceptos de QbD pueden ser

usados para mejorar la confiabilidad de los métodos analíticos. (p.

1)

La validación de los métodos analíticos también se beneficia de la calidad desde el diseño QbD, es por esto que se proponen tres etapas para cumplir con el propósito de un método, el cual se destina a lo largo del ciclo de vida analítico, esto para dar seguridad del método que se emplea para las pruebas de control de calidad que se requiere para poder aprobar o rechazar un medicamento o producto farmacéutico. (Nethercote y Ermer, 2013) Las etapas se muestran en la figura 50.

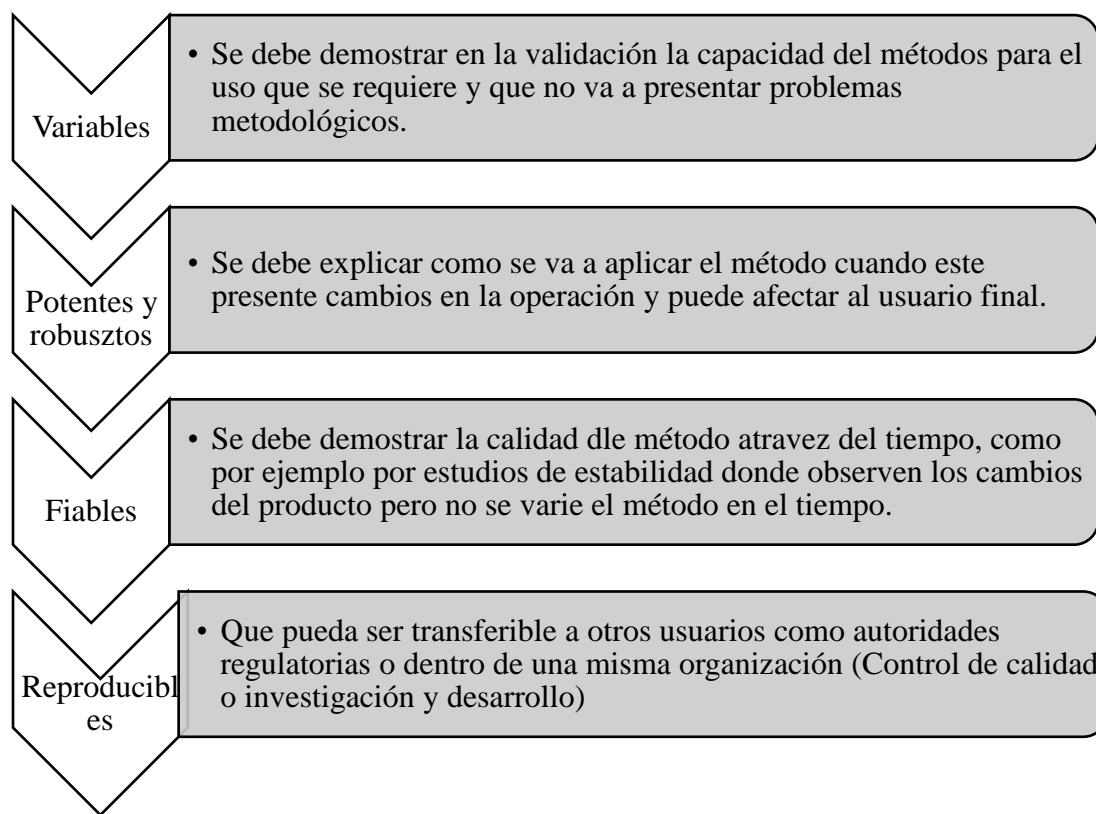
Figura 50. Etapas de aseguramiento para la validación de métodos analíticos según QbD



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en el artículo calidad por diseño para métodos analíticos: implicaciones para la validación y transferencia de métodos (2013)

Como lo menciona Dr. Jó (2016) los requisitos utilizados para un programa de calidad por diseño de métodos analíticos deben ser:

Figura 51. Requisitos calidad por diseño de métodos analíticos

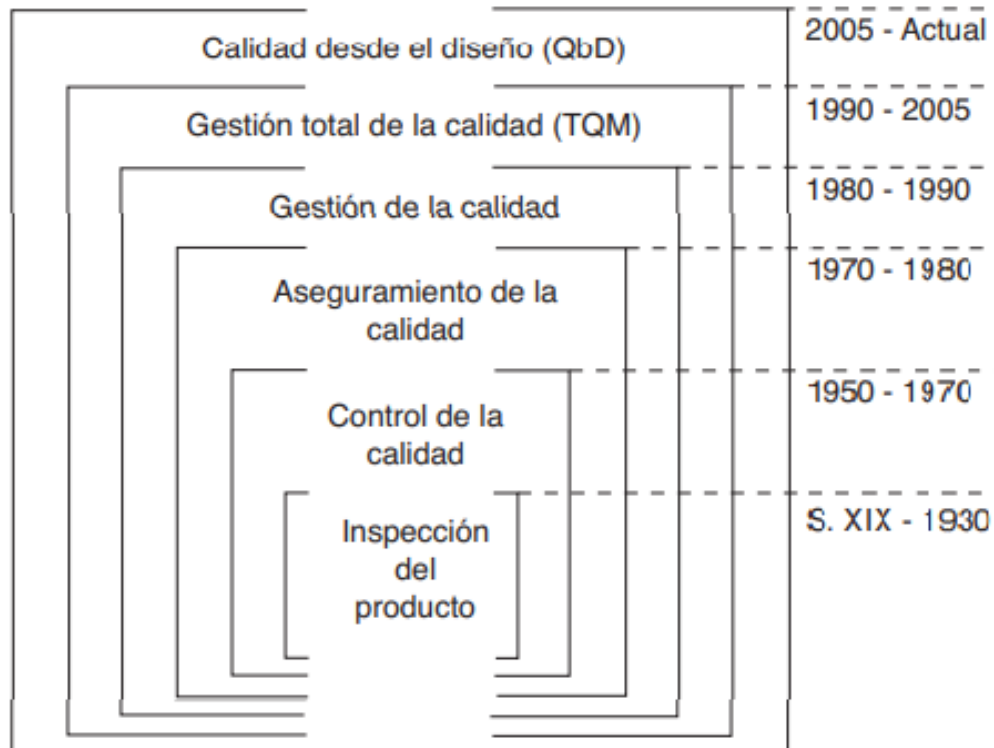


Fuente: Elaboración propia (2020), con base en el artículo la calidad por el diseño en desarrollo y producción farmacéutica (Dr. Jó, 2016)

De acuerdo con García, Vallejo y Mora (2015) la calidad desde el diseño se complementa con diversos elementos desde tiempo atrás:

La calidad desde el diseño toma elementos desarrollados décadas atrás por diferentes expertos de la calidad y de la gestión del conocimiento y comparte principios con otras metodologías de desarrollo de producto y de gestión de la calidad. Estos elementos han evolucionado hasta lograr una visión holística de la calidad. En sus inicios, la calidad se limitaba a la inspección del producto; sin embargo, fue complementada con el concepto de control de la calidad sistemático y estadístico, consolidando el Control Total de la Calidad (p. 69)

Figura 52. La evolución de la calidad desde el diseño (QbD)

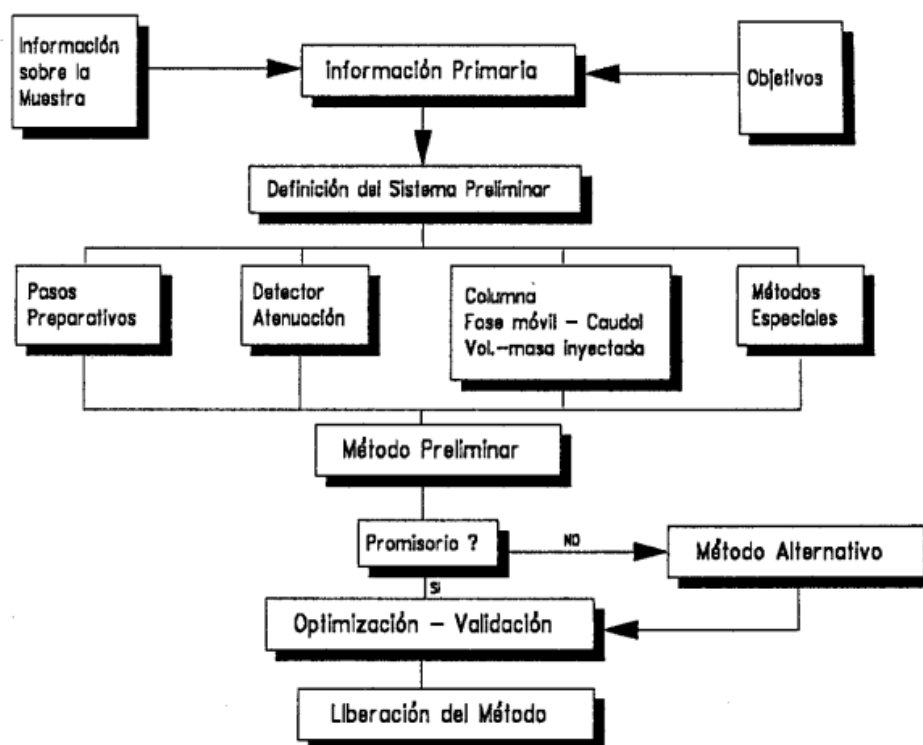


Fuente: (García, Vallejo y Mora, 2015)

La calidad desde el diseño brinda ventajas a previos modelos para el aseguramiento de la calidad de los distintos métodos de análisis, lo cual ofrece a los sectores que lo implementan una mayor calidad diferenciada y flexible para que se proporcione al medicamento nuevo o uno modificado que necesite tener un análisis nuevo, un mejor proceso desde el desarrollo del mismo hasta la implementación del método al analizar el metabolito activo o el analito y que este sea innovador y continuo ofreciendo siempre la calidad y seguridad de los resultados. (García, Vallejo y Mora, 2015)

Quattrocchi *et al.* (1992) propone una serie de pasos para el desarrollo de métodos analíticos para cromatografía líquida de alto desempeño, los cuales se pueden observar en la figura que se presenta a continuación:

Figura 53. Pasos en el desarrollo de métodos analíticos por HPLC



Fuente: (Quattrocchi *et al.*, 1992, p. 269)

Optimización de métodos analíticos

De acuerdo con Hernández (2014) la optimización se puede definir como “proceso de seleccionar, a partir de un conjunto de alternativas posibles, aquella que mejor satisfaga el o los objetivos propuestos, además de considerarse como una búsqueda de la mejor manera de realizar una actividad”. En la industria farmacéutica se busca optimizar tanto métodos de análisis como los procesos de fabricación, esto con el fin de tener menores costos y mayores beneficios, como por ejemplo, disminuir gastos en reactivos e instalaciones y así aumentar la productividad.

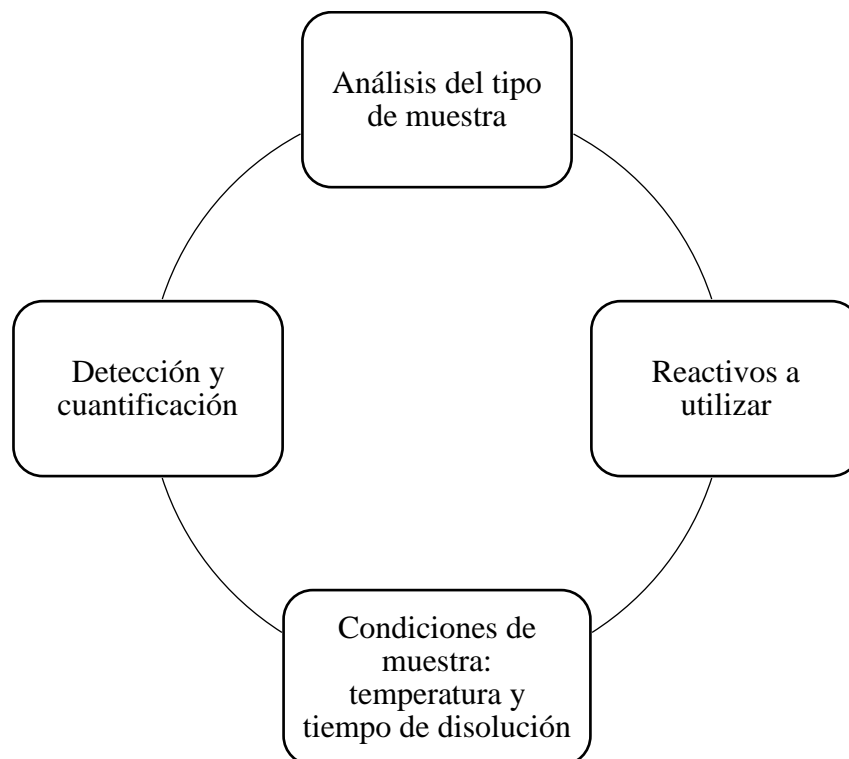
Cuando un medicamento o producto farmacéutico no posee un método farmacopeico o compendiado, se necesita desarrollar y optimizar un método de análisis para así conocer la concentración del principio activo. (Hernández, 2014) Por lo que Hernández (2014) menciona las razones por las cuales se debe optimizar un método analítico:

1. No hay método apropiado para cuantificar el analito en la matriz
2. Mejora la identificación del analito
3. El método que existe no tiene la exactitud y precisión necesaria
4. Los métodos analíticos existentes son muy caros y consumen demasiados reactivos

5. Fácil de usar y pequeño costo de análisis
6. Preparación de muestras que minimicen tiempo, esfuerzo y consumo de materiales, así como disminuir el volumen de muestra.

Además, Hernández (2014) indica que se deben estudiar todas las variables químicas e instrumentales para poder concretar los parámetros a optimizar, las cuales son:

Figura 54. Variables a estudiar en optimización de métodos analíticos

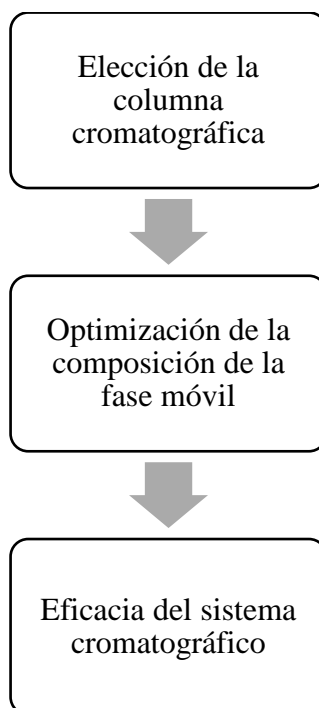


Fuente: Elaboración propia (2020), con basen en (Hernández, 2014)

Al optimizar un método, ya sea completamente nuevo o la modificación de uno ya existente, se debe tener en consideración que un detector ideal es aquel que es sensible a concentraciones pequeñas del analito, dando una respuesta lineal, no ensanchar los picos cromatográficos, además de no ser sensible a los diferenciales de temperatura o de la composición de los solventes como por ejemplo por un cambio de proveedor. (Olías, 2009)

Según Olías (2009) cuando se desarrolla un método analítico lo que se busca y se espera es conseguir una separación adecuada de los analitos con un tiempo prudente entre dos o más picos, donde no vaya a interferir uno con el otro. Lo ideal es que el procedimiento sea robusto, esto quiere decir que la separación no debe cambiar por pequeñas variaciones en la composición del eluyente, pH o temperatura.

Figura 55. Aspectos para la optimización de la separación de los picos cromatográficos



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Olías, 2009)

Especificaciones de control de calidad

Prueba de Identificación

La prueba de identificación es una prueba que facilita la detección de sustancias farmacéuticas como son los principios activos, además si se encuentran degradaciones importantes para lograr excluirlas de la formulación. (OMS, 2012)

Prueba de Potencia

La prueba de potencia es una prueba para determinar el grado de efecto que tiene la sustancia o formulación, estas siempre tienen un rango de aceptación.

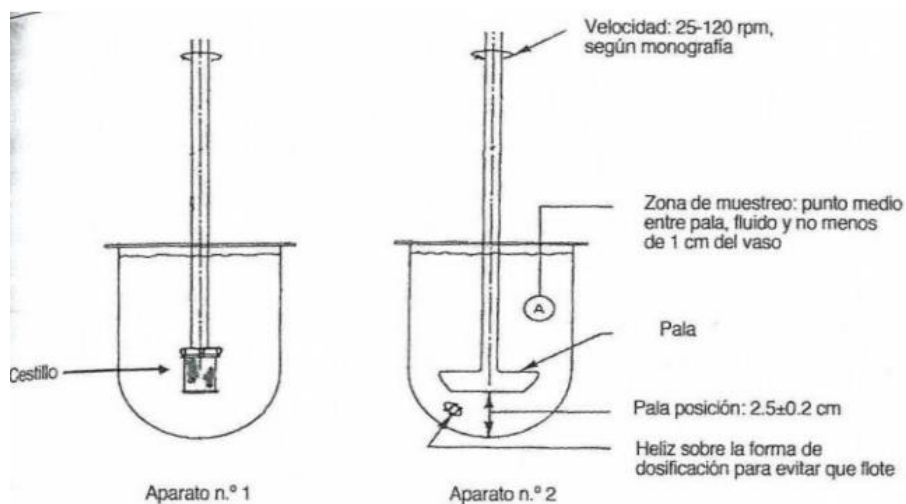
Prueba de Disolución

La prueba de disolución es una prueba in vitro para determinar la biodisponibilidad in vivo que va a tener el medicamento sobre el paciente (FDA, 2018)

Figura 56. Disolutor

Fuente: (Agilent Technologies, 2018, p. 14)

Las condiciones para la prueba de disolución se realizan bajo condiciones controladas como la temperatura que va a ser 37 °C para todos los métodos de disolución, la velocidad de agitación entre las más comunes a utilizar con 50, 75 y 100 rpm, el método de agitación el cual se refiere si es por medio del aparato I (canastas) o aparato II (paletas), el tiempo de disolución el cual para tabletas o cápsulas de liberación inmediata es más común 30, 45 o 60 minutos y para liberación prolongada hasta las 24 horas, el volumen de llenado de cada vaso de disolución generalmente es de 900 mL pero también se utilizan 500 y 1000 mL y el tipo de medio de disolución debe ser considerado para que la droga se disuelva bien. (Pérez, 2014)

Figura 57. Aparatos utilizados en disolución

Fuente: (Martínez, 2019, p. 6)

Prueba de Uniformidad de Contenido

La prueba de uniformidad de contenido se aplica a las formas farmacéuticas orales como tabletas o cápsulas cuando el principio activo es menor a 25mg o cuando el principio activo representa menos del 25% del tamaño total de la dosis para así medir el grado de variabilidad en el proceso de manufactura del medicamento. (Pérez, Morales, Rojas, Vargas, 2014)

Prueba de Variación de Peso

La prueba de variación de peso se aplica a las formas farmacéuticas orales como tabletas o cápsulas cuando el principio activo es mayor o igual a 25mg o cuando el principio activo representa mayor o igual del 25% del tamaño total de la dosis para así medir el grado de variación del peso de las cápsulas. (Roque, Rosales y Somarriba, 2006)

Prueba de Impurezas

La prueba de impurezas tiene el objetivo de controlar el contenido de impurezas de la formulación farmacéutica, ya que este criterio tiene un gran impacto en la seguridad del medicamento porque hay impurezas muy tóxicas que pueden dañar la vida del paciente. (Ortiz, Flores, Contreras y Díaz, 2016)

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Validación

Según el capítulo general <1225> de la USP 38 la validación de un método analítico es el proceso de estudio en el laboratorio, que indica si las características de desempeño cumplen los criterios de aceptación de una manera confiable y segura. (USP 38 NF-33, 2015) Por otro lado el RTCA de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos (11.03.39:06) define validación de métodos como un “procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales”.

Se deben validar los siguientes procedimientos según el RTCA (11.03.39:06), en la siguiente clasificación (ver figura 61):

1. Categoría I: pruebas cuantitativas del contenido del principio activo.

2. Categoría II: pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas.
3. Categoría III: pruebas físico químicas de desempeño.
4. Categoría IV: pruebas de identificación

La validación de un método de análisis es establecido por estudios de pruebas experimentales que miden la capacidad que tiene el método analíticos para satisfacer los requerimientos que se necesitan para la aplicación del análisis que se desea. El control de la calidad de los laboratorios farmacéuticos no se basa solamente en analizar si un producto es conforme o no a los requisitos de calidad sin saber que el método con el que están analizando el analito es validado, sino que antes es necesario la confirmación de la validación para generar alto grado de confiabilidad sobre el método. (Díaz *et al.* 1998)

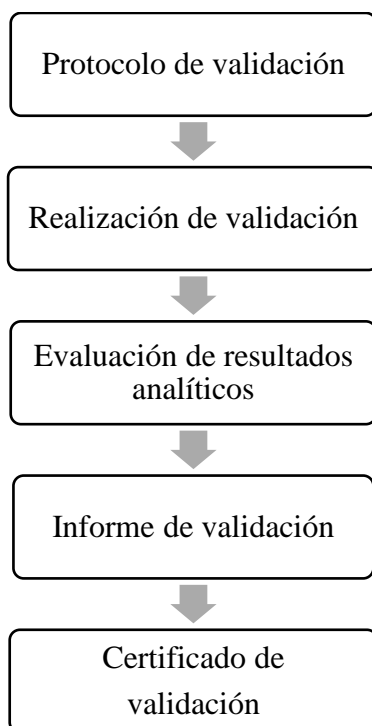
La validación de un método es el proceso para demostrar a través de estudios que un método para analizar un analito es aceptable para el uso el cual se requiere, esto incluye medicamentos nuevos en investigación, o medicamentos genéricos. La validación de un método analítico es un proceso que debe ser continuo y cuyo objetivo principal es asegurar confianza en los datos analíticos durante el desarrollo del producto. Un método analítico bien desarrollado debería ser fácil de validar. (Breux, Jones y Boulas, 2003a)

Como lo menciona Giraldo (1999) es importante en la validación hacer uso de un patrón primario para sí asegurar la exactitud de las pruebas y el método, ya que el objetivo principal de los laboratorios farmacéuticos es obtener resultados de análisis que sean de alta calidad, confiables y adecuados al análisis de un producto, ya que no es conveniente para ninguna empresa fabricar lotes de producción, si antes no se hicieron pruebas al producto ni se ha validado el método para su análisis, ya que, aunque un método esté en las guías oficiales no quiere decir que en todos los casos vaya a funcionar adecuadamente.

Según Boqué, Maroto, Riu y Rius (2002) existen tres principios básicos para la validación de un método, en primer lugar la validación debe tener un procedimiento analítico completo, y antes de iniciarla realizar un pre análisis no automatizado donde se revisa la linealidad del método y los parámetros de rendimiento, en segundo lugar toda validación debe comprender todo el rango de concentraciones en la que puede estar el analito o principio activo presente en las muestras y por último, los diferentes efectos que pueden interferir en los resultados que suceden en la aplicación normal del método se deben considerar en el proceso de validación.

Toda validación debe ser de un método analítico ya probado, ajustado u optimizado del producto que requiere el análisis para poder seguir con la validación del mismo, esta validación debe estar debidamente documentada desde el momento en que se realiza el protocolo de validación hasta el certificado final de la validación aprobada o rechazada del método, esto por cuestión de alguna auditoría ya sea interna o externa. (AEFI, 2001a)

Figura 58. Documentación de una validación analítica

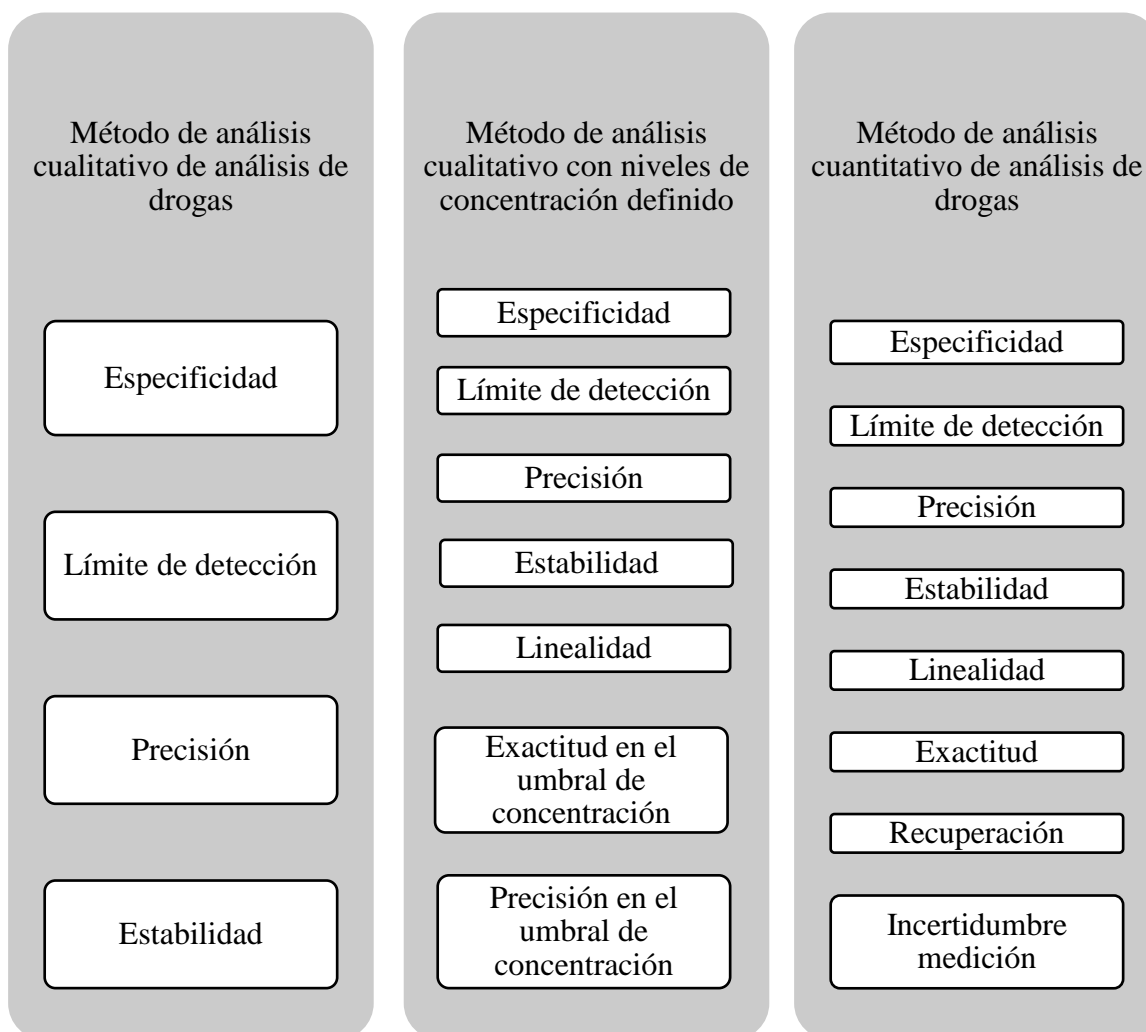


Fuente: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria [AEFI], 2001

Parámetros para validación

Según la oficina de las naciones unidas contra droga y delito ONODC (2010) los métodos de análisis se pueden clasificar en cualitativos y cuantitativos. Los cualitativos deben cumplir con distintos parámetros para su respectiva validación los cuales son: especificidad, límite de detección, precisión y estabilidad cuando se trate de análisis de drogas, por otro lado cuando sea necesario establecer un nivel de concentración definido se añaden los parámetros de linealidad, exactitud y precisión en el umbral de concentración. Además, los métodos cuantitativos deben cumplir con: especificidad, límite de detección, precisión, linealidad, exactitud, recuperación, incertidumbre de la medición y estabilidad. También hay parámetros que son aconsejables de realizar, pero no son fundamentales y son el límite inferior de cuantificación y la robustez.

Figura 59. Parámetros de una validación de métodos analíticos según la ONODC



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (ONODC, 2010, pp. 8-9)

La ONODC (2010) define los distintos parámetros de validación como:

1. Especificidad o selectividad: hace referencia al grado en que otras sustancias pueden interferir en la identificación y/o cuantificación del analito, por lo que se mide la capacidad del método para identificar/cuantificar uno o varios analitos cuando se está frente a otras sustancias.
2. Límite de detección: “Se trata de la concentración mínima de analito que puede ser detectada e identificada con un determinado grado de certidumbre” (p. 10). No es un parámetro robusto por lo que puede verse modificado por la temperatura o condiciones instrumentales.

3. **Precisión:** mide el grado de concordancia entre los resultados obtenidos de una serie de mediciones repetidas del mismo analito bajo las condiciones del método de análisis. “La precisión refleja los errores aleatorios que se producen cuando se utiliza un método” (p. 11).
4. **Linealidad:** se refiere a cuando existe una proporcionalidad entre el resultado que se obtiene cuando se aplica el método y la concentración del analito dentro del rango de concentraciones menores y mayores al 100%.
5. **Exactitud:** “Medición de la diferencia entre los resultados previstos del análisis y el valor de referencia aceptado, debido a un error sistemático del método y del laboratorio” (p. 11).
6. **Recuperación:** Hace referencia a la cantidad de analito que hay de inicio del espécimen hasta el final del procedimiento.
7. **Medición de la incertidumbre:** Es el nivel de confianza que obtienen de los resultados al utilizar el método analítico. Usualmente se usa un grado de confianza de 95%.
8. **Estabilidad:** Es necesario al validar un método, demostrar que el analito se conserva estable en un periodo (horas-días) después del mismo día en que se preparó la muestra a analizar.

Tipos de validación

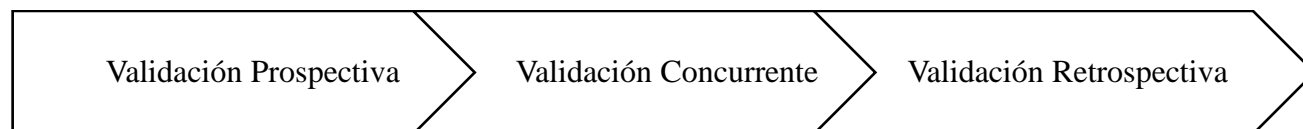
Validación Prospectiva: Se incluye una breve descripción del proceso, se escribe un resumen de las fases críticas, se hace un listado de equipos e instalaciones, se especifica el producto terminado para su liberación, listado de métodos analíticos, propuesta de controles durante el proceso, junto con los criterios de aceptación, ensayos adicionales, junto con los criterios de aceptación y la validación analítica. (MINSAs Perú, 2001)

Validación Concurrente: Puede aceptarse no completar el programa de validación antes de dar comienzo a la producción habitual, estará justificada, documentada y contará con la aprobación del personal autorizado, por último las exigencias de documentación para la validación concurrente son las mismas especificadas para la validación prospectiva. (MINSAs Perú, 2001)

Validación Retrospectiva: La validación retrospectiva solamente es aceptable para procesos ya consolidados y no es adecuada cuando se hayan producido cambios recientes en la

composición del producto, en los procedimientos de fabricación o en los equipos. (MINSA Perú, 2001)

Figura 60. Tipos de validación



Fuente: Elaboración propia (2020), Ministerio de Salud Perú

Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)

El reglamento técnico centroamericano de la validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos número 11.03.39:06, tiene como objetivo establecer las directrices para la validación de métodos analíticos fisicoquímicos y microbiológicos utilizados en el control de calidad de medicamentos y que estos criterios deben ser aplicados a todos los métodos analíticos no oficiales y oficiales utilizados para el control de calidad de medicamentos, teniendo en cuenta que los laboratorios que utilizan métodos analíticos oficiales, únicamente deben corroborar la linealidad y la precisión del sistema. (RTCA 11.03.39:06, 2006)

Para elaborar una validación de un método analítico es necesario cumplir con una serie de parámetros, los cuales deben cumplir con los estándares de calidad para que el método de análisis de un producto se apruebe:

Figura 61. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos físico-químicos y potencia microbiológica

Categoría de prueba Parámetro de desempeño	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
	Principio(s) activo(s)	Prueba de límite Cuantitativa	Prueba de límite Cualitativa	Físico químico desempeño	Identificación
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	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

Fuente: RTCA de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos 11.03.39:06, 2006 (p. 6)

El reglamento técnico centroamericano sobre la validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos (2006) dicta una serie de definiciones para comprender con mayor facilidad los parámetros de desempeño que se deben realizar en una validación de métodos analíticos, dichos parámetros se observan en la figura 61 con su correspondiente categoría:

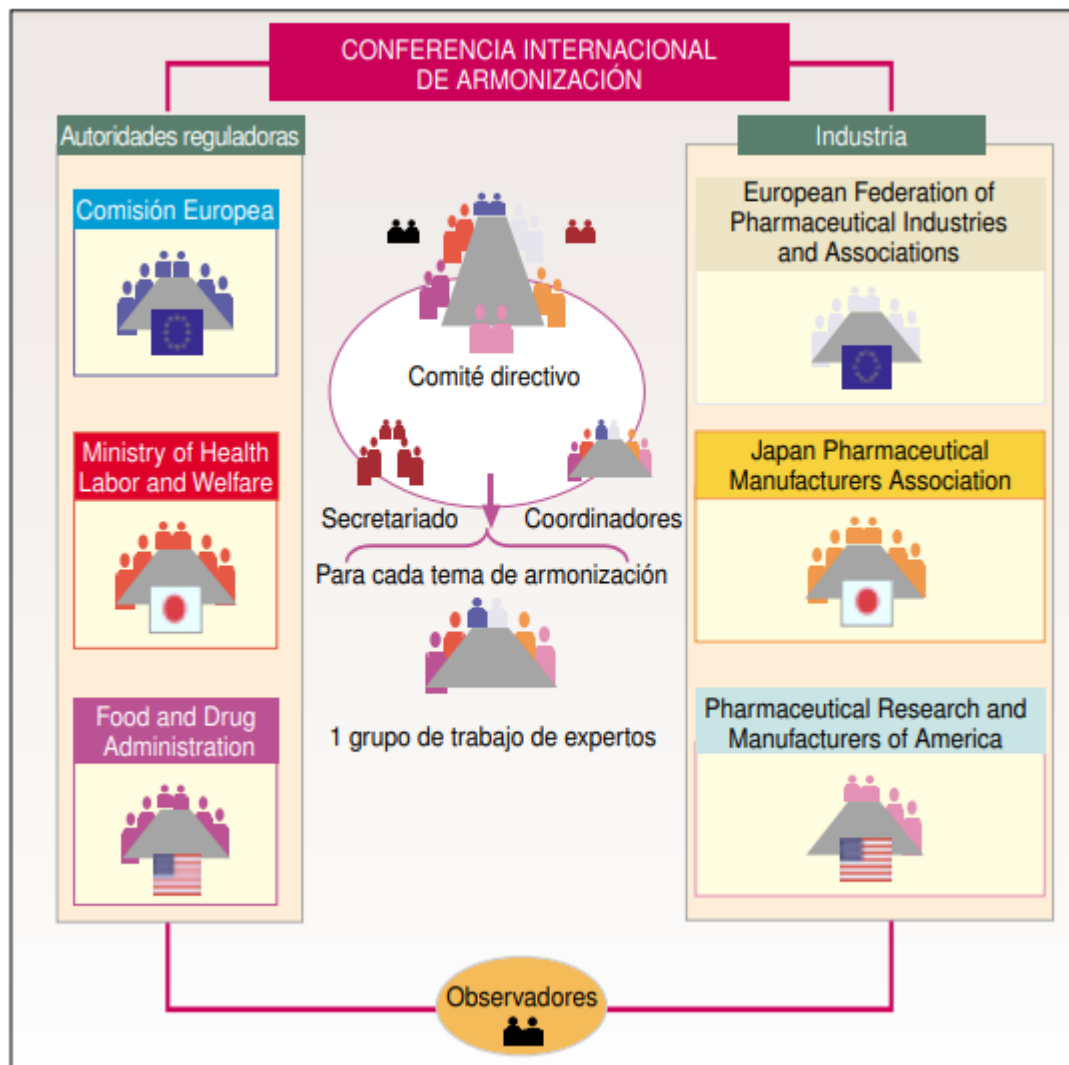
1. La exactitud o veracidad es una proximidad que hay entre los resultados del valor verdadero y los de la prueba realizada obtenida por medio del método analítico.
2. Precisión se refiere al grado de concordancia que existe entre las mediciones individuales que se toman de múltiples muestreos de la misma muestra, ya sea la muestra madre u original o de muestras por dilución. La precisión se divide en tres maneras de determinación, repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.
3. La especificidad o selectividad es la “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” (p. 3).
4. El límite de detección es una mínima cantidad de analito que puede ser detectada en una muestra por una sola medición, se expresa como concentración del analito.
5. El límite de cuantificación es usado para la determinación de impurezas y productos de degradación y se define como la “mínima cantidad del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión y exactitud aceptable” (p. 3).
6. Linealidad corresponde a la proporcionalidad directa o por transformación matemática de resultados con respecto a la concentración de analito en un intervalo
7. El intervalo es la “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” (p. 3).

Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH)

De acuerdo con Montpart y Marín (2003) la ICH se define como: “un proyecto conjunto de las autoridades reguladoras y la industria farmacéutica procedente de Europa, Estados Unidos y Japón, regiones donde se desarrolla la mayoría de nuevos medicamentos, unidos en el

objetivo de armonizar los requisitos técnicos y científicos exigidos para el registro de un medicamento” (p. 119).

Figura 62. Estructura de la ICH



Fuente: (Montpart y Martín, 2003, p. 119)

La validación de métodos analíticos se dirige en cuatro tipos comunes de procedimientos analíticos los cuales son, las pruebas de identificación, pruebas cuantitativas de contenido de impurezas, pruebas límite para el control de impurezas y las pruebas cuantitativas del analito en muestras de sustancias o productos farmacéutico, además de otros componentes que son propios en el medicamento. (ICH Q2 R1, 2006)

La ICH Q2 R1 (2006) determina que las características que deben considerarse en una validación analítica son la exactitud, la precisión (repetibilidad, precisión intermedia)

especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y rango. Debe tenerse en cuenta que la robustez no se considera como parámetro típico en una validación pero debe considerarse en una etapa apropiada en el desarrollo del procedimiento de análisis.

Figura 63. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos

Type of analytical procedure	IDENTIFICATION	TESTING FOR IMPURITIES		ASSAY - dissolution (measurement only) - content/potency
characteristics		quantitat. limit		
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Interm. Precision	-	+(1)	-	+(1)
Specificity (2)	+	+	+	+
Detection Limit	-	-(3)	+	-
Quantitation Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

Fuente: Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano, Validación del procedimiento analítico: definiciones y metodología Q2 R1, 2006, p. 4.

Según la ICH Q2 R1 (2006) los símbolos de la figura 63 tienen como significado:

- significa que esta característica no se evalúa normalmente, + significa que esta característica se evalúa normalmente, (1) en los casos en que se haya realizado la reproducibilidad, precisión intermedia no es necesario, (2) la falta de especificidad de un procedimiento analítico podría compensarse con otro procedimiento analítico de apoyo, (3) puede ser necesario en algunos casos (p. 4).

Características de un estudio de validación

Protocolo de validación

Como lo mencionan en el AEFI (2001b), el primer documento que se debe tener es un protocolo el cual es un documento que recopila todos los aspectos que debe indicar la finalidad de la validación a realizar, la definición del sistema a validar, la identificación de los parámetros; esto va a depender principalmente del tipo de las características de la muestra que se va a analizar, del método analítico y del rango de concentración del analito.

El protocolo de validación de métodos analíticos debe diseñarse una vez que se entiendan las capacidades del método, el uso previsto del mismo y las virtudes y deficiencias del mismo. El protocolo posee todos los criterios de aceptación que tiene que cumplir el método y cualquier fallo que ocurra en la validación debe ser repetido o realizar una investigación de lo sucedido, ya sea un error del equipo de análisis o del analista a cargo. Además, en el protocolo se detallan los pasos a seguir para realizar la validación. (Breux, Jones y Boulas, 2003b)

Importancia de los protocolos de validación

La importancia de realizar un protocolo de validación de un método analítico es que se puede evidenciar que un método analítico es el correcto para el análisis de una sustancia en específico, ya sea pura o en una forma farmacéutica que la contenga, y se pueden obtener pruebas respaldadas por el documento respectivo. Por otro lado, cuando se utiliza un método analítico validado, se garantizan que los resultados que se obtienen son confiables y seguros. (AEFI, 2001c)

En relación con lo anterior, al poseer un protocolo de validación se considera más fácil y disminución del tiempo en el momento de realizar la validación ya que solamente es de seguir los pasos que indica el protocolo, para así poder trabajar con el menor número de fallos y repeticiones si por el contrario no se cuenta con un protocolo ya revisado y aprobado. Es importante tener claro que antes de iniciar la elaboración de un protocolo de validación se debe tener perfectamente caracterizado el analito y por consiguiente el método que se quiere validar, además de tener definido todos los detalles y estar seguro de que las condiciones descritas son las correctas para alcanzar los resultados que se desean obtener. (AEFI, 2001d)

Revisión de métodos analíticos validados

Según el RTCA de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos (11.03.39:06) para la revisión por parte de la Autoridad Reguladora de los

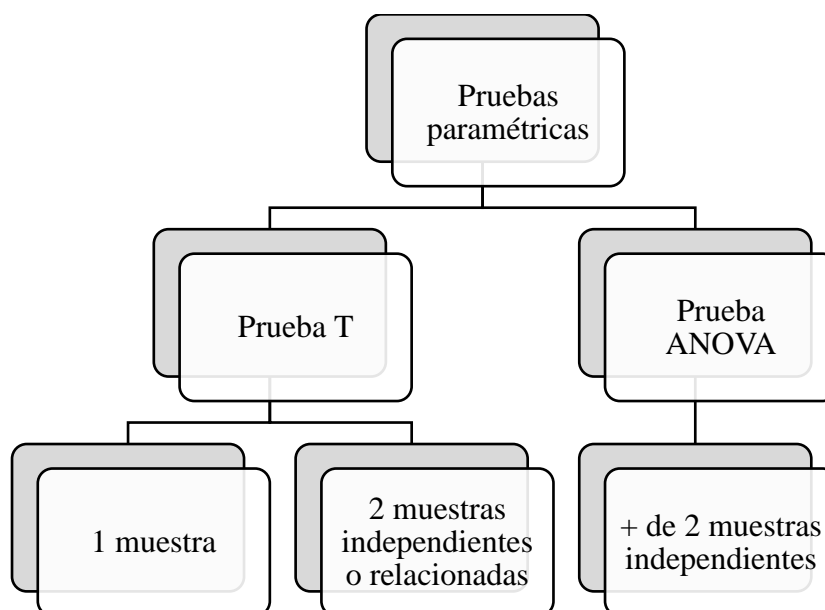
métodos validados, el informe del estudio de validación debe contener la siguiente documentación:

1. Descripción detallada del procedimiento analítico.
2. Descripción de los parámetros de desempeño.
3. Evaluación y cálculos estadísticos para la verificación de los parámetros de desempeño.
4. Resumen de los resultados instrumentales obtenidos (áreas o absorbancias impresas).
5. Resumen de los resultados de la validación obligatoriamente en idioma español/castellano o debidamente traducido.
6. Conclusiones deben ser obligatoriamente entregadas en idioma español/castellano o debidamente traducidas.

Pruebas paramétricas

Las pruebas paramétricas son pruebas de significación estadística, las cuales están encargadas de cuantificar la asociación o independencia que existe entre una variable cuantitativa y una categórica. (Rubio y Berlanga, 2012a) Por otro lado, estas pruebas solamente se pueden utilizar si los datos facilitan y expresan una distribución normal, es por esto que al elegir una prueba estadística adecuada se va a proveer una fácil comprensión y aplicación de los resultados obtenidos. (Flores, Miranda y Villasís, 2017)

Figura 64. Mapa conceptual de pruebas paramétricas



Fuente: Elaboración propia (2020), con base en (Rubio y Berlanga, 2012b)

La prueba t se divide en tres tipos, en primer lugar, para una muestra, se basa en si la media de una población interfiere con mucha importancia en un valor que es hipotetizado o si ya es previamente conocido; por otro lado, para dos muestras independientes, se utiliza en la comparación entre las medias de dos poblaciones independientes y para dos muestras relacionadas, se utiliza para contrastar dos medias de dos poblaciones que no sean independientes, es decir, que ambas muestras a estudiar estén relacionadas entre sí. (Rubio y Berlanga, 2012c)

La prueba ANOVA es utilizada para más de dos muestras independientes. De acuerdo con Rubio y Berlanga (2012) “es el acrónimo de análisis de la varianza, además de ser una prueba estadística desarrollada para realizar simultáneamente la comparación de las medias de más de dos poblaciones”. Se debe agregar la variable que se desea analizar, esta hace referencia a la variable dependiente, así como también añadir la variable que define los grupos objeto de comparación, que serían el factor.

Amat (2016) menciona la idea intuitiva del ANOVA:

El funcionamiento básico de un ANOVA consiste en calcular la media de cada uno de los grupos para a continuación comparar la varianza de estas medias. El estadístico estudiado en el ANOVA, conocido como F_{ratio} , es el ratio entre la varianza de las medias de los grupos y el promedio de la varianza dentro de los grupos. Este estadístico sigue una distribución conocida como "F de Fisher-Snedecor". Si se cumple la hipótesis nula, el estadístico F adquiere el valor de 1 ya que la intervarianza será igual a la intravarianza (p. 4).

Como lo indica Amat (2016) el valor estadístico del ANOVA se calcula dividiendo las varianzas calculadas a partir de las muestras de la siguiente manera:

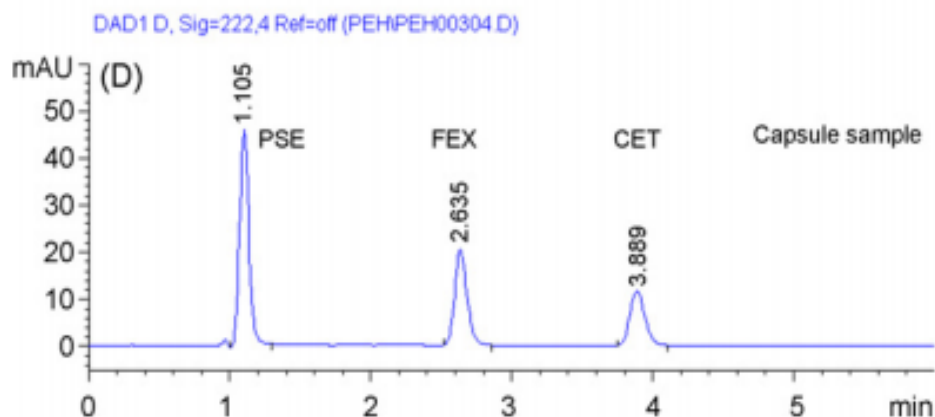
$$F = \frac{\sigma_1^2 (\text{varianza 1})}{\sigma_2^2 (\text{varianza 2})}$$

MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CETIRIZINA Y PSEUDOEFEDRINA CLORHIDRATO

Para el diseño de un método analítico de un medicamento no farmacopeico, el primer paso recomendado es realizar una revisión de métodos de análisis del o los principios activos, por lo que se mostrarán a continuación.

Para la determinación de cetirizina, pseudoefedrina y fexofenadina en una forma farmacéutica binaria se utiliza un HPLC de fase inversa donde se utiliza una columna de separación C8, 150 mm × 4,6 mm; tamaño de partícula de 5 µm a una longitud de onda de 218 nm y 222 nm, utilizando una fase móvil trietilamina 0,5% pH 4.5: Metanol: Acetonitrilo 50:20:30, con velocidad de flujo de 1.5 mL/min y un volumen de inyección de 20µL. El demostró ser lineal, exacto, preciso y específico, dicho lo anterior se puede decir que es un método apto para ser aplicado, no obstante debe ser probado por el laboratorio farmacéutico para demostrar su eficacia. (Karakus, Kucukguzel, I., Kucukguzel, S., 2008)

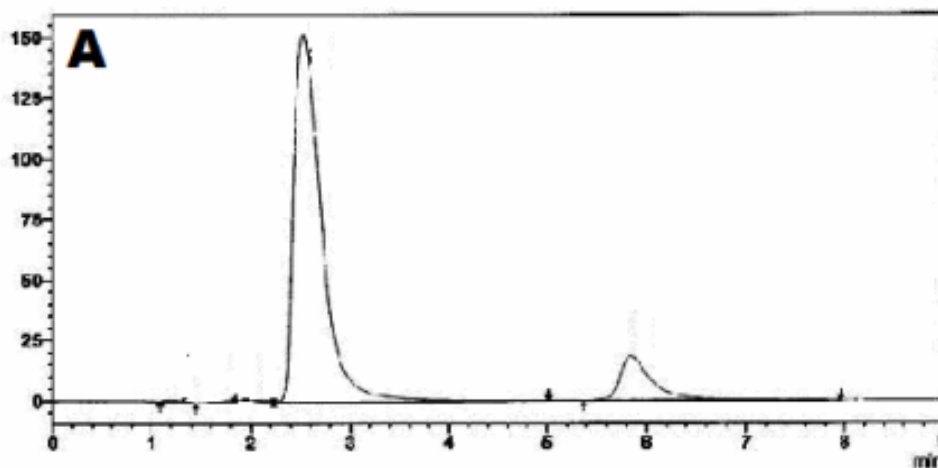
Figura 65. Cromatograma de pseudoefedrina, fexofenadina y Cetirizina respectivamente



Fuente: (Karakus, Kucukguzel, I., Kucukguzel, S., 2008, p. 301)

Según Abu-Shandi *et al.* (2013) para determinar la cetirizina y la pseudoefedrina combinadas en una tableta por medio de un HPLC, se necesita una fase móvil la cual es correspondiente a acetonitrilo: agua 53: 47 con 200 mg de ácido heptano sulfonato de sodio y el valor de pH se ajustó a 2,5 con ácido sulfúrico, se utiliza una columna C18 de 250 x 4,6 mm con 5,0 µm de tamaño de partícula, haciendo lectura de las muestras y estándares a una longitud de onda de 220 nm, además de una velocidad de flujo de 1.0 mL/min y un volumen de inyección de 20µl. Se establece como un método de análisis confiable y seguro con una instrumentación sensible, selectiva y simple.

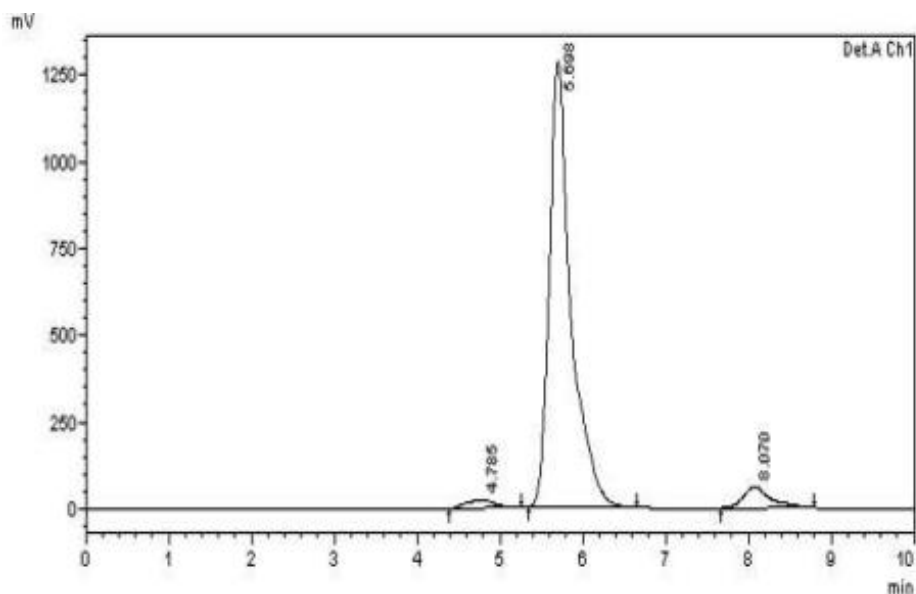
Figura 66. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente



Fuente: (Abu-Shandi *et al.*, 2013, p. 193)

Para determinar cetirizina, pseudoefedrina y paracetamol en forma farmacéutica de tabletas se hace uso de una columna de separación C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm, con una fase móvil de acetonitrilo: ortofosfato dihidrógeno potásico con una gota de trietilamina por cada 100mL de buffer pH 7.5 50:50, con una longitud de onda de 220 nm, utilizando una velocidad de flujo de 0.5mL/min y un volumen de inyección de 20 μL. El método de análisis empleado demuestra ser sensible, simple, exacto y preciso. (Pandit *et al.*, 2015)

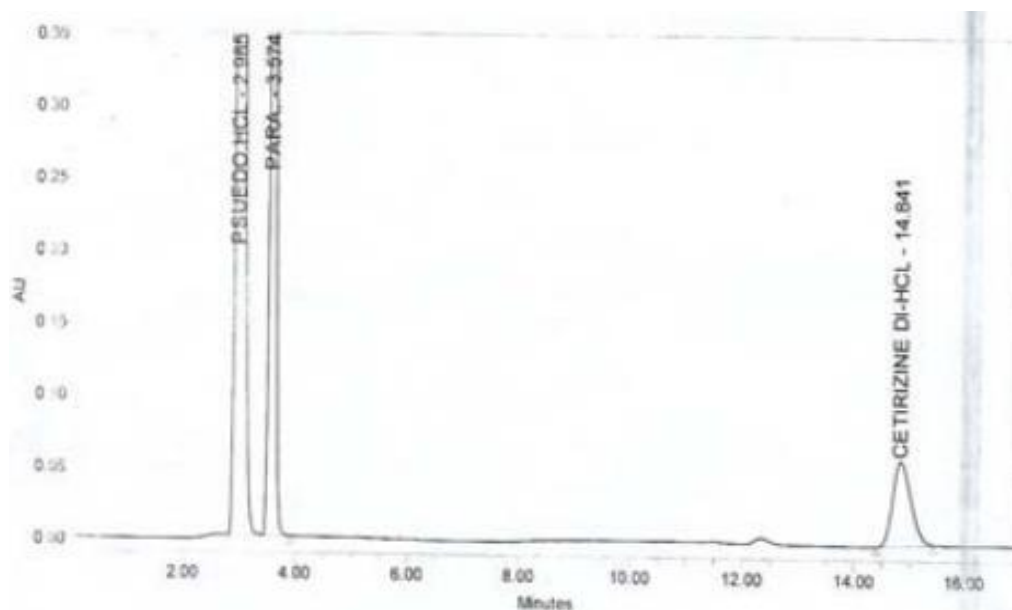
Figura 67. Cromatograma de pseudoefedrina, paracetamol y cetirizina respectivamente



Fuente: (Pandit *et al.*, 2015, p. 1723)

De acuerdo con Kumudhavalli, Saravanan, Kumar y Jayakar (2009) el método de análisis utilizado para la cuantificación de pseudoefedrina clorhidrato, cetirizina diclorhidrato y paracetamol en comprimidos que no poseen recubrimiento consta de una columna C8 250 x 4,6 mm preempaquetada, utilizando una solución buffer de agua, acetonitrilo y trietilamina pH 3.8 ajustado con ácido sulfúrico, una fase móvil de buffer: acetonitrilo 85:15, a una velocidad de flujo de 1.0 mL/min y un volumen de inyección de 20 μ L, las lecturas fueron a una longitud de onda de 215 nm. Se reconoce que es un método sencillo y eficaz.

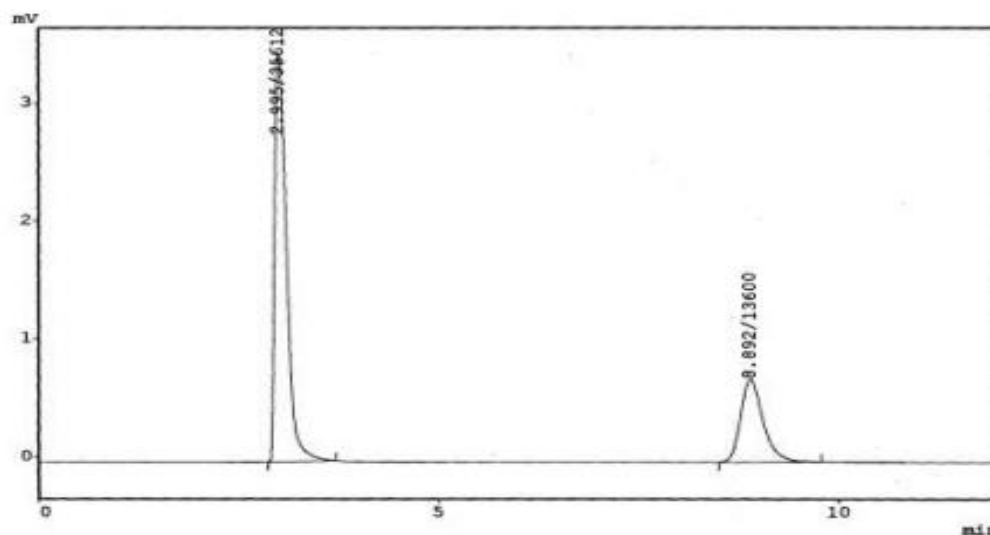
Figura 68. Cromatograma de pseudoefedrina, paracetamol y cetirizina respectivamente



Fuente: (Kumudhavalli, Saravanan, Kumar y Jayakar, 2009, p. 98)

Para el desarrollo de un método de análisis para la determinación de cetirizina y pseudoefedrina se utilizó una columna C18, 300 mm x 3,9 mm; empaquetado con un tamaño de partícula de 10 μ m, además de un buffer de fosfato de potasio y agua, ajustando el pH 3,0 con ácido ortofosfórico diluido. La fase móvil fue una mezcla de buffer: acetonitrilo 60:40, empleando una velocidad de flujo de 1.0 mL/min, con un volumen de inyección de 20 μ L y para la detección de los principios activos una longitud de onda de 220 nm, todo el análisis de modo isocrático. (Rawool, Venkatchalam y Singh, 2013)

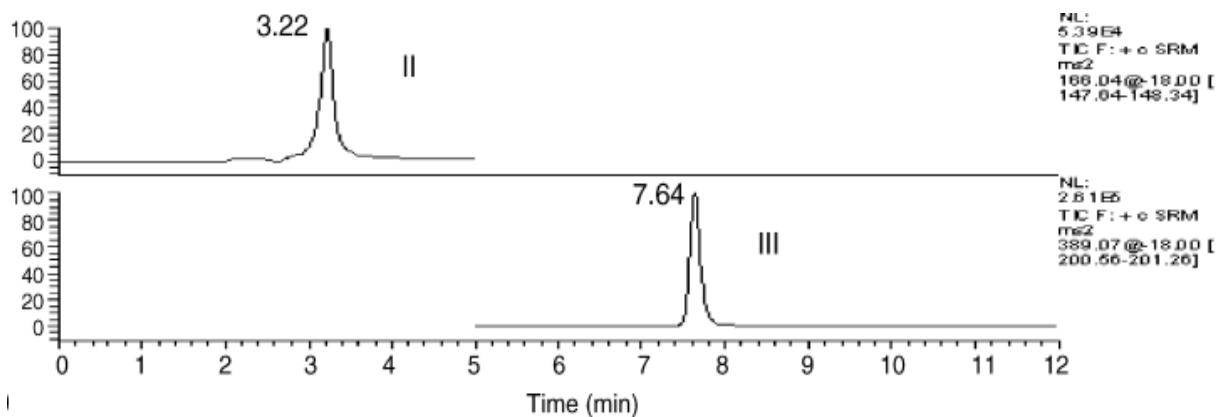
Figura 69. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente



Fuente: (Rawool, Venkatchalam y Singh, 2013, p. 59)

Según Feng, Yulan, Shuangjin y Han (2007) un método de análisis para determinar la pseudoefedrina y cetirizina fue utilizando una columna C8, 5 μ m, 250 mm \times 4,6 mm, una velocidad de flujo de 1.0 mL/min, siendo un análisis de modo gradiente el cual consistió de dos soluciones: A (agua con ácido fórmico al 0,13%) y B (Metanol), la fase móvil empezó 45% A y 55% B, luego de 2 min aumentó a 30% A y 70% B por 8 min, seguido de 2 min de 45% A y 55% B para equilibrar la columna, y así por cada inyección que se realizó.

Figura 70. Cromatograma de pseudoefedrina y cetirizina respectivamente

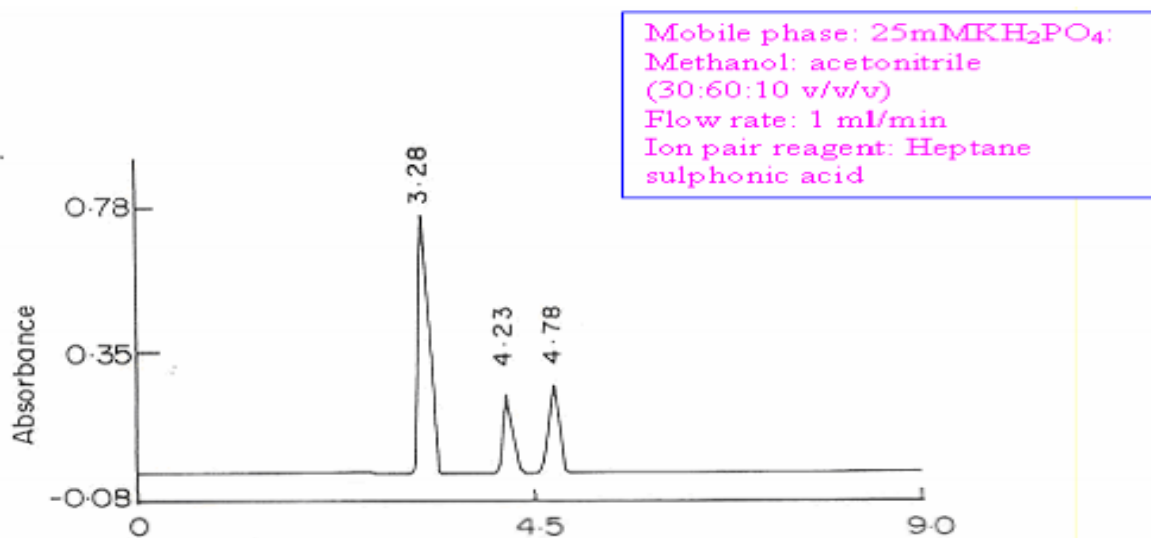


Fuente: (Feng, Yulan, Shuangjin y Han, 2007, p. 109)

Para la determinación de paracetamol, cetirizina y pseudoefedrina se empleó un método de análisis donde se utilizó una columna de separación C18, con una velocidad de flujo de 1.0 mL/min de modo isocrático, además la fase móvil que se empleó fue de un buffer de fosfato pH

5.0: metanol: acetonitrilo 30:6:10 con 100mg de heptanosulfonato de sodio por cada 100mL de fase móvil. La detección de cada principio activo se llevó a cabo con una longitud de onda de 240 nm. (Sivasubramanian y Lakshmi, 2009)

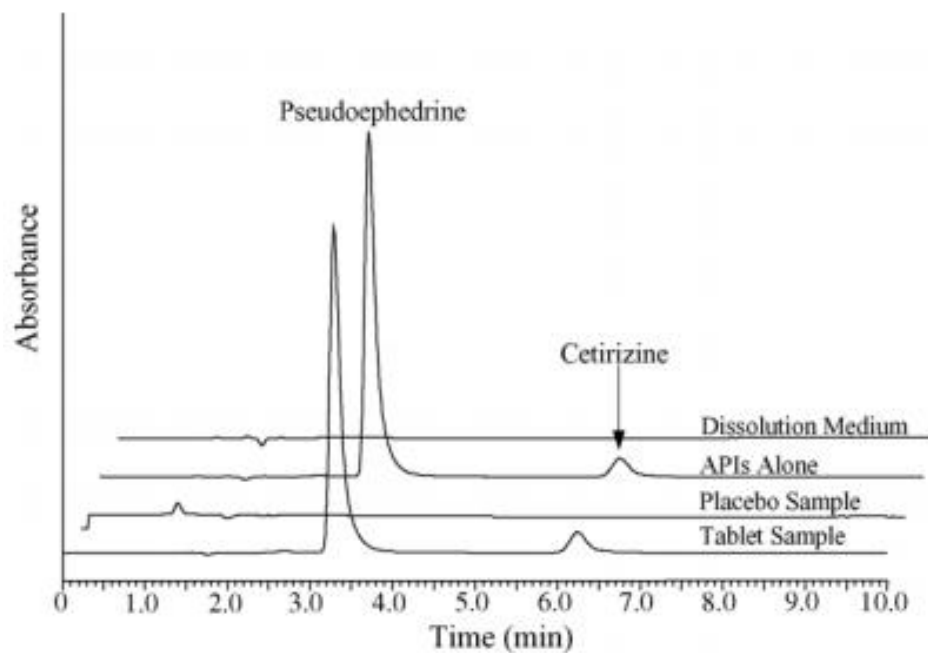
Figura 71. Cromatograma de paracetamol, cetirizina y pseudoefedrina respectivamente



Fuente: (Sivasubramanian y Lakshmi, 2009, p. 38)

Para la prueba de disolución de tabletas de cetirizina diclorhidrato liberación inmediata y de pseudoefedrina clorhidrato liberación prolongada, se desarrolló y validó un método de análisis el cual consistió en utilizar el aparato II (paletas) a una velocidad de 50 rpm, con un medio de disolución de 1000 mL de agua desionizada y desaireada, a una temperatura de trabajo de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Se tomaron muestras a los 15, 30, 45 y 60 min y después a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 horas, las cuales fueron analizadas en un HPLC con detección UV con una columna de separación $5 \mu\text{m}; 15 \text{ cm} \times 4,6 \text{ mm}$ a una temperatura de 30°C , con una fase móvil de fosfato de sodio pH 6.5: metanol 1:1 con octanosulfonato como agente de par iónico, además de una velocidad de flujo 1.0 mL/min y volumen de inyección de 10 μL . (Likar, Mansour y Harwood, 2005)

Figura 72. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina diclorhidato respectivamente



Fuente: (Likar, Mansour y Harwood, 2005, p. 545)

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

En el presente capítulo se realizará una descripción de las principales características de la investigación, como lo son el enfoque y los distintos aspectos que componen el diseño metodológico, así como unidades de análisis, operacionalización de variable, instrumentos, procedimientos y recursos y por último el proceso para la recolección y análisis de datos.

Enfoque de investigación

Según Hernández, Fernández y Baptista (2014), el enfoque mixto se define como un conjunto de procesos sistemáticos, empíricos y críticos de investigación que implican la recolección y el análisis de datos tanto cuantitativos como cualitativos, así como su integración y discusión de los resultados para realizar conclusiones de toda la información recolectada y lograr un mayor entendimiento del fenómeno que se encuentra en estudio.

La presente investigación posee un enfoque mixto referente al desarrollo y validación de un método analítico para la determinación cuantitativa de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato en un producto de una industria farmacéutica nacional en el periodo de mayo a agosto del 2020; dicha investigación es mixta ya que se pretende realizar una recolección de datos teóricos para después realizar mediciones y análisis en el laboratorio Medigray. De esta manera desarrollar un método de análisis no farmacopéico para una formulación de cápsulas de pellets, elaborar un protocolo de validación y por último validar el método analítico desarrollado.

Diseño de la investigación

En cuanto al diseño de esta investigación se realizará un estudio exploratorio secuencial, donde según Hernández *et al.* (2014), este diseño involucra una fase inicial de recolección y análisis de datos cualitativos seguida de otra donde se recaudan y analizan datos cuantitativos. Se atiende la finalidad como derivativa, definiéndose como la recolección y el análisis de los datos cuantitativos se hacen sobre la base de los resultados cualitativos.

Se da este tipo de diseño debido a que primeramente se estudiará el comportamiento de las pruebas para el desarrollo del método analítico, seguido de la recolección de datos cuantitativos y así realizar una interpretación final producto de la comparación e integración de

resultados cualitativos y cuantitativos. La información necesaria para la estandarización de criterios de aceptación para la recolección de datos se toma tanto de la farmacopea USP 40 como del Reglamento Técnico Centroamericano sobre evaluación de medicamentos, para la elaboración un protocolo de validación y por consiguiente se realizan las pruebas necesarias para el diseño del método analítico y su validación respectiva.

VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

Unidades de Análisis

Tabla 12. Unidades de análisis

Objetivo específico	Unidad de análisis	Definición conceptual	Instrumentos
Elaborar un protocolo de validación para el método analítico de una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.	Protocolo de validación.	“Es un documento que indica cómo se realizará la validación, incluyendo parámetros de prueba, características de producto, equipo de fabricación, y puntos de decisión en lo que constituye un resultado de prueba aceptable”. (Jacobson, 2014)	Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 (RTCA).

Operacionalización de variable

Tabla 13. Operacionalización de variable

Objetivo específico	Variable	Definición conceptual	Indicador	Instrumento
Diseñar un método de análisis no farmacopeico para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.	Método analítico.	El método analítico es una vía para conseguir un resultado mediante el análisis químico de un fenómeno en sus elementos constitutivos. (Lopera, Ramírez, Zuluaga, y Ortiz, 2010)	Prueba de potencia: 90%-110%. Prueba de disolución: S1 ninguna unidad (6 unidades) es menor que Q+5. Sino hacer S2 analizar otras 6 unidades, el promedio de las 12 unidades (S1 + S2) es igual o mayor que Q y ninguna unidad es menor que Q-15%. Prueba identificación: 242nm Prueba de uniformidad de contenido: Criterio de aceptación (AV)	Prueba de potencia: HPLC, balanza analítica. Prueba de disolución: disolutor, HPLC. Prueba identificación: HPCL. Prueba de uniformidad de contenido: HPLC, balanza analítica.

				límite de 15%.	
Validar la prueba de potencia, identificación y uniformidad de contenido para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.	Prueba de potencia, identificación y uniformidad de contenido.	Prueba de potencia: Es el parámetro que indica el efecto activo de un principio activo. (Tasici, 2015) Prueba de identificación: Es la prueba en la cual se muestra el principio activo. (Amaro <i>et al.</i> 2017) Uniformidad de contenido: Cuantifica cuanto varía la cantidad de principio activo en un lote. (Pérez, Morales, Hernández y Vargas, 2014)	Exactitud: intervalo alrededor de 1,0 o muy cercano a 1,0. Precisión o repetibilidad: la desviación estándar relativa menor a 2%. Especificidad: Picos cromatográficos claramente identificados. Linealidad e Intervalo: Concentración 80%-120%; Uniformidad de contenido 70%-130% de concentración de la prueba.	Protocolo de validación.	

Instrumentos

Instrumento Cualitativo

El Reglamento Técnico Centroamericano 11.03.39:06 (RTCA)

Es un reglamento que establece pruebas para la validación de métodos analíticos fisicoquímicos y microbiológicos utilizados en el control de calidad de medicamentos. (Ruiz, Cuevas, Mayora, Rosa y Arguello, 2006) Haciendo referencia al tema de la elaboración de un protocolo de validación para el método analítico de una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg, en el cual se obtendrán los requisitos y parámetros ya establecidos, los cuales se utilizan como referencia para la elaboración del protocolo de validación.

Instrumentos Cuantitativos

Potencia

Es una prueba que determina el grado de efecto que tiene la sustancia o formulación, la cual para el método de análisis no farmacopeico para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg, debe estar entre los criterios de aceptación 90,0% - 110,0% para la aprobación de la misma.

Prueba de disolución

La prueba de disolución es una prueba in vitro que evalúa la cantidad de principio activo que se disuelve en los medicamentos de las formas farmacéuticas sólidas y así simular la biodisponibilidad en el paciente. (FDA, 2018) Haciendo referencia al método de análisis no farmacopeico para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg tanto de liberación controlada como de liberación inmediata respectivamente.

Prueba identificación

La prueba de identificación es una prueba que facilita la detección de sustancias farmacéuticas como son los principios activos, además si se encuentran degradaciones importantes para lograr excluirlas de la formulación. (OMS, 2012) Haciendo referencia al método de análisis no farmacopeico para una formulación de cápsula de pellets, para así identificar la presencia de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.

Prueba de uniformidad de contenido

La prueba de uniformidad de contenido se aplica a las formas farmacéuticas orales como tabletas o cápsulas cuando el principio activo es menor a 25mg o cuando el principio activo representa menos del 25% del tamaño total de la dosis para así medir el grado de variabilidad en el proceso de manufactura del medicamento. (Pérez, Morales, Rojas, Vargas, 2014) Dicha prueba se le aplica a la formulación de cápsula de pellets directamente al principio activo cetirizina clorhidrato ya que posee 5mg y un 1,17% del total de la dosis.

Protocolo de validación.

El protocolo de validación “es un documento que indica cómo se realizará la validación, que incluye criterios para cada prueba, características del producto, equipo de análisis y algunos puntos de decisión en lo que constituye un resultado de prueba aceptable.” (Jacobson, E) Haciendo referencia al tema de validación de la prueba de potencia, disolución, identificación, uniformidad de contenido, variación de peso e impurezas para una formulación de cápsula de pellets de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg.

Procedimientos y recursos

Para la elaboración del protocolo de validación:

1. Se consulta en el RTCA 11.03.39:06 y el ICH para establecer los parámetros que se necesitan para validar el método analítico y se elabora el protocolo en referencia a dicho reglamento.

Para diseñar el método de análisis:

1. Se investigan algunos tipos de métodos.
2. Se recopila información de los principios activos: estructuras moleculares, propiedades fisicoquímicas, grupos funcionales.
3. Se inicia con el desarrollo del método inicial: se realizan corridas de prueba para adquirir los primeros picos cromatográficos.
4. Se elige el mejor método analítico y se realizan los ajustes y optimización del método.
5. Se hace una prevalidación del método de análisis para garantizar que el método se puede validar con éxito.

Para validar la prueba de potencia, identificación y uniformidad de contenido:

1. Se realiza una sola validación para las pruebas de potencia, identificación y uniformidad de dosis de unidades de dosificación del método de análisis, en la cual para la validación se considera la prueba con mayor criticidad, tomando como referencia y haciendo uso del protocolo de validación que se realiza contemplando los parámetros del RTCA 11.03.39:06 como por ejemplo especificidad, linealidad, exactitud, precisión, repetibilidad y reproducibilidad.

Proceso para la Recolección y Análisis de Datos

En la investigación los objetivos específicos se van a alcanzar en una empresa farmacéutica nacional, la cual brindará todos los materiales y equipos para el desarrollo de los mismos. La elaboración del protocolo de validación se hará con base al Reglamento Técnico Centroamericano, correspondiente a validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos. (RTCA 11.03.39:06) Al diseñar el método analítico se realizarán distintas pruebas para garantizar que los resultados obtenidos demuestren que el medicamento se encuentra dentro o fuera de especificaciones, como lo son las de la de potencia, disolución, identificación y uniformidad de contenido. Asimismo la validación de dicho método analítico ya desarrollado se consigue gracias al protocolo de validación elaborado anteriormente.

El análisis de la formulación farmacéutica se realizará haciendo uso de un cromatógrafo líquido de alto desempeño (HPLC), el cual es empleado para analizar cada principio activo a su respectiva longitud de onda e indicar las áreas de cada pico cromatográfico que son necesarias para la resolución de cálculos matemáticos y así comprobar que cada resultado cumple con los criterios de aceptación. Los cálculos matemáticos se desarrollarán por medio de un documento ya establecido por la empresa farmacéutica en el programa Excel.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se exponen los resultados obtenidos acerca del tema de investigación, tomando en cuenta los tres objetivos específicos expuestos anteriormente.

Pruebas de aptitud del método analítico

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las pruebas preliminares del método analítico, para el análisis de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato en su presentación de cápsulas de pellets. Las pruebas del método se realizaron utilizando materia prima, con el fin de observar el comportamiento de cada principio activo y así mejorar el desempeño del método para la cuantificación de cada uno.

Método basado en el test 1 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato

Tabla 14. Condiciones cromatográficas prueba de método analítico 1

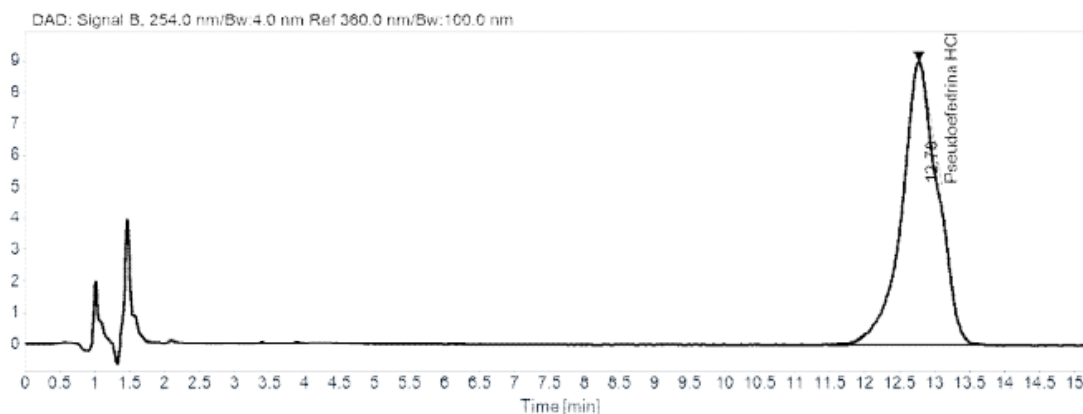
Disolvente para estándares y muestras	Ácido clorhídrico 0,1 N
Concentración de trabajo	Pseudoefedrina clorhidrato 0,24 mg/mL Cetirizina clorhidrato 0,01 mg/mL
Buffer	0,77 g/L acetato de amonio; 1,0 mL/L de trietilamina; ajusta pH 4.5 con ácido acético glacial
Fase móvil	Buffer: Acetonitrilo 70:30
Longitud de onda	Pseudoefedrina clorhidrato 254 nm Cetirizina clorhidrato 230 nm
Columna	L9, 4,6mm x 15 cm; 5 µm
Velocidad de flujo	1,5 mL/min
Volumen de inyección	25 µL
Tiempo de corrida	15 minutos

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en USP 40

En la tabla 14 se detallan los parámetros o condiciones cromatográficas que se deben cumplir para analizar los principios activos pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato, adaptando el método analítico basado en el test 1 de disolución de la USP 40 para tabletas, a cápsulas de pellets, sin realizar modificaciones ni ajustes del mismo.

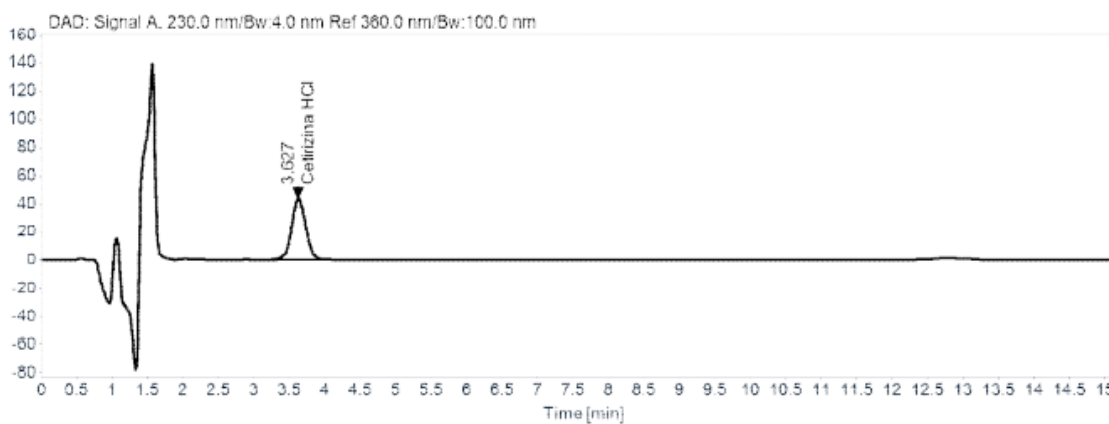
Seguidamente se muestran los cromatogramas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato, leyendo cada analito a su longitud de onda 254 nm y 230 nm respectivamente, en los cuales se puede apreciar que la pseudoefedrina se retiene a un tiempo aproximado de 13,7 minutos y la cetirizina aproximadamente a los 3,0 minutos.

Figura 73. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato (254 nm)



Fuente: Elaboración propia (2020)

Figura 74. Cromatograma de cetirizina clorhidrato (230 nm)



Fuente: Elaboración propia (2020)

Tabla 15. Aptitud del sistema con estándares

	Pseudoefedrina clorhidrato	Cetirizina clorhidrato
Lecturas	21056146	28949650
	21320455	34329398
	21190292	29881590
	21162861	31788616
Promedio	21182439	31237314

Desviación estándar relativa de trabajo	0,5%	7,6%
---	-------------	-------------

Fuente: Elaboración propia (2020)

Tabla 16. Resultados de método analítico basado en el test 1 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato

		Pseudoefedrina clorhidrato	Cetirizina clorhidrato
% Recuperación de muestras al 100%	1	98,9	80,5
	2	100,0	94,1
	3	99,5	105,3
	4	99,2	89,5
	5	99,7	111,3
	6	99,7	107,1
	Promedio	99,5	98,0
	Desviación estándar relativa	0,4%	12,1%

Fuente: Elaboración propia (2020)

En la tabla 16 se muestran los resultados de la primera prueba analítica para obtener los porcentajes de recuperación de cada principio activo en las muestras del medicamento, por lo que se puede observar que la pseudoefedrina clorhidrato mantiene sus resultados dentro de las especificaciones establecidas por la USP 40 para reproducibilidad, de una desviación estándar relativa (RSD) no mayor a un 2,0%, resultando una RSD de 0,4% por lo que es conforme con respecto a lo establecido para el criterio de validación. Por otro lado, se visualiza que la cetirizina clorhidrato posee datos fuera del intervalo aceptable para cumplir con lo establecido, presentando una RSD de 12,1%, por lo que no es conforme ya que no debe ser mayor al 2,0%.

Se determina que el método analítico no es apto, ya que se puede apreciar que la RSD del estándar de cetirizina es mayor al 2,0% (RSD= 7,6%), es por esta razón que al no encontrarse conforme uno de los principios activos, se decide seguir investigando sobre las propiedades fisicoquímicas de cada analito (ver tabla 5 y 6) para proponer un nuevo método de análisis.

Seguido de una investigación de las propiedades fisicoquímicas de cada principio activo, se llega a la conclusión que la pseudoefedrina clorhidrato se encuentra en su forma ionizada, ya que posee dos pka que son mayores a 8 y para ser retenido debe estar en su forma no ionizada. La

retención de sustancias ionizadas se ve favorecida por el uso de un par iónico. (Horvath *et al.*, 1977). Se realiza una búsqueda de métodos analíticos y se opta por probar el método de análisis basado en el test 2 de disolución de la USP 40 para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato, y de ser necesario realizar los ajustes o la optimización del mismo.

Método basado en el test 2 de disolución de la USP para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato

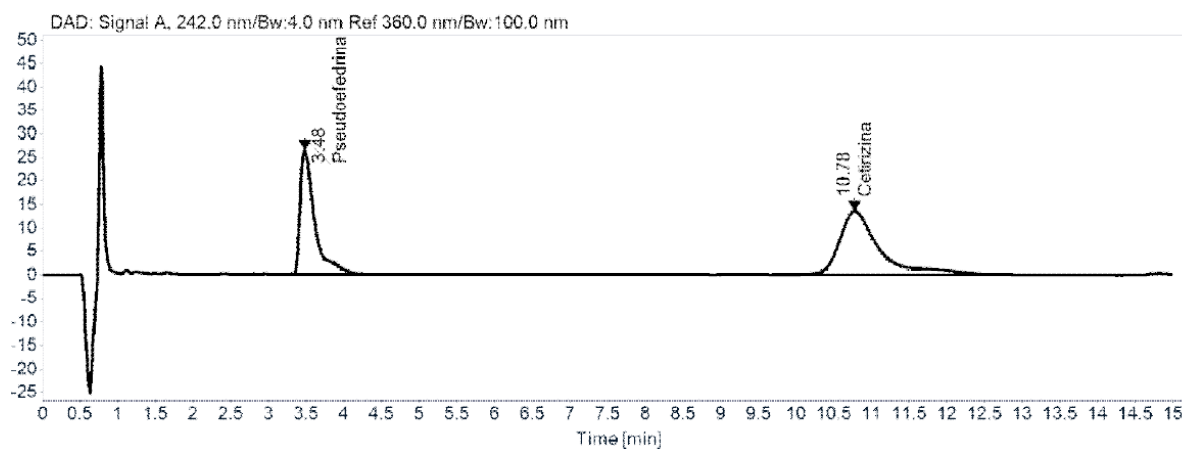
Tabla 17. Condiciones cromatográficas prueba de método analítico 2

Disolvente para estándares y muestras	Ácido clorhídrico 0,1 N
Concentración de trabajo	Pseudoefedrina clorhidrato 0,24 mg/mL Cetirizina clorhidrato 0,01 mg/mL
Buffer	6,8 g/L acetato de sodio; 16,2 g/L de 1-octanosulfonato de sodio; ajusta pH 5.5 con ácido acético glacial
Fase móvil	Buffer: Metanol 50:50
Longitud de onda	242 nm
Columna	C18, 4,6mm x 10 cm; 5 µm
Velocidad de flujo	2,0 mL/min
Volumen de inyección	100 µL
Tiempo de corrida	15 minutos
Se retiene primero la pseudoefedrina clorhidrato y por último la cetirizina clorhidrato	

Fuente: Elaboración propia (2020), con base en USP 40

Primeramente se realizó una prueba en la cual se leen 10 muestras de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con las condiciones cromatográficas representadas en la tabla 17. Después del análisis de los picos cromatográficos de ambos principios activos se observa que poseen un factor de asimetría, ya que en la señal se puede notar una cola en ambos analitos. Se obtiene como resultado de RSD para ambos analitos 5,8%, por lo que se supera el valor establecido de no mayor al 2,0% aceptable, es por esta razón que se opta por hacer un cambio de columna a una C8 por afinidad de la columna con el par iónico.

Figura 75. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con las condiciones cromatográficas prueba de método analítico 2

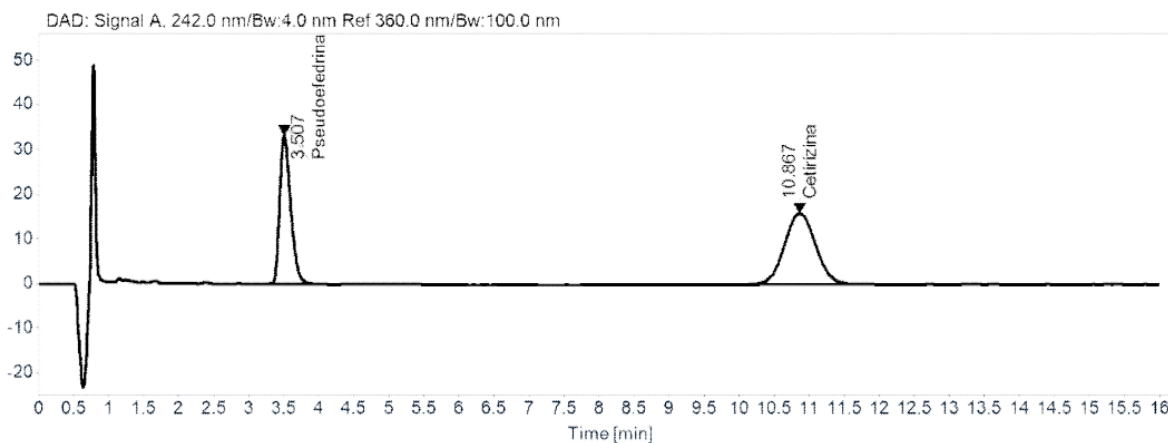


Fuente: Elaboración propia (2020)

Optimización de un método analítico para cápsulas de gelatina dura de pellets

Para la optimización del método analítico basado en el test 2 de disolución de la USP 40 para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato, se realizó una prueba en la cual se lee una muestra de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato cambiando y optimizando el método analítico brindado por la USP, por lo que la columna C18 pasa a ser una C8; el volumen de inyección pasa de 100 μ L a 50 μ L; además se cambia la concentración de trabajo para pseudoefedrina de 0,24 mg/mL a 1,2 mg/mL y para cetirizina de 0,01 mg/mL a 0,05 mg/mL; por otro lado la velocidad de flujo pasa de 2,0 mL/min a 1,5 mL/min, el tiempo de corrida a 16 minutos y por último se utiliza la misma fase móvil Buffer: Metanol 50:50; al cual se denominará método analítico 3. Su cromatograma se visualiza en la figura 76, observándose una mejoría en la simetría de los picos cromatográficos y tiempos de retención aceptables.

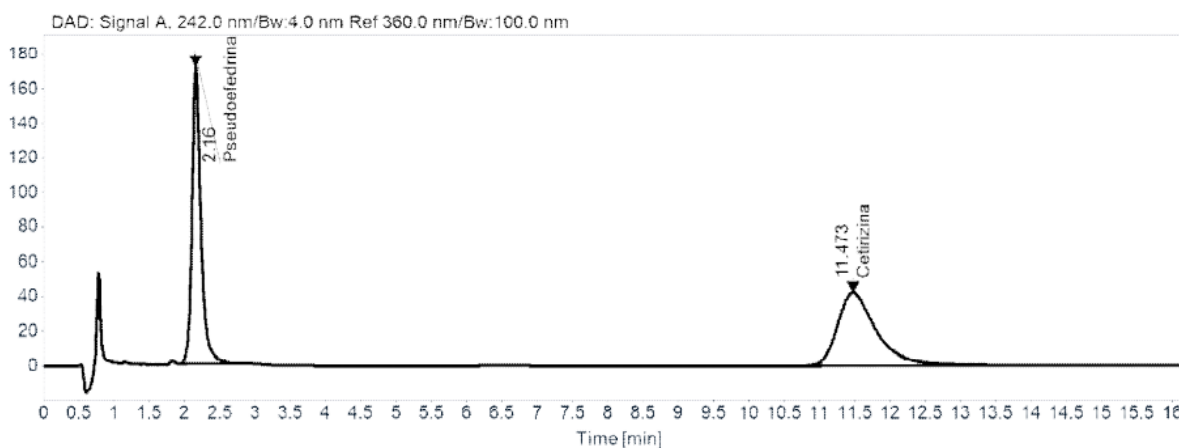
Figura 76. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con las condiciones cromatográficas prueba de método analítico 3



Fuente: Elaboración propia (2020)

Posteriormente se llega a la conclusión de que el par iónico utilizado se encuentra en gran cantidad por lo que se disminuye de manera aleatoria la cantidad del mismo en el buffer y se inician las pruebas en las cuales se lee una muestra de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato para así optimizar la cantidad de par iónico en el método de análisis.

Figura 77. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método analítico 3 (7,0 g/L par iónico)



Fuente: Elaboración propia (2020)

En la figura 77 se puede observar el cromatograma haciendo uso del método 3, en el cual se realizó un cambio en la cantidad de par iónico de 16,2 g/L a 7,0 g/L, para disminuir el consumo del reactivo. Se realizó con el método de elución isocrático y se puede evidenciar que el pico de pseudoefedrina no se retiene lo suficiente, retenándose a los 2,10 minutos, por lo que se propone la disminución de metanol en la fase móvil.

Seguido a la propuesta de disminuir el metanol se toma en cuenta los métodos de elución, por lo que se prueba con el modo gradiente, para así intentar que el pico de pseudoefedrina se retenga a un tiempo más adecuado disminuyendo el metanol ya que este tiene un poder mayor de elución, gracias a su polaridad (Urgellés, 2018). Después de un tiempo se aumenta el metanol para lograr que eluya el pico de cetirizina. Se emplea un tiempo de corrida de 18 minutos.

Seguidamente, se hace referencia a solvente A (buffer: metanol 50:50), solvente B (metanol) y solvente C (agua desionizada).

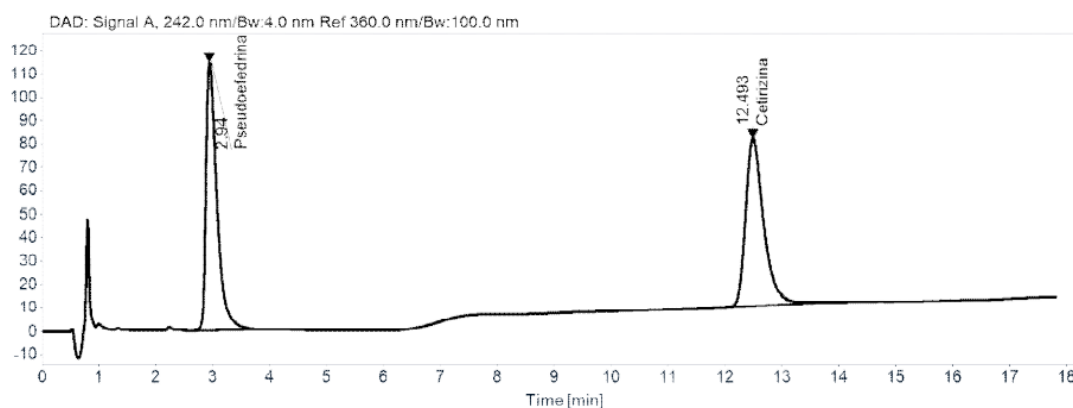
Tabla 18. Método de elución en gradiente con 7,0 g/L de par iónico

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Solvente C (%)
0	80	5	15
5	80	5	15
6	80	10	10
18	80	20	0

Fuente: Elaboración propia (2020)

En la tabla 18 se puede observar como el porcentaje del solvente A se mantiene en un 80%, el de metanol inicia en 5% para luego aumentar y lograr que se eluya el pico de cetirizina, contrario a lo que sucede con el agua desionizada, inicia con un 15% para contrarrestar la función del metanol y hacer que el par iónico actúe sobre la pseudoefedrina y se retenga el pico.

Figura 78. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método de elución en gradiente con 7,0 g/L de par iónico



Fuente: Elaboración propia (2020)

En la figura 78 se evidencia que el pico de pseudoefedrina se retiene a un tiempo considerable de 2,94 minutos aproximadamente, pero el gradiente finaliza en una proporción diferente a la que inicia la próxima inyección, por lo que no resulta confiable para las siguientes

inyecciones, ya que no se da el tiempo necesario para estabilizar la fase móvil de manera adecuada y asegurarse una correcta corrida.

Es por ello que se agrega un punto adicional en la tabla de elución gradiente, para que se relacione la proporción con la termina una corrida y esta sea la misma con la que inicie la siguiente (Ver tabla 19).

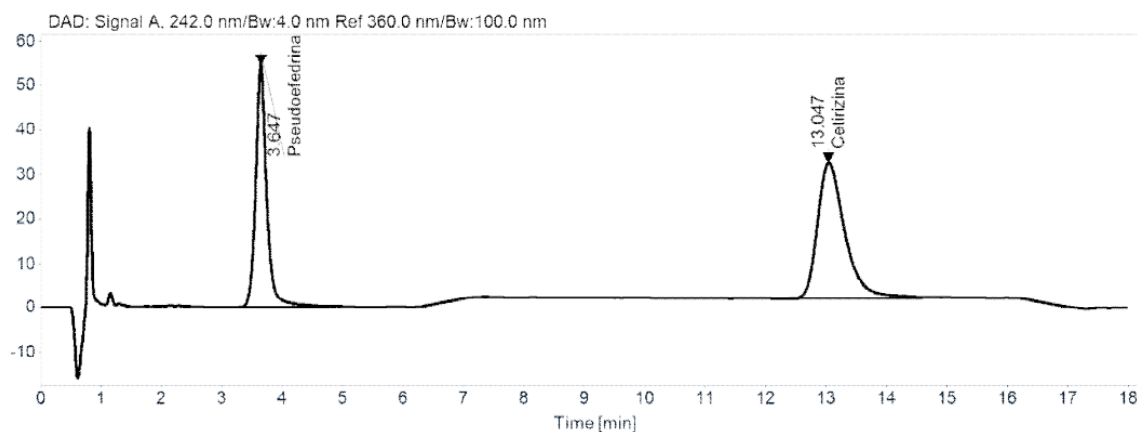
Tabla 19. Método de elución en gradiente

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Solvente C (%)
0	80	5	15
5	80	5	15
6	80	10	10
15	80	10	10
16	80	5	15
18	80	5	15

Fuente: Elaboración propia (2020)

En la tabla 19 se puede visualizar como el porcentaje de solvente A se mantiene en un 80%, el de metanol inicia en 5% para luego aumentar a los 6 minutos a 10% y lograr que se eluya el pico de cetirizina, finalmente vuelve a la condición inicial con un tiempo de 2 minutos de acondicionamiento para la siguiente inyección, sucede al contrario con el agua desionizada para disminuir el poder de elución que tiene el solvente A. Se realiza la prueba pero en lugar de 7 g/L de par iónico, se utilizan 5 g/L de par iónico.

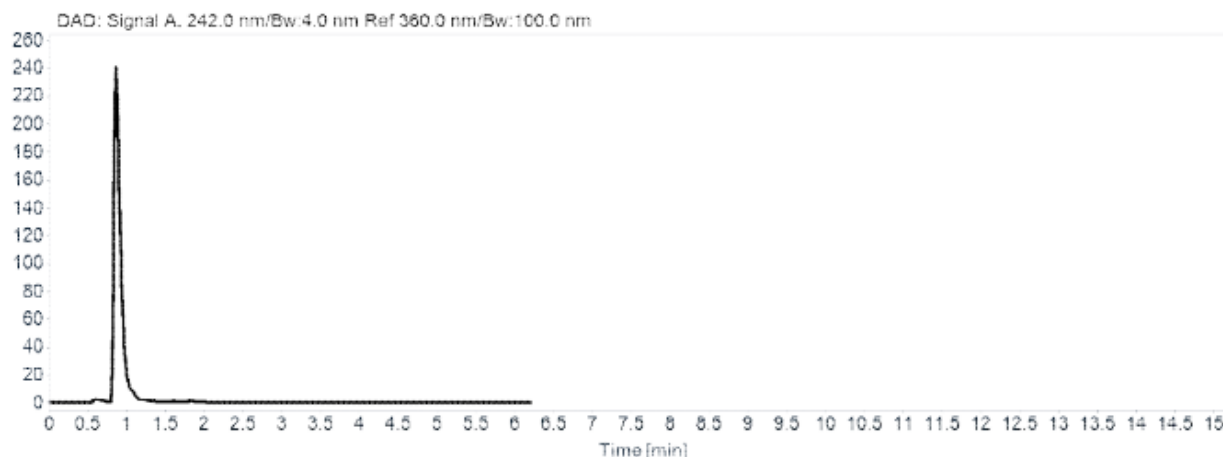
Figura 79. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato con método de elución en gradiente con 5,0 g/L de par iónico



Fuente: Elaboración propia (2020)

Seguidamente, se realiza una prueba con 4 g/L de par iónico con solamente pseudoefedrina clorhidrato, para intentar disminuir aún más la cantidad de 1-octanosulfonato de sodio.

Figura 80. Cromatograma de pseudoefedrina clorhidrato con 4 g/L de par iónico



Fuente: Elaboración propia (2020)

Se evidencia que la pseudoefedrina clorhidrato no se retiene al hacer uso de 4 g/L de 1-octanosulfonato de sodio, por lo que la cantidad final necesaria de par iónico a utilizar para la retención del pico es de 5,0 g/L.

Las condiciones cromatográficas del método analítico optimizado son las siguientes:

Tabla 20. Condiciones cromatográficas método analítico optimizado

Disolvente para estándares y muestras	Ácido clorhídrico 0,1 N			
Concentración de trabajo	Pseudoefedrina clorhidrato 1,2 mg/mL Cetirizina clorhidrato 0,05 mg/mL			
Buffer	6,8 g/L acetato de sodio; 5,0 mL/L de 1-octanosulfonato de sodio; ajusta pH 5.5 con ácido acético glacial			
Fase móvil (Método de elución gradiente)	Tiempo (min)	Buffer (%)	Metanol (%)	Agua (%)
	0	80	5	15
	5	80	5	15
	6	80	10	10

	15	80	10	10
	16	80	5	15
	18	80	5	15
Longitud de onda	242 nm			
Columna	C8, 4,6mm x 10 cm; 5 μ m			
Velocidad de flujo	1,5 mL/min			
Volumen de inyección	50 μ L			
Tiempo de corrida	18 minutos			
El tiempo retención relativo es de 0,27.				

Fuente: Elaboración propia (2020)

Se optimizó un método de análisis con diversas pruebas analíticas el cual fue elaborado para tabletas de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato, dando la posibilidad de analizar un medicamento no farmacopeico.

Tabla 21. Aptitud del sistema de estándares método analítico optimizado

	Pseudoefedrina clorhidrato	Cetirizina clorhidrato
Lecturas	93810889	131081613
	93546283	131383077
	94197387	132738579
	93429370	131598639
	94019356	132384299
Promedio	93800657	131837241,4
Desviación estándar relativa de trabajo	0,3%	0,5%

Fuente: Elaboración propia (2020)

Tabla 22. Resultados de método analítico basado en el método analítico optimizado

		Pseudoefedrina clorhidrato	Cetirizina clorhidrato
% Recuperación de muestras al 100%	1	101,1	102,8
	2	101,7	102,4
	3	102,4	102,9

	4	100,7	104,6
	5	100,9	103,4
	6	102,1	105,7
	Promedio	101,5	103,6
	Desviación estándar relativa	0,66%	1,22%

Fuente: Elaboración propia (2020)

En la tabla 22 se muestran los resultados de la prueba analítica del método optimizado para obtener los porcentajes de recuperación de cada principio activo en las muestras del medicamento, por lo que se puede observar que tanto la pseudoefedrina clorhidrato como la cetirizina clorhidrato, mantienen sus resultados dentro de las especificaciones establecidas por los criterios de validación, de una desviación estándar relativa (RSD) de 0,66% para la pseudoefedrina clorhidrato y de 1,22% para cetirizina clorhidrato, lo que es conforme con respecto a lo establecido por los criterios de validación que define que la RSD debe ser no mayor a un 2,0%. Además los estándares de trabajo poseen una RSD para pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato de 0,3% y 0,5% respectivamente, cumpliendo con el parámetro de que la desviación estándar relativa debe ser no mayor al 2,0%.

Se selecciona el método optimizado para proceder a aplicar las pruebas del protocolo de validación y así determinar si el método es apto para ser aplicado en control de calidad con el producto terminado.

Protocolo de validación

Una vez definido el método de análisis para los principios activos pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato se procede a realizar la validación del mismo, la cual necesita contar con un protocolo de validación que recopile aspectos como por ejemplo, la finalidad de la validación a realizar, la definición del sistema a validar, la identificación de los parámetros. Además, el protocolo debe incluir como se debe validar el método, así como también la data cruda y todos los criterios de aceptación que tiene que cumplir el método para que sea confiable.

El protocolo se basa en la validación de potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación, realizándose el mismo para las tres pruebas de análisis. Se ejecutan las pruebas tomando en cuenta los parámetros más críticos de validación.

Se utilizan estándares secundarios para realizar la validación, preparándose concentraciones equivalentes a los 70, 85, 100, 115 y 130% para ambos principios activos con una concentración de trabajo para pseudoefedrina clorhidrato de 1,2 mg/mL y para cetirizina clorhidrato de 0,05 mg/mL, cada alícuota tomada para la preparación de los estándares se realiza con una bureta de 25mL.

Para el parámetro de linealidad de método se enriquece cada punto de la curva con un 5% de la concentración de trabajo con de materia prima, esto con el fin de poder comparar las pendientes y evaluar el parámetro de especificidad a través de la ausencia del efecto de matriz.

La evaluación de los parámetros de desempeño se evidencia a continuación:

Tabla 23. Evaluación de los parámetros de desempeño

Parámetro de desempeño		Estándares y muestras	Criterio de aceptación
Exactitud		3 estándares al 70% de concentración 3 estándares al 100% de concentración 3 estándares al 130% de concentración	El porcentaje de recuperación debe ser mayor a 97,0% y menor al 103,0%.
Precisión	Repetibilidad de sistema	6 inyecciones de un estándar al 100% de concentración	Desviación estándar relativa debe ser no mayor al 2,0%
	Repetibilidad de método	10 muestras independientes al 100% de concentración	
Especificidad	Efecto de la matriz	Se utilizan los mismos estándares que para linealidad	El valor probabilidad (p) es mayor que el nivel de significancia (α).
	Pruebas degradativas	3 estándares al 100% de concentración (sin degradación) 3 soluciones al 100% de concentración, independientes, de producto terminado, sometidas a degradación por luz, calor, oxidación, hidrólisis	Se confirma la especificidad del método si el porcentaje de interferencia, si la hubiese, es menor al 3%

		ácida e hidrólisis básica (15 muestras totales)	
Linealidad	Método	Para ambos principios activos: 3 estándares madre preparar: 1 estándar al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de concentración enriquecidos con muestra (agregar 5% de la concentración de trabajo)	El coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) debe ser mayor o igual a 0,995
	Sistema	Para ambos principios activos: 1 estándar madre preparar: 1 estándar al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de concentración	
Estabilidad		De los estándares al 100% utilizados en repetibilidad, hacer lectura después de 24 horas	La desviación estándar relativa no debe ser mayor al 2,0%.

Fuente: Elaboración propia (2020)

Evaluación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar la potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de cápsulas de pellets de pseudoefedrina clorhidrato al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de la concentración

Tabla 24. Resultados de validación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de pseudoefedrina clorhidrato

Parámetro de desempeño		Criterio de aceptación	Resultado		
Exactitud		El porcentaje de recuperación debe ser mayor a 97,0% y menor al 103,0%.	70%	100%	130%
			\bar{x} 102,2%	\bar{x} 100,0%	\bar{x} 97,4%
Precisión	Repetibilidad	Desviación estándar relativa debe ser no mayor al 2,0%	Muestra / Recuperación		RSD

			1	99,6%	0,40%
			2	100,2%	
			3	99,8%	
			4	100,7%	
			5	100,3%	
			6	99,8%	
			7	101,3%	
			8	100,6%	
			9	98,8%	
			10	100,3%	
Especificidad	Efecto de la matriz	El valor p es mayor que el nivel de significancia (α).	p = 0,08 $\alpha = 0,05$		
	Pruebas degradativas	Se confirma la especificidad del método si el porcentaje de interferencia, si la hubiese, es menor al 3%	Prueba	% Interferencia	
			Hidrólisis ácida	No se observa afectación ni interferencia en el pico de pseudoefedrina clorhidrato para ninguna prueba	
			Hidrólisis básica		
			Oxidación		
			Calor		
Luz					
Linealidad	Método	El coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) debe ser mayor o igual a 0,995	Curva	R^2	
			1	0,999	
			2	0,999	
	3		1,000		
	Sistema		R^2 sistema		0,999
Estabilidad	La desviación estándar relativa no debe ser mayor al		0,25%.		

	2,0%.	
--	-------	--

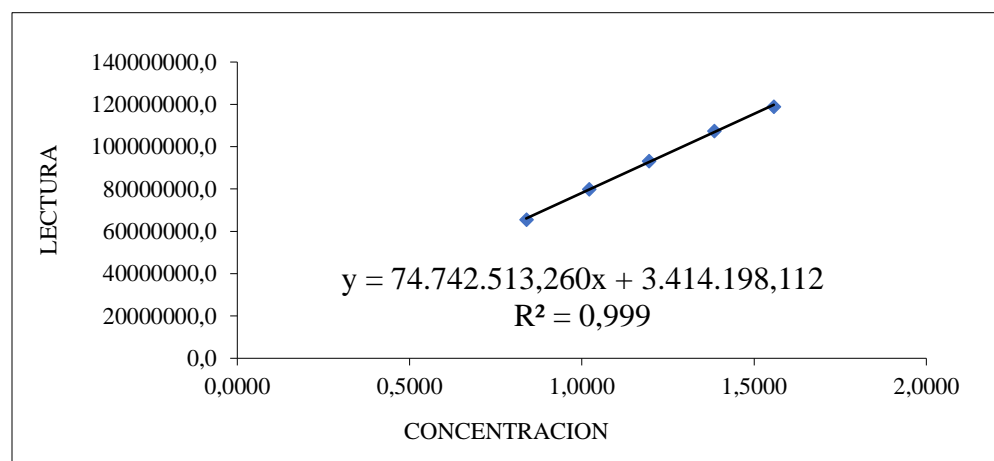
Fuente: Elaboración propia (2020)

Los resultados de la evaluación de los parámetros de exactitud, precisión, especificidad, linealidad y estabilidad se resumen en la tabla 24. En el caso de la exactitud y la precisión, los resultados se encuentran dentro de especificaciones, con porcentajes de mayores a 97,0% y menores al 103,0% para la exactitud y una desviación estándar relativa no mayor al 2,0% para la precisión refiriéndose a la repetibilidad del método. Por lo que el método de análisis es tanto exacto como preciso para la pseudoefedrina clorhidrato.

Para linealidad del método evaluado se tomó en cuenta tanto la linealidad del sistema como la linealidad del método, para los cuales para la linealidad del sistema solamente se realiza una curva y para la linealidad del método se toman tres curvas, las cuales cada concentración a analizar es enriquecida con muestra de materia prima, aumentando un 5% de la concentración de trabajo, para que esta pueda ser comparada con la linealidad del sistema. Se abarcan porcentajes de 70% hasta 130% para cubrir además de la potencia e identificación, la uniformidad de unidades de dosificación.

La linealidad del sistema dio como resultado un coeficiente de correlación de 0,999 y para la linealidad de método, siendo enriquecidas con muestras, coeficientes de correlación de 0,999 para la curva 1, 0,999 para la curva 2 de y para la curva 3 de 1,000, resultando linealidades conformes y dentro de las especificaciones, cuyo criterio de aceptación fundamental es que el coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) debe ser mayor a 0,995 o igual a 1,000.

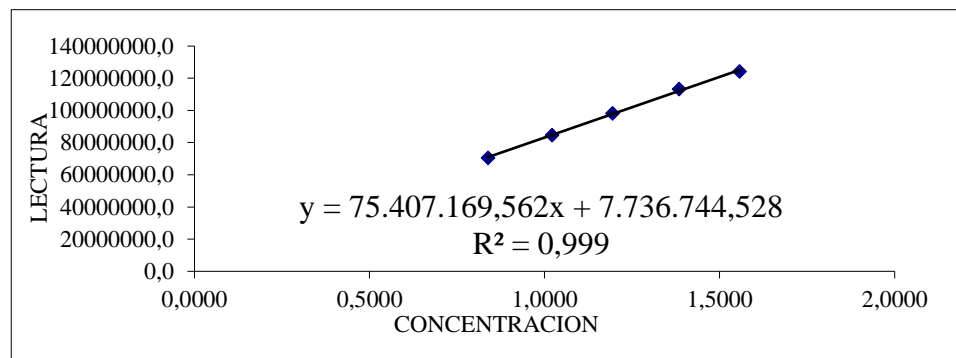
Figura 81. Curva para la determinación de linealidad del sistema de pseudoefedrina clorhidrato



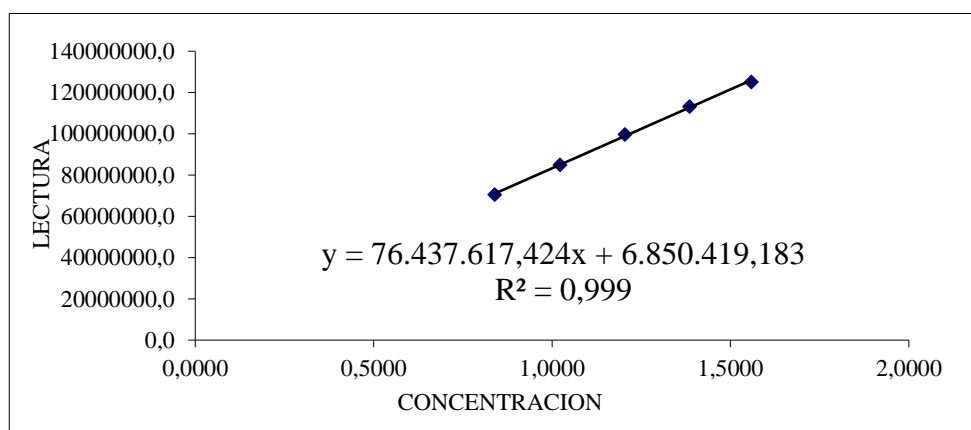
Fuente: Elaboración propia (2020)

Figura 82. Curvas para la determinación de linealidad del método de pseudoefedrina clorhidrato

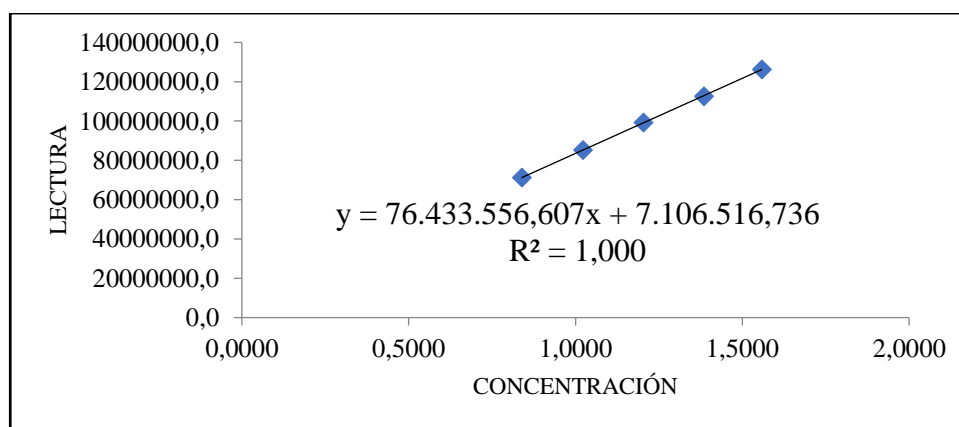
Curva 1



Curva 2



Curva 3

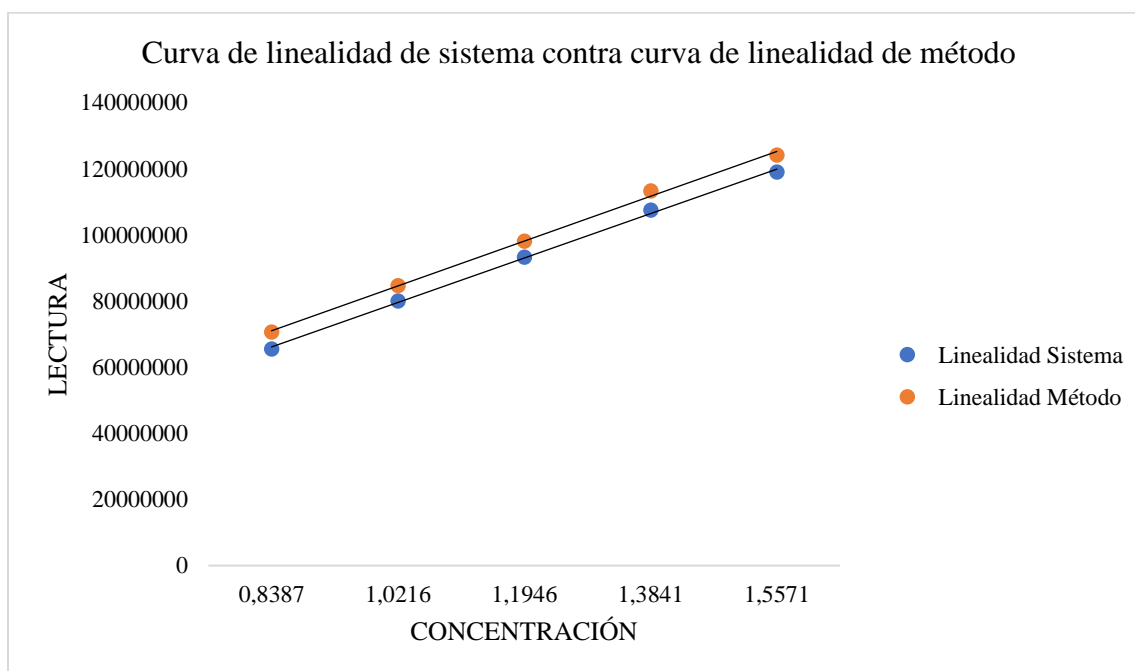


Fuente: Elaboración propia (2020)

Para el parámetro de especificidad efecto de la matriz, se toman en cuenta las curvas de la linealidad para realizar un análisis de varianza ANOVA, el cual tiene como criterio de aceptación que el valor de probabilidad (p) es mayor que el nivel de significancia (α). Tomando en cuenta que el valor de " α " es 0,05, el resultado del análisis para pseudoefedrina clorhidrato es de 0,08, por lo que se encuentra conforme a este parámetro de validación. (Ver anexo 1)

Las pruebas degradativas se leyeron aumentando 5 veces el tiempo de retención del último pico y se confirma la especificidad del método si el porcentaje de interferencia, si la hubiese, es menor al 3%, dando como resultado que no se observa afectación ni interferencia en el pico de pseudoefedrina clorhidrato en las cinco pruebas realizadas, ni degradación de la misma.

Figura 83. Curva de linealidad de sistema contra curva de linealidad de método



Fuente: Elaboración propia (2020)

La estabilidad del estándar realizando lecturas de las mismas a 24 horas se encuentran conformes con respecto a su criterio de aceptación el cual es que la desviación estándar relativa no debe ser mayor al 2,0%, dando como resultado para las 24 horas un RSD de 0,25%, por lo que se puede confirmar que la pseudoefedrina clorhidrato es estable hasta por 24 horas de su preparación.

Evaluación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar la potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de las cápsulas de pellets de cetirizina clorhidrato al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% de la concentración.

Tabla 25. Resultados de validación de los parámetros de desempeño para el método de análisis que permite determinar potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de cetirizina clorhidrato

Parámetro de desempeño		Criterio de aceptación	Resultado		
Exactitud		El porcentaje de recuperación debe ser mayor a 97,0% y menor al 103,0%.	70%	100%	130%
			\bar{x} 100,0%	\bar{x} 100,0%	\bar{x} 100,0%
Precisión	Repetibilidad	Desviación estándar relativa debe ser no mayor al 2,0%	Muestra / Recuperación		RSD
			1	106,8%	1,50%
			2	107,7%	
			3	106,7%	
			4	103,8%	
			5	107,4%	
			6	105,8%	
			7	106,2%	
			8	108,5%	
			9	104,3%	
19	104,3%				
Especificidad	Efecto de la matriz	El valor p es mayor que el nivel de significancia (α).	p = 0,005 $\alpha = 0,05$		
	Pruebas degradativas	Se confirma la especificidad del método si el porcentaje de interferencia, si la hubiese, es menor al 3%	Prueba	Interferencia	
			Hidrólisis ácida	No se observa afectación ni interferencia en el pico de	
			Hidrólisis básica		

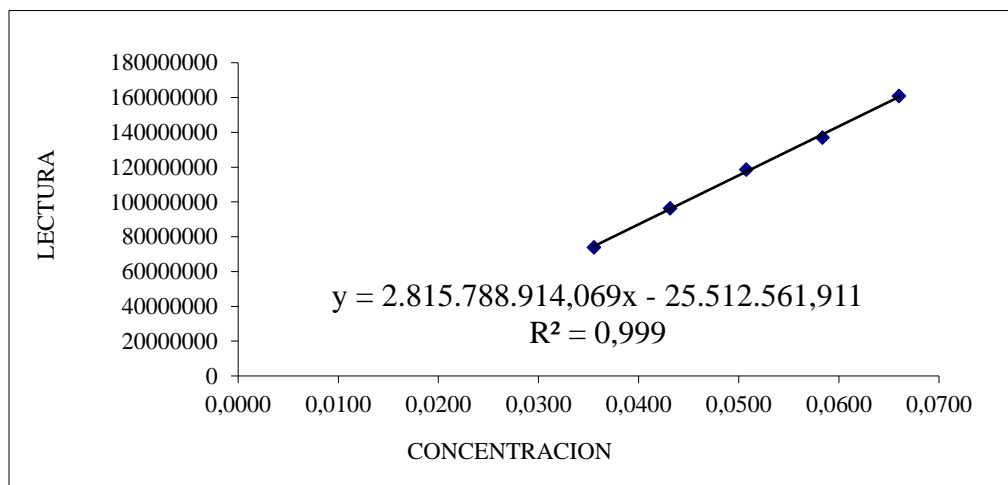
			Oxidación	cetirizina
			Calor	clorhidrato para
			Luz	ninguna prueba
Linealidad	Método	El coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) debe ser mayor o igual a 0,995	Curva	R^2
			1	0,995
			2	0,995
	3		0,995	
	Sistema		R^2 sistema	
				0,999
Estabilidad 24h		La desviación estándar relativa no debe ser mayor al 2,0%.	0,36%.	

Fuente: Elaboración propia (2020)

Los resultados de la evaluación de los parámetros de exactitud, precisión, especificidad, linealidad y estabilidad se resumen en la tabla 25. En el caso de la exactitud y la precisión, los resultados se encuentran dentro de especificaciones, con porcentajes de mayores a 97,0% y menores al 103,0% para la exactitud y una desviación estándar relativa no mayor al 2,0% para la precisión refiriéndose a la repetibilidad del método. Por lo que el método de análisis es tanto exacto como preciso para la cetirizina clorhidrato.

Para linealidad del método evaluado se tomó en cuenta tanto la linealidad del sistema como la linealidad del método, para los cuales para la linealidad del sistema solamente se realiza una curva de calibración y para la linealidad del método se toman tres curvas de calibración, las cuales cada concentración a analizar es enriquecida con muestra de materia prima, aumentando un 5% de la concentración de trabajo, para que esta pueda ser comparada con la linealidad del sistema. Se abarcan porcentajes de 70% hasta 130% para cubrir además de la potencia e identificación, la uniformidad de unidades de dosificación.

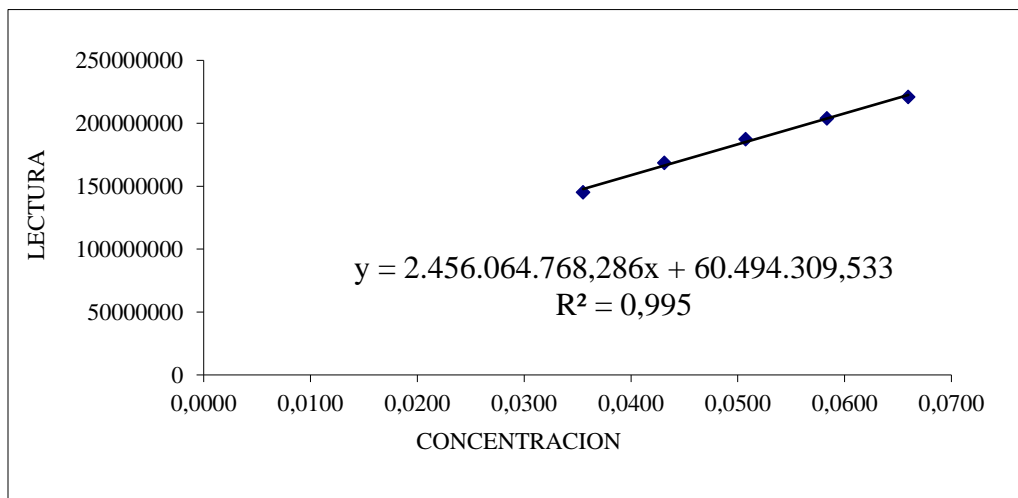
La linealidad del sistema dio como resultado un coeficiente de correlación de 0,999 y para la linealidad de método, siendo enriquecidas con muestras, coeficientes de correlación de 0,995 para la curva 1, 0,995 para la curva 2 de y para la curva 3 de 0,995, resultando linealidades conformes y dentro de las especificaciones, cuyo criterio de aceptación fundamental es que el coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) debe ser mayor a 0,995 o igual a 1,000.

Figura 84. Curva para la determinación de linealidad del sistema de cetirizina clorhidrato

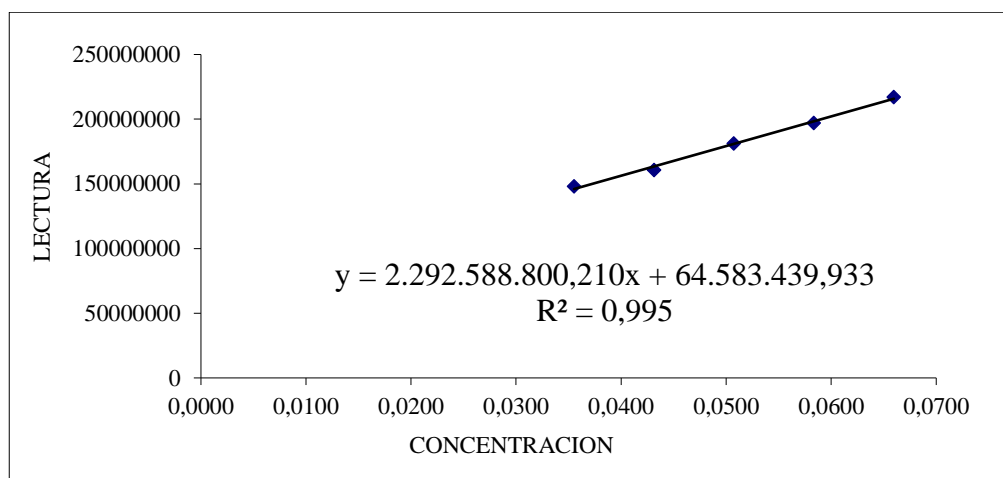
Fuente: Elaboración propia (2020)

Figura 85. Curvas para la determinación de linealidad del método de cetirizina clorhidrato

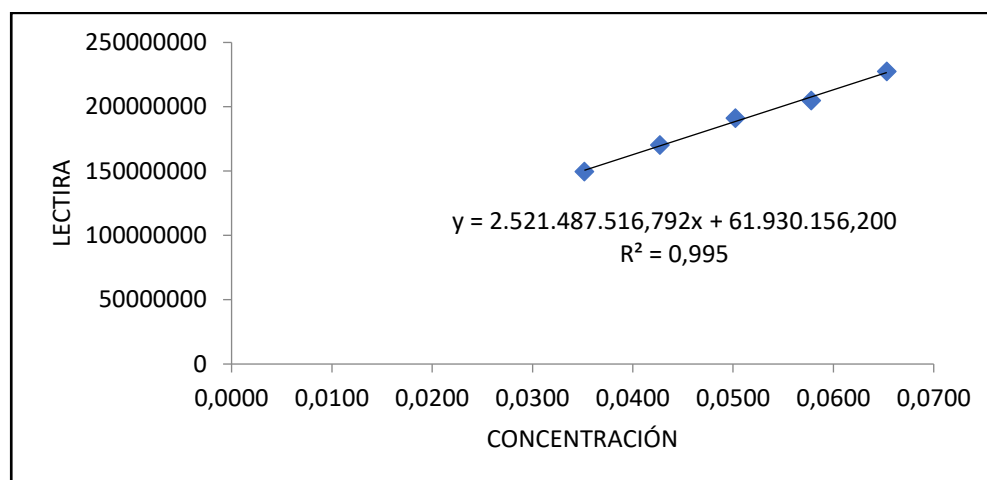
Curva 1



Curva 2



Curva 3

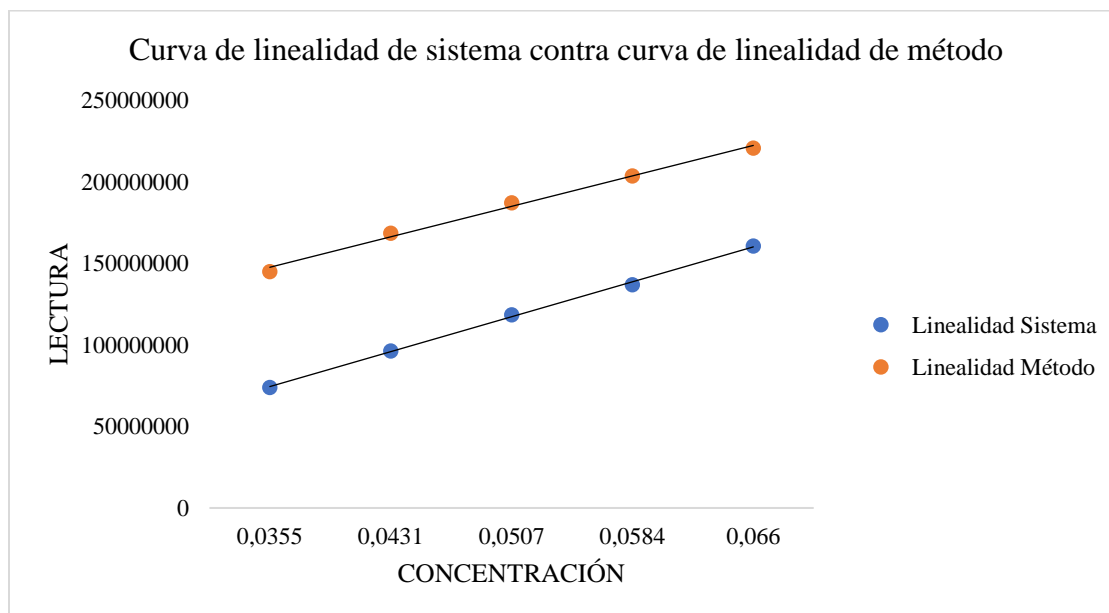


Fuente: Elaboración propia (2020)

Para el parámetro de especificidad efecto de la matriz, se toman en cuenta las curvas de la linealidad para realizar un análisis de varianza ANOVA, el cual tiene como criterio de aceptación es que el valor de probabilidad (p) es mayor que el nivel de significancia (α). Tomando en cuenta que el valor de " α " es 0,05, el resultado del análisis para cetirizina clorhidrato es de 0,005, por lo que no se encuentra conforme a este parámetro de validación. (Ver anexo 2)

Las pruebas degradativas se leyeron aumentando 5 veces el tiempo de retención del último pico y se confirma la especificidad del método si el porcentaje de interferencia, si la hubiese, es menor al 3%, dando como resultado que no se observa afectación ni interferencia en el pico de cetirizina clorhidrato en las cinco pruebas realizadas, pero si una mayor degradación por la oxidación, dando como recuperación promedio un 94,30%.

Figura 86. Curva de linealidad de sistema contra curva de linealidad de método



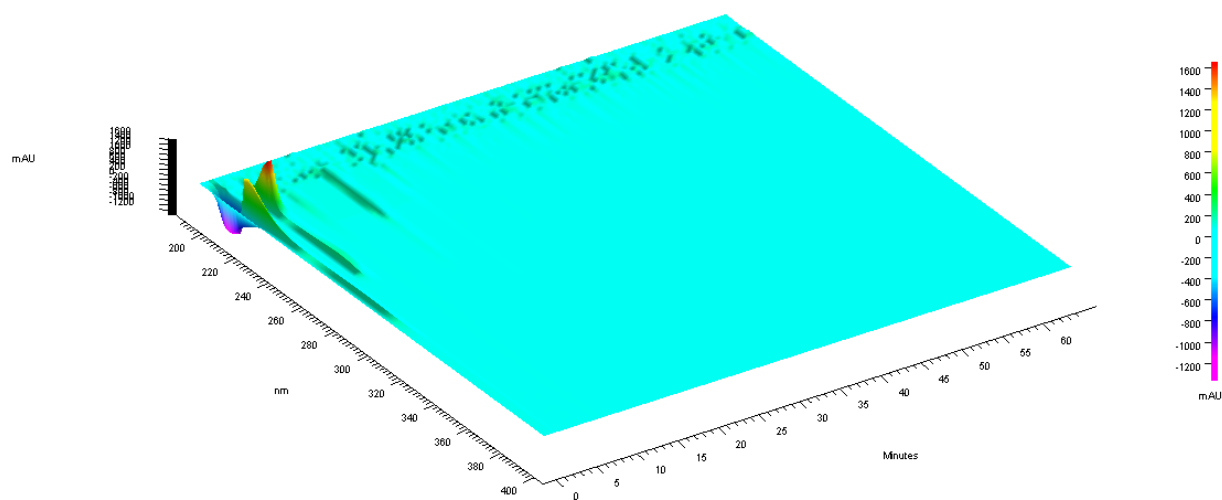
Fuente: Elaboración propia (2020)

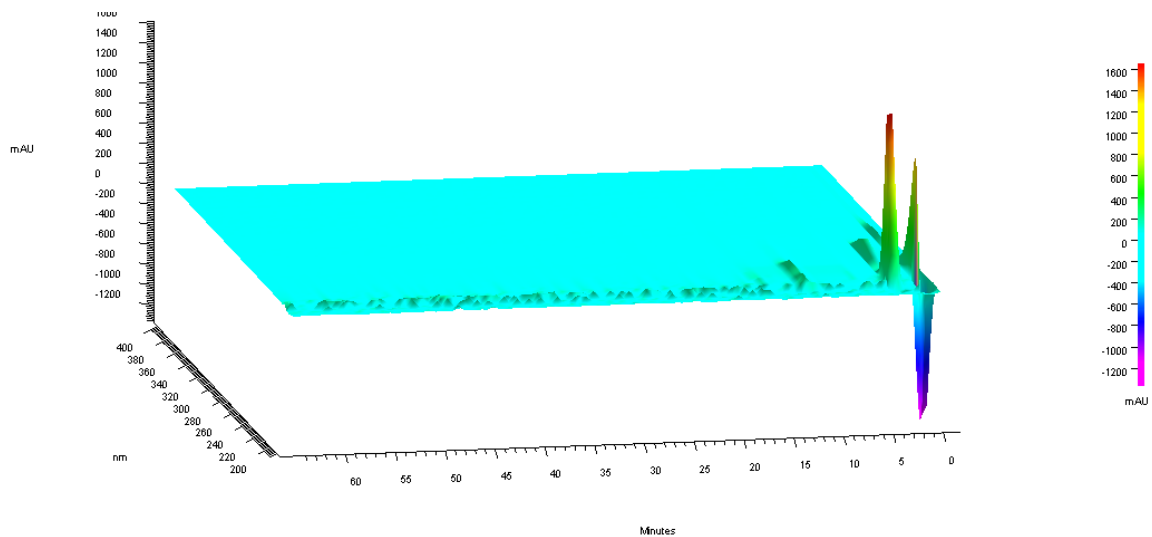
La estabilidad del estándar realizando lecturas de las mismas a 24 horas se encuentran conformes con respecto a su criterio de aceptación el cual es que la desviación estándar relativa no debe ser mayor al 2,0%, dando como resultado para las 24 horas 0,36%, por lo que se puede confirmar que la pseudoefedrina clorhidrato es estable hasta por 24 horas de su preparación.

A continuación se representan los cromatogramas en 3D para la visualización de interferencias en los picos de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato:

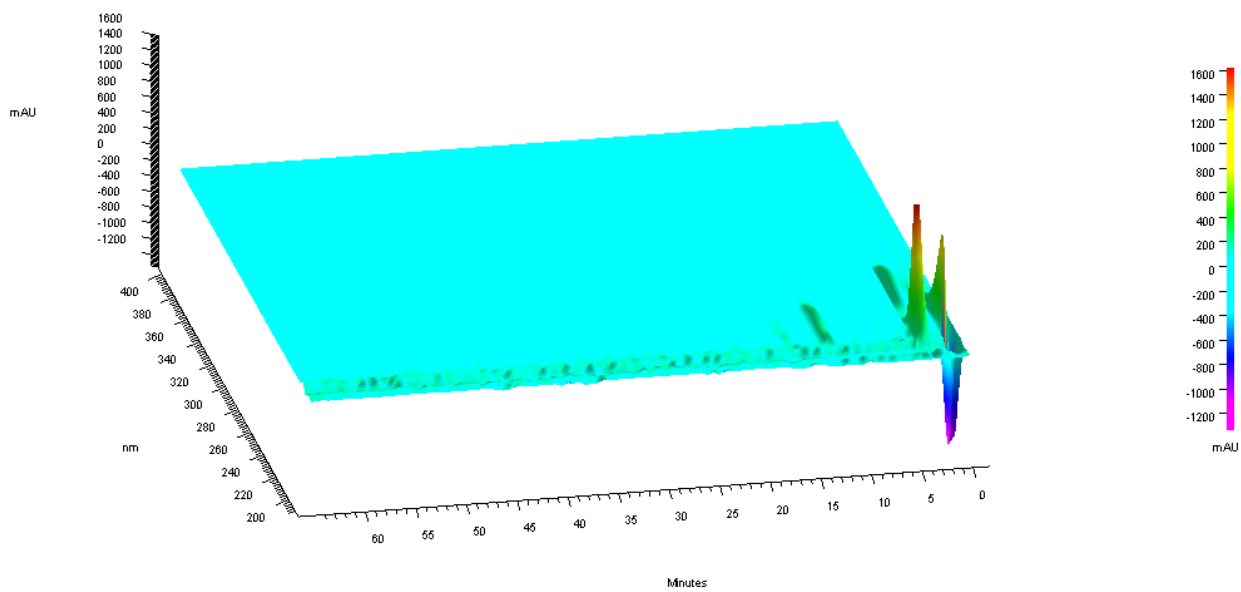
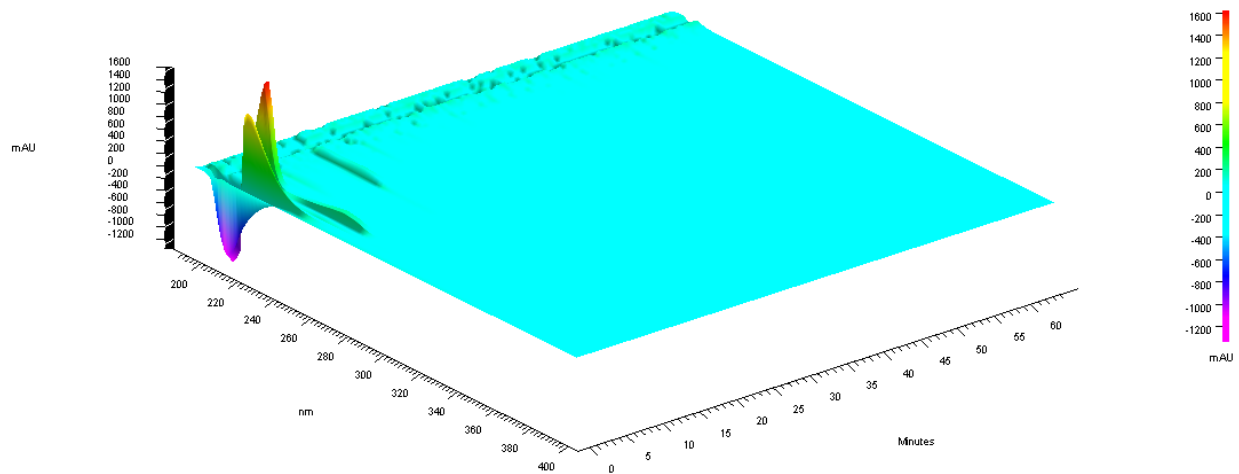
Figura 87. Cromatogramas 3D de pruebas degradativas a 242nm

Hidrólisis ácida

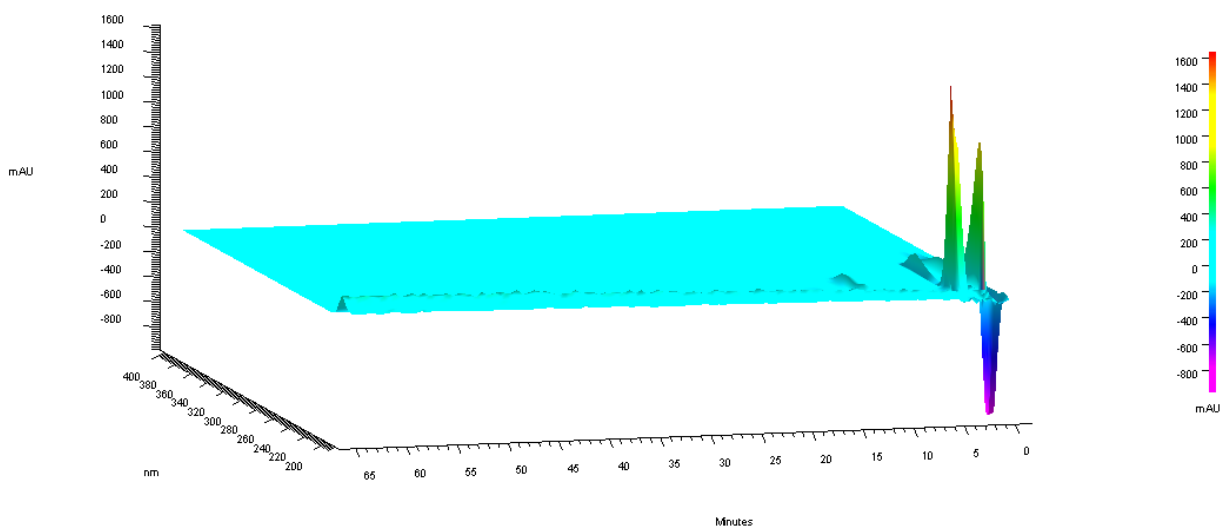
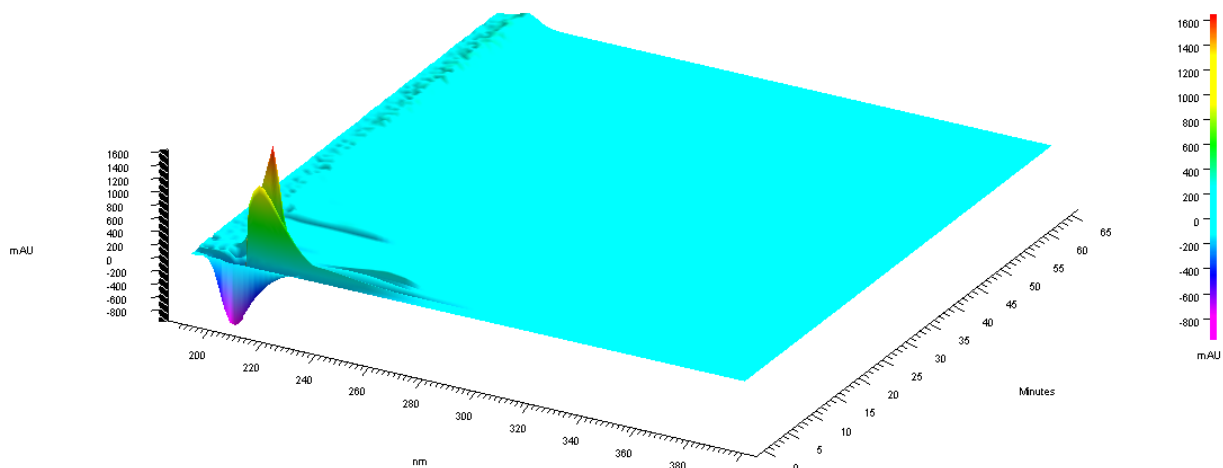




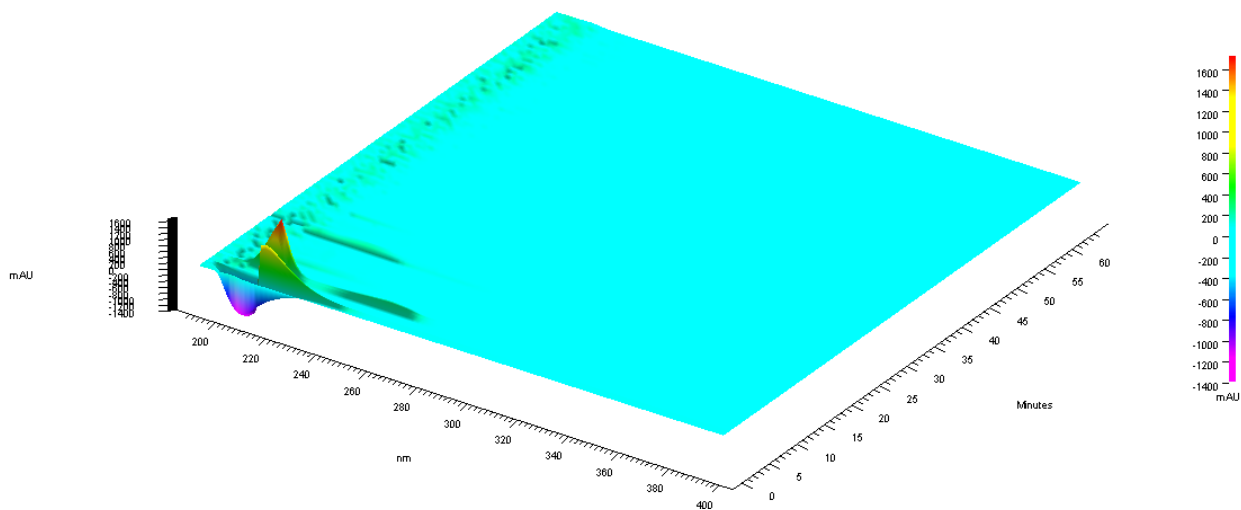
Hidrólisis básica

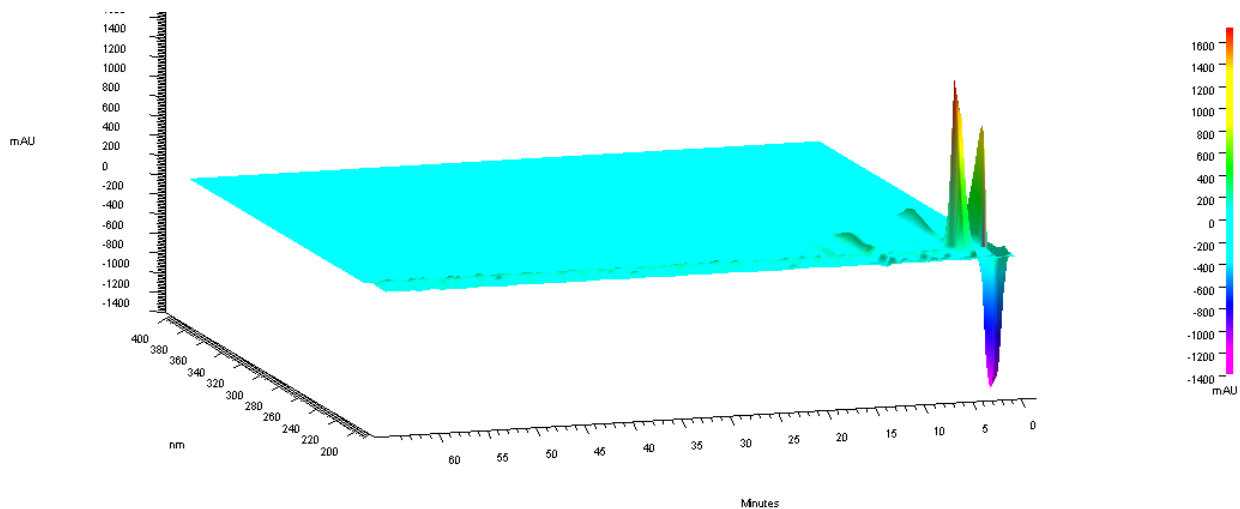


Oxidación

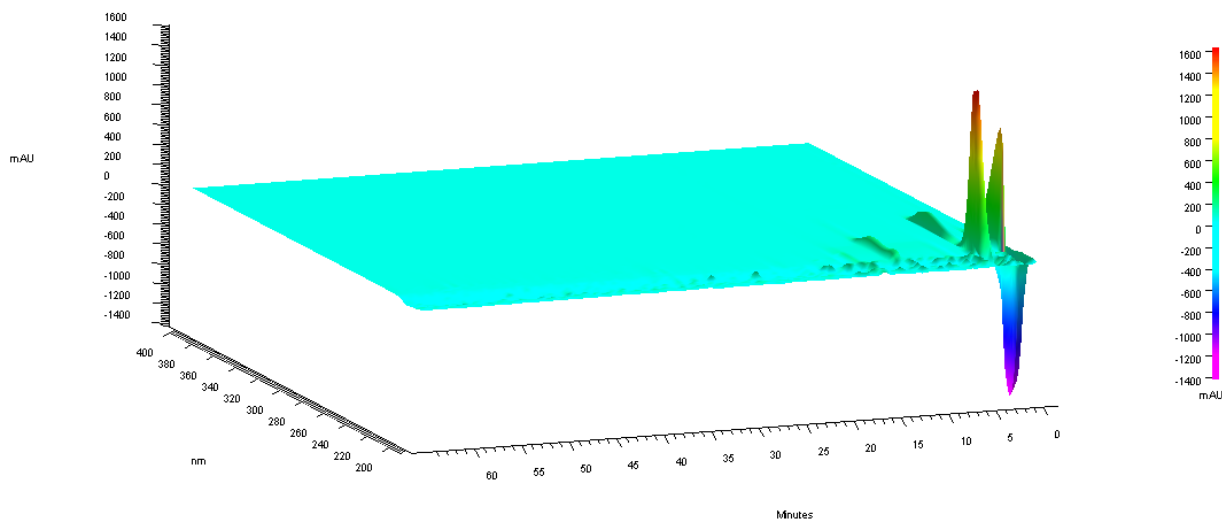
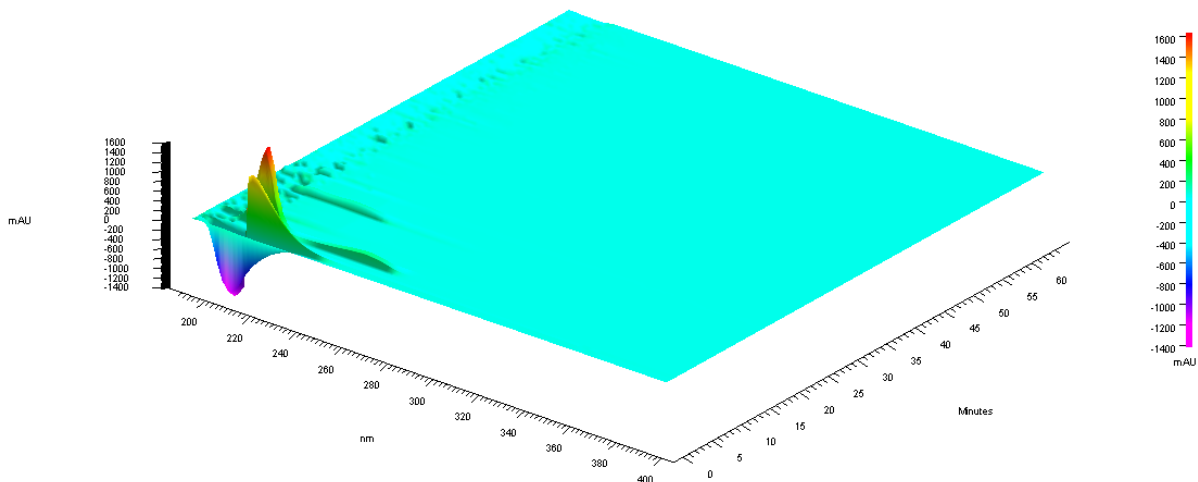


Temperatura





Luz



Fuente: Elaboración propia (2020)

Como se puede observar en los cromatogramas de la figura 87, los picos cromatográficos para ambos principios activos no presentan interferencias, sometidos a hidrolisis acida, hidrolisis básica, oxidación, temperatura y luz.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este capítulo, se centrarán las principales conclusiones y recomendaciones del presente proyecto de investigación, el cual se encuentra relacionado con el desarrollo y validación de un método analítico de un producto farmacéutico no farmacopeico.

Conclusiones

1. Se diseñó un método analítico para la determinación simultánea de pseudoefedrina clorhidrato 120 mg y cetirizina clorhidrato 5 mg en su forma farmacéutica de cápsulas de pellets por HPLC para el ensayo de potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación, sin embargo se demuestra la aptitud del método para pseudoefedrina clorhidrato y no para cetirizina clorhidrato.
2. Se elaboró un protocolo de validación aplicable a las pruebas de potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación tomando en cuenta la prueba con mayor criticidad, con porcentajes para la linealidad de 70% a 130% y para la precisión hasta 10 muestras.
3. El método analítico utilizado para el análisis potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de pseudoefedrina clorhidrato para cápsulas de gelatina dura por HPLC cumple con los parámetros de validación por lo tanto es exacto, preciso, específico, lineal y estable a las 24 horas.
4. El método analítico utilizado para el análisis potencia, identificación y uniformidad de unidades de dosificación de cetirizina clorhidrato para cápsulas de gelatina dura por HPLC es exacto, preciso, lineal y estable a las 24 horas, pero no es específico al efecto matriz ya que no cumple con los parámetros de validación.
5. La validación del método de análisis no queda rechazada hasta que se realice nuevamente el análisis del parámetro de especificidad para el efecto matriz y así comprobar su especificidad y determinar si se aprueba o se rechaza la validación.

Recomendaciones

1. Validar nuevamente el parámetro de especificidad del efecto de la matriz para la cetirizina clorhidrato.
2. Realizar un protocolo de validación para validar la prueba de disolución, ya que por falta de estándar de pseudoefedrina clorhidrato no se realizó.

3. Agregar a la metodología analítica de pseudoefedrina clorhidrato y cetirizina clorhidrato la prueba de impurezas, ya que no se incluyó por no ser un medicamento farmacopeico y por ende realizar su debida validación.
4. Cada vez que se realice el análisis de un lote, hacer una curva de calibración.
5. Ejecutar para la validación de ambos principios activos el parámetro de desempeño de estabilidad para las muestras a las 24 y 48 horas de ser preparadas.
6. Hacer más estrictas las condiciones para las pruebas de degradación.
7. Crear un nuevo procedimiento para las pruebas degradativas del parámetro de especificidad, ya que no se está cuantificando la recuperación del pico en degradación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abu-Shandi, K., Mohammed, Q., Saket, MM., Qaisi, AM., Deabas, F., Massadeh, AM., y Abu-Nameh, E. (2013). Determinación simultánea de cetirizina y pseudoefedrina combinadas en forma de tableta por cromatografía líquida de alta resolución. *Revista de Ciencias Farmacéuticas*, 108 (653), 1-30.
- Abrutzky, R., Bramuglia, C., Godio, C. (2015). El perfil de la industria farmacéutica de la Argentina. Interrogantes a mediano plazo. *Universidad Nacional de Entre Ríos*, 26(51), 102-130.
- Administración de Medicamentos y Alimentos. (2018). Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guia-para-la-industria-pruebas-de-disolucion-de-formas-de-dosificacion-oral-solidas-de-liberacion>
- Agencia de Relación Sanitaria. (2014). Listado Oficial de Formas Farmacéuticas y Vías de Administración. Honduras. [https://arsa.gob.hn/descargas/\(LIS-DPF-001\).pdf](https://arsa.gob.hn/descargas/(LIS-DPF-001).pdf)
- Agilent Technologies. (01 julio 2006). Agilent serie 1200, Sistemas y módulos LC. <https://www.agilent.com/cs/library/brochures/5989-5200ES.pdf>
- Agilent Technologies. (01 septiembre 2009). Guía de selección de columnas para HPLC Agilent. 5990-4435ES. http://www.omnilab.com.ar/img/Catalogo_Columnas_HPLC.pdf
- Agilent Technologies. (01 julio 2017). Libro de consulta sobre sistemas de disolución. https://www.agilent.com/cs/library/catalogs/public/5991-7981ES_Dissolution_Source_Book.pdf
- Ajún, T. (2013). Estrategia de mercadeo para la comercialización de productos naturales en una empresa farmacéutica de venta al detalle. (Tesis de maestría). Universidad de Costa Rica, Costa Rica. <http://repositorio.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/27820/Tesis%20Tannia%20Aj%C3%ban%20Bol%3%advar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Amaro, L., López, R., Herranz, A., Negro, E., Álvarez, A., Idoate, A., y Cajaraville, G. (2017). Verificación y autenticación de medicamentos: Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Madrid.
- Amat, J. (2016). ANOVA análisis de varianza para comparar múltiples medias. https://github.com/JoaquinAmatRodrigo/Estadistica-con-R/blob/master/PDF_format/19_ANOVA_analisis_de_varianza_para_comparar_mltiples_medias.pdf
- Andrés, B., Corominas, M., Llop, R. y Lleonart, R. (2019). Uso de los antihistamínicos en patología Alérgica. *CatSalut*, 30(6), 33-39.
- Aquino, G., y Arias, J. (2012). Neuromodulación e histamina: regulación de la liberación de neurotransmisores por receptores H3. *Salud Mental*, 35(3), 345-352.
- Arias, L. (2014). *Validación de un método analítico para la cuantificación de vitamina a en alimentos, por cromatografía líquida de alta resolución y su determinación en guayaba fresa (Psidium cattleianum sabine)*. (Tesis de grado). Universidad Rafael Landívar, Guatemala. <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/02/02/Arias-Luisa.pdf>
- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria [AEFI]. (2001). *Validación de Métodos Analíticos*. Barcelona, España.
- Benedí, J. (2005). Antihistamínicos H1. *Revista Farmacia Profesional*, 19(3), 54-60.
- Benedí, J. y Romero, C. (2006). Descongestivos nasales. *Revista Farmacia Profesional*, 20(9), 58-61.
- Blas, N. (2012). Determinación de factores que influyen en los parámetros de desempeño de la validación de un método analítico para la cuantificación de Cetirizina diclorhidrato mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). (Tesis profesional). Universidad Nacional de Trujillo, Perú. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1845>
- BDO Finanzas corporativas. (2013). Laboratorios e industria farmacéutica. [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/283461E971984BB605257C2E007D7291/\\$FILE/BDO_Reporte_Sectorial_Ind_Farmacautica.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/283461E971984BB605257C2E007D7291/$FILE/BDO_Reporte_Sectorial_Ind_Farmacautica.pdf)
- Boqué, R., Maroto, A., Riu, J y Rius, F. (2002). Validación de métodos analíticos. *Grasa y Aceites*, 53(1), 128-143.
- Breaux, J., Jones, K. y Boulas, P. (2003). Desarrollo y validación de métodos analíticos. *Tecnología farmacéutica*, 1, 6-13.

- Calvo, M., Esquisabel, A., Hernández, R., Igartua, M. (2015). Tecnología farmacéutica: Cápsulas duras, 8(8).
- Castro, J., Krause, B., Uauy, R. y Casanello, P. (2016). Epigenética en enfermedades alérgicas y asma. *Revista Chilena Pediatría*, 87(2), 88-95.
- Daste, C. (2015). Control de Calidad en la Industria Farmacéutica. (Tesis de licenciatura). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
<http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/8731>
- Delgado, A. (2013). Atención farmacéutica en el resfriado común.
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALBERTO%20DELGADO%20DE%20PABLO.pdf>
- Delgado, M. (2017). Enfoque para la gestión de la I+D+i en la Industria Biofarmacéutica cubana: *Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud*, 28(3), 1-16.
- Denkert, M., Hackzell, L., Schill, G., y Sjogren, E. (1981). Cromatografía de ion-par de fase invertida dentro de iones en la fase móvil. *Revista de cromatografía*, 218, 31-43.
- Díaz, M., Hernández, I., Martínez, M., Licea, M., Gómez, L., González, G., Morera, Y., y González, E. (1998). Validación de técnicas analíticas utilizadas en el control de la calidad. *Revista Cubana Farmacéutica*, 32(2), 106-112.
- Dr. Doménech, J. (19 septiembre 2016). La calidad por el diseño en desarrollo y producción farmacéutica. B-17889-2016. <http://rafc.cat/wp-content/uploads/2011/07/Discurs-a.c.-Dr.-Enrique-J%C3%B3.pdf>
- Dr. Zubeldia, J., Dra. Baeza, M., Dr. Jáuregui, I., y Dr. Senent, C. (2012). *Enfermedades alérgicas de la fundación BBVA*. Eurosíntesis.
<https://www.fbbva.es/microsite/alergiasfbbva/alergia.pdf>
- Domingo, M. (2018). Caracterización y aplicaciones potenciales de una columna monolítica funcionalizada con magnetita. (Tesis de grado). Universitat Politècnica de València, España. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/107529/DOMINGO%20-%20Caracterizaci%C3%B3n%20y%20aplicaciones%20potenciales%20de%20una%20columna%20monol%C3%ADtica%20funcionalizada%20con...pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ettre, L. (2015). Nomenclatura para cromatografía.
https://www.secyta.es/sites/default/files/docs/books/Libro_Completo_Nomenclatura.pdf

- Esquivel, E., y Leal, L. (2004). Cromatografía de fase reversa. Universidad Nacional Autónoma de México.
http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_fase_reversa.pdf
- Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org
- Feng, M., Yulan, S., Shuagjin, C., Han, Liu. (2007). Desarrollo y evaluación de un método HPLC / MS / MS eficiente para la determinación simultánea de pseudoefedrina y cetirizina en humanos plasma: aplicación al estudio farmacocinético de fase I. *Revista de cromatografía B*, 846, 105-111.
- Flores, E., Miranda, M., y Villasís, M. (2017). El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. Estadística inferencial. *Revista Alergia México*, 64(3), 364-370.
- Horvath, C., Melander, W., Molnar, I., y Molnar, P. (1977). Mejora de la retención por formación de pares de iones en cromatografía líquida con fase estacionaria no polar. *Grupo de Ingeniería Química, Departamento de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad de Yale*, 49(14), 2295-2305.
- ICH Q2 R1. (2006). Validación de procesos analíticos: definiciones y metodología. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf
- Ing. Corzo, A. (2019). Técnicas de análisis en química orgánica cromatografía. <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
- Ing. Flores, C. (2010). Buenas prácticas de manufactura (BPM). *Revista Ingeniería Primero*, 20, 122-141.
- Galán, D., Fernández, R., Díaz, E. (2012). Validación de métodos analíticos. Implementación al análisis rutinario: *Higiene y Sanidad Ambiental*, 12(3), 882-888.
- García, A., y Yusá, D. (2016). HPLC Instrumental. Editorial Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/67705>
- García, O., Vallejo, B., y Mora, C. (2015). La calidad desde el diseño: principios y oportunidades para la industria farmacéutica. *Revista el Sevier Doyma*, 31, 68-78.

- García, C., Campoverde, J., y Jaramillo, C. (2015). Control de Calidad de los Medicamentos. Universidad Técnica de Machala. Volumen I. https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Garcia_Gonzalez4/publication/328028495_23_CONTROL_DE_LA_CALIDAD_DE_LOS_MEDICAMENTOS_VOL_I/links/5bb397d345851574f7f53d31/23-CONTROL-DE-LA-CALIDAD-DE-LOS-MEDICAMENTOS-VOL-I.pdf
- Giraldo, G. (1999). Validación de métodos analíticos de laboratorio. *Revista departamento de Ciencias*, (9), 27-39.
- Gereffi, G. (1983). La industria mundial y farmacéutica sus efectos en América Latina, 33(10), 879-893.
- Godínez, R., y Aceves, P. (2014). El surgimiento de la industria farmacéutica en México (1917-1940). *Revista Mexicana de Ciencias*, 45(2), 55-68.
- Gloor, R., y Johnson, E. (1977). Aspectos prácticos de la cromatografía de pares iónicos de fase inversa. *Revista de ciencia cromatográfica*, 15, 413-423.
- Gomis, V. (2008). Tema 2. Cromatografía: principios generales. *Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial*.
- González, R. (s.f). Teoría de formas farmacéuticas. Universidad de Costa Rica. http://www.dftc.ucr.ac.cr/images/Documentos/Manuales_Practicas/Medicina/Teor%C3%ADa_de_Formas_Farmac%C3%A9uticas.pdf
- González, M. (2008). Potencia de prueba: la gran ausente en muchos trabajos científicos: *Agronomía Mesoamericana*, ISSN, 19(2), 309-313.
- González, I., Cabrera, M., y Bermejo, M. (2015). *Metodologías Biofarmacéuticas en el Desarrollo de Medicamentos*. Universidad Miguel Hernández de Elche.
- Granda, E. (2005). Investigación + Desarrollo + Innovación. *Farmacia Profesional*, 19(10), 10-16.
- Guarniz, D. (2018). Validación de un método analítico por HPLC para la cuantificación de Cetirizina diclorhidrato 5 mg/mL en solución oral gotas. (Tesis profesional). Universidad Nacional de Trujillo, Perú. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10422>
- Guillermina, M., Quiroga, P. (2013). *Análisis Farmacéutico*. Editorial de la Universidad de la Plata.

- Hernández, M. (2014). Optimización de un método analítico para la cuantificación de ácido ascórbico en gomitas pediátricas. (Tesis profesional). Universidad Nacional Autónoma de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2014/febrero/0708434/0708434.pdf>
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación. Sexta Edición. Editorial McGraw-Hill
- Iñesta, A., Oteo, L. (2011). La industria farmacéutica y la sostenibilidad de los sistemas de salud en países desarrollados y América Latina. *Redalyc*, 16(6), 2713-2724.
- Jacobson, E. (2010). Orientación de Validación de Proceso: The Global Harmonization Task Force. https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/sg3_n99_10_spa.pdf
- Juarez, B. (2014). Guía para la implementación de normativas de buenas prácticas de manufactura (BPM) en la industria farmacéutica de Guatemala a nivel de mediana empresa. Universidad de San Carlos, Guatemala. http://www.repositorio.usac.edu.gt/1499/1/06_3604.pdf
- Karakuş, S., Küçükgülzel, İ., y Küçükgülzel, Ş. (2008). Desarrollo y validación de un método rápido RP-HPLC para la determinación de cetirizina o fexofenadina con pseudoefedrina en formas farmacéuticas binarias. *Revista de análisis farmacéutico y biomédico*, 46 (2), 295-302.
- Knox, J., y Hartwioc, R. (1981). Mecanismo de cromatografía líquida de ion-par de aminas, neutra, zwitterions y ácidos utilizando hetaerones aniónicos. *Revista de cromatografía*, 204, 3-21.
- Kumudhavalli, M., Saravanan, C., Kumar, M., y Jayakar, B. (2010). Determinación de clorhidrato de pseudoefedrina, dihidrocloruro de cetirizina y paracetamol comprimido sin recubrimiento por el método rp-hplc. *Revista de tecnología farmacéutica global*, 2(4), 97-101.
- Lao, J., Ruiz, S., Ortega, M., Ramírez, F. (2004). Estudio de Mercado – Costa Rica, Sector de Productos Farmacéuticos. Proexport, pp. 1-356.
- Likar, M., Mansour, H., y Harwood, J. (2005). Desarrollo y validación de una prueba de disolución para una vez al día comprimido combinado de diclorhidrato de cetirizina de liberación inmediata y clorhidrato de pseudoefedrina de liberación prolongada. *Revista de análisis farmacéutico y biomédico*, 39, 543-551.

- Lopera, J., Ramírez, C., Zuluaga, M., Ortiz, J. (2010). El método analítico como método natural: Universidad de Antioquia, Colombia. *Redalyc*, 25(1), 1-28.
- Magos, G., y Lorenzana, M. (2009). Las fases en el desarrollo de nuevos medicamentos. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 52(6), 260-264.
- Marron, D., Rodríguez, J. (2018). Validación del método analítico para análisis de disolución y contenido de clorhidrato de Cetirizina en capsulas blandas por cromatografía líquida de alta resolución. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de San Agustín, Perú. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6140>
- Martínez, A. (2019). Valor predictivo de los ensayos de disolución de formas farmacéuticas de liberación inmediata. [Tesis de fin de grado]. Universidad Complutense, Madrid. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALICIA%20MARTINEZ%20MARTIN.pdf>
- Mendoza, A., y Mansilla, G. (2002). Rinitis alérgica. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 41(1), 50-53.
- Miller, J. (2009). Cromatografía. Enciclopedia de espectroscopia aplicada. Editado por David L. Andrews.
- Montpart, E., y Marín, M. (2003). Las Conferencias Internacionales de Armonización y el Common Technical Document (CTD). *OFFARM*, 22(8), 118-126.
- Montilla, J. (2014). Futuro de la especialización en Farmacia Industrial y Galénica. *Pharmatech*, 11, 46-50.
- Morillas, P., Terra, A., Uribe, C., Mastromonaco, G., Prieto, J., y Torres, M. (2016). Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos-Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados: Eurolab España. Primera edición Española.
- Murillo, L. (2017). *Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta presión, para la determinación de Montelukast, 5mg tabletas, en la formulación de Gutis Ltda.* [Tesis de licenciatura, Universidad Iberoamericana, Costa Rica] Biblioteca UNIBE.
- Nethercote, P., y Ermer, J. (2013). Calidad por diseño para métodos analíticos Implicaciones para la validación y transferencia de métodos. 10(6).
- Nuñez, A. (2013). Propuesta de implementación de buenas prácticas de Manufactura en el área de producción de sólidos de la planta Piloto de tecnología farmacéutica de la facultad de

- ciencias Químicas. [Tesis título profesional]. Universidad Central del Ecuador, Ecuador.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2166/1/T-UCE-0008-27.pdf>
- Olías, M. (2009). Desarrollo, optimización y validación de métodos analíticos para la determinación de antibióticos en productos pesqueros de interés comercial. (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla, España. <https://idus.us.es/handle/11441/72443>
- ONODC. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos.
https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf
- Ortiz, J., Flores, S., Contreras, I., Díaz, A. (2016). Impurezas orgánicas observadas en el proceso de manufactura de las Sustancias Activas: *Revista mexicana de ciencias farmacéutica*, 47(1), 7-24.
- Organización Mundial de la Salud. (2012). Pruebas básicas para sustancias farmacéuticas.
<http://digicollection.org/hss/es/d/Jh1789s/>
- Pandit, S., Bose, A., Goli, D., Gurubasavarajswamy., Mandal, S., Sowparnika. (2015). Desarrollo de método analítico y validación de tres fármacos combinados paracetamol, cetirizina y pseudoefedrina por rp-hplc y su aplicación en ensayo de formas dosificadoras de tableta. *Revista de farmacia y ciencias farmacéuticas*, 4(6), 1720-1728.
- PanReac AppliChem. (s.f). Reactivos para cromatografía de par iónico.
https://www.itwreagents.com/download_file/info_point/IP-013/es/IP-013_es.pdf
- Páez, R. (2011). La investigación de la industria farmacéutica: ¿condicionada por los intereses del mercado?. *Acta Bioehica*, 17(2), 237-246.
- Pérez, E. (2015). Prueba de disolución “in vitro” de tabletas de acetaminofén, cuantificando en hplc con detector electroquímico. *Intersedes*, 16(33), 26-37.
- Pérez, E., Morales, K., Rojas, A., Vargas, A. (2014). Prueba comparativa de uniformidad de contenido en tabletas de teofilina (150 mg/tab) de dos casas farmacéuticas en Costa Rica. *27(2)*, 52-57.
- Pérez, E., Rojas, A. (2016). Validación de un método para cuantificación de acetaminofén en tabletas de 500 mg por espectrofotometría ultravioleta para la prueba de uniformidad de contenido: *Revista UCR*, 17(35), 1-15.

- Porras, L., Vargas, R. (2015). Diagnóstico del mercado de medicamentos. *Dirección de Investigaciones Económicas y de Mercados*, 1-20.
- PROCOMER. (2006). Estudio de oferta y demanda del sector farmacéutico en Costa Rica. pp. 1-70.
- Quattrocchi, O., Abelaira, S., y Laba, R. (1992). Introducción a la HPLC, Aplicación y Práctica. Artes Gráficas Farro. <https://www.researchgate.net/publication/315771927>
- Rawool, N., Venkatchalam, A., y Singh, K. (2013). Desarrollo y validación de un método rápido rp-hplc para simultáneos estimación de cetirizina y pseudoefedrina en formas farmacéuticas. *Revista internacional de investigación farmacéutica actual*, 5(1), 54-60.
- Real Academia Española. (2019). Validación. <https://dle.rae.es/validación>
- Red PARF. (2013). Red Panamericana de Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/red-panamericana-armonizacion-regulacion-farmaceutica-Antecedentes.pdf>
- Restrepo, D. (2015). Reacciones alérgicas: aspectos claves y nuevas perspectivas. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 48(1), 69-80.
- Reyes, Y. (2013). Validación de la metodología analítica para la identificación y valoración de calcitonina de salmón mediante cromatografía líquida de alta eficiencia. (Tesis de licenciatura). Universidad Austral de Chile, Chile. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fcr457v/doc/fcr457v.pdf>
- Romero, M. (2001). Desarrollo de nuevas metodologías analíticas en el control de la calidad de la industria farmacéutica. [Tesis doctoral]. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.
- Romero, A. y Carrión, C. (2017). Determinar la prevalencia de rinitis alérgica que afecta a escolares entre 5 y 12 años atendidos en el hospital Teodoro Maldonado Carbo en el periodo de enero del 2016 a abril del 2017. [Tesis para obtención médico]. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/9362/1/T-UCSG-PRE-MED-631.pdf>
- Roque, E., Rosales, A., Somarriba, M. (2006). Determinación de la calidad de tabletas de atenolol de 100mg elaboradas en el laboratorio Mauricio Díaz Müller. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Nicaragua. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/1813/1/199873.pdf>

- Rubio, M., y Berlanga, V. (2012). Cómo aplicar las pruebas paramétricas bivariadas t de Student y ANOVA en SPSS. *Revista de Innovación en Recerca en Educació*n, 5(2), 83-100.
- Ruiz, M., Cuevas, M., Mayora, Y., Rosa, J., Arguello, A. (2006). Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos: *Reglamento Técnico Centroamericano*. (RTCA 11.03.39:06). http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=59896&nValor3=75461&strTipM=TC
- Ruiz, M., Estrada, L., Mayora, Y., Rosa, J., Solórzano, O. (2007). Productos farmacéuticos. Medicamentos para uso humano. Verificación de la calidad: *Reglamento Técnico Centroamericano*. (RTCA 11.03.47:07). http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=63033&nValor3=72240&strTipM=TC
- Ruiz, M., Estrada, L., Mayora, Y., Rosa, J., Solórzano, O. (2014). Reglamento técnico sobre buenas prácticas de manufactura para la industria farmacéutica. Productos farmacéuticos y medicamentos de uso humano: *Reglamento Técnico Centroamericano*. (RTCA 11.03.42:07). http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=67935
- Sacristán, M., Díaz, Eva., Alarcón, B., Vicente, C., y Legaz, M. (2011). Práctica de laboratorio: optimización en la separación de compuestos semejantes mediante modificación de la fase móvil. *Reduca (Biología)*. *Serie Técnicas y Métodos*, 4(3), 48-78.
- Salazar, A., Cruz, E., Lloveras, M., Urriolagoitia, G. (2015). Proceder de la innovación en la industria farmacéutica. El caso de España: *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1), 131-141.
- Samaniego, J., Arias, G. (2016). Desarrollo y validación de una metodología analítica por HPLC para la cuantificación simultánea de fenilefrina clorhidrato, paracetamol, salicilamida, cafeína y clorfeniramina maleato en tabletas: *Revista Sociedad Química del Perú*, 82(2), 196-207
- Sánchez, A., Gutiérrez, M., Calderón, S., Durán, M. (2019). Estudio del mercado privado de medicamentos a nivel detallista en Costa Rica. *Dirección de Investigaciones Económicas y de Mercados*, 1-87.

- Saranz, R., Lozano, A., Bandín, G., Mariño, A., Boudet, R., Sarraquigne, M., Cáceres, M., Skrie, V., Bozzola, C., López, K., Gervasoni, M., Menéndez, B., Agüero, C., Orellano, F., Sasia, L. y Pendino, P. (2016). Prevención de las enfermedades alérgicas en la infancia: entre la teoría y la realidad. *Arch Argent Pediatr*, 144(3), 277-287.
- Sarmiento, L., Espinosa, M. (2012). Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de venlafaxina en suero mediante HPLC-UV: *Universidad de los Llanos*, 16(2), 99-106.
- Silupu, R., y Toribio, D. (2011). Validación del ensayo de disolución por cuantificación espectrofotométrica UV/VIS de Cetirizina en tabletas recubiertas 10mg. (Tesis de bachillerato). Universidad Nacional de Trujillo, Perú. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2276>
- Sivasubramanian, L., y Lakshmi, K. (2009). Método de cromatografía líquida de fase inversa de alto rendimiento para el análisis de paracetamol, cetirizina y pseudoefedrina de tabletas. *Departamento de Análisis Farmacéutico*, 1(1), 37-46.
- Suarez, D., Morales, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. *Revista Semilleros: Formación Investigativa*, 4(1), 7-14.
- Tait, K. (2012). Industria Farmacéutica. *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. PP. 79.1-79.20
- Tasici, A. (2015). Evaluación de estabilidad de formulación de comprimidos. (Tesis de Grado). Universidad Complutense, Madrid. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ANCA%20MARIA%20TASICI.pdf>
- Torralvo, J. (2017). Validación de un método químico analítico de HPLC en R. (Tesis especialista). Fundación Universitaria Los Libertadores, Colombia. <https://repository.libertadores.edu.co/bitstream/handle/11371/1311/torralvojose2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Urgellés, M. (2018). Cristalización y modificación del hábito cristalino del antihipertensivo irbesartán: diseño y control del proceso a escala de laboratorio. (Tesis licenciatura). Universidad de Costa Rica, Costa Rica. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/9054/44171.pdf?sequence=1>

USP, Farmacopea de los EE.UU, USP XL & NF 35. 2017, The United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD.

Vila, J. (2001). Tecnología Farmacéutica Volumen II: Formas Farmacéuticas. Editorial Síntesis S.A

Zuleta, L. y Junca, J. (2001). Efectos económicos y sociales de la regulación sobre la industria farmacéutica colombiana.

https://www.repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/1000/Repor_Abril_2001_Zuleta_y_Junca.pdf?sequence=3&isAllowed=y

ANEXOS

Anexo 1. Resultados del análisis de varianza para el parámetro de validación especificidad de efecto matriz de pseudoefedrina clorhidrato

Pseudoefedrina clorhidrato						
Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Columna 1	3	224227539,8	74742513,3	2,46343E+11		
Columna 2	3	226221508,7	75407169,6	0		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6,6265E+11	1	6,6265E+11	5,379922404	0,081184235	7,70864742
Dentro de los grupos	4,9269E+11	4	1,2317E+11			
Total	1,1553E+12	5				

Fuente: Elaboración propia (2020)

Anexo 2. Resultados del análisis de varianza para el parámetro de validación especificidad de efecto matriz de cetirizina clorhidrato

Cetirizina clorhidrato

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	8447366742	2815788914	1,25454E+15
Columna 2	3	7270141085	2423380362	1,38999E+16

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,3098E+17	1	2,3098E+17	30,48312575	0,005254805	7,70864742
Dentro de los	3,0309E+16	4	7,5772E+15			
Total	2,6129E+17	5				

Fuente: Elaboración propia (2020)