

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA  
Y BIOQUÍMICA**



**Validación de la técnica analítica por Cromatografía  
Líquida de Alta Performance (H.P.L.C.) para la  
determinación de Quetiapina Fumarato en Tabletas  
Recubiertas. Lima – 2011.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. VIVANCO NUÑEZ, MIRTHA**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2011**

*A mis padres: Filomeno y Felisa  
Magda.*

*A mis hermanos: Bethzabeth, Noel y  
Heber.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, y a los excelentes docentes que en ella laboran, los cuales contribuyeron en el aprendizaje y orientación de mi formación universitaria.

Al Laboratorio Farmacéutico Medrock Corporation S.A.C; cuyos profesionales permitieron el desarrollo del trabajo en sus instalaciones.

A mis asesoras: Mg. Maricela LOPEZ SIERRALTA y Q.F. Zoila Mercedes FERNANDEZ LUGO, por su generosa dirección, asesoramiento y valiosos consejos en la realización del presente trabajo.

A todas las personas que contribuyeron en la ejecución del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Quetiapina Fumarato.....	6
2.3. Cromatografía líquida de alta performance.....	8
2.4. Validación.....	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1. Ubicación.....	15
3.2. Población.....	15
3.3. Muestra.....	15
3.4. Diseño metodológico.....	16
3.5. Análisis de datos.....	29
IV. RESULTADOS.....	37
V. DISCUSIÓN.....	45
VI. CONCLUSIONES.....	51
VII. RECOMENDACIONES.....	53
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXOS	

Validación de la técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Performance (H.P.L.C.) para la determinación de Quetiapina Fumarato en Tabletas Recubiertas. Lima – 2011.

**AUTOR: Bach. VIVANCO NUÑEZ, Mirtha.**

**ASESOR: Mg. LOPEZ SIERRALTA, Maricela.**

**Q.F. FERNANDEZ LUGO, Zoila Mercedes.**

### **RESUMEN**

La validación es un proceso establecido que obtiene pruebas documentadas y demostrativas para que una técnica analítica sea lo suficientemente fiable y reproducible para producir un resultado previsto dentro de los intervalos definidos, para lo cual se evaluó los parámetros estipulados en la USP como: exactitud, precisión, selectividad- especificidad, linealidad y robustez, aplicando el método de cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Control de Calidad, en el área de instrumentación del Laboratorio Farmacéutico Medrock Corporation S.A.C., con el objetivo de proponer una técnica analítica para el análisis de contenido por el método de HPLC para la determinación de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.

En la linealidad del método se tuvo un coeficiente de correlación fue de 0,9999, en un rango de 50-150%. En la exactitud, el porcentaje de recuperación promedio fue de 100,29% de Quetiapina en un rango de 50%-150%. En la precisión la desviación estándar relativa (DSR) de la repetibilidad fue 0,677% quedando dentro de los criterios de aceptación, y la DSR de la precisión intermedia fue de 0,551%, encontrándose dentro de los límites especificados. En el análisis de especificidad – selectividad se demostró que no existe interferencia con la fase móvil, diluyente, excipientes y productos de degradación. En el ensayo de robustez los cambios en cuanto al pH de la fase móvil, marca de la columna y refrigeración de las muestras no interfirieron en la recuperación. Se concluye que el método HPLC propuesta es exacto, preciso, selectivo, lineal y presenta robustez; comprobándose así su validez.

**Palabras clave:** Validación, Técnica Analítica, HPLC, *Quetiapina Fumarato*.

## ABSTRACT

Validation is an established process that gets documented and demonstrative evidence so that an analytical technique is sufficiently reliable and reproducible to produce a result provided within the defined intervals, which evaluated the parameters stipulated in the USP as: accuracy, precision, selectivity - specificity, linearity and robustness, by applying the method of high performance liquid chromatography (HPLC) performance.

The present study was conducted in the laboratory of quality Control in the area of instrumentation laboratory pharmacist Medrock Corporation S.A.C., aiming to propose a technical analytics for content analysis by the method of HPLC for the determination of quetiapine fumarate in coated tablets.

The linearity of the method had a correlation coefficient of 0.9999, in a range of 50-150%. In accuracy, the average recovery rate was 100, 29 per cent of quetiapine in a range of 50-150%. Precision of repeatability relative standard deviation (RSD) was 0,677% leaving within the acceptance criteria, and the intermediate precision RSD was 0,551%, finding within the specified limits. The analysis of specificity - selectivity demonstrated that there is no interference with the stage mobile, diluent, excipients and degradation products. In the trial of strength changes in pH of mobile phase, brand of the column and refrigeration of samples not interfered in the recovery. It concludes that the proposed HPLC method is exact, precise, selective, linear and presents robustness; so checking their validity.

**Keywords:** *validation, technical analytical, HPLC, quetiapine fumarate.*

## I. INTRODUCCIÓN

Para el análisis de QUETIAPINA FUMARATO (QTF) es imprescindible la utilización de un método analítico que permita cuantificar el producto mayoritario en forma de materia prima o como ingrediente activo de la formulación. Para asegurar la confiabilidad, el método analítico se somete a un proceso de validación de carácter prospectivo, se comprueba si el método es lo suficiente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones prefijadas. La validación de la técnica analítica se fundamenta en la determinación de diversos parámetros, que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezca (Castillo y Gonzales, 1996).

La QTF se descubrió en 1984 y es comercializada por ASTRAZENECA con el nombre de seroquel (Fumarato de Quetiapina); se ha autorizado y comercializado en más de 70 países. Aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en 1997 como medicación psicotrópica y en 2006 para el tratamiento de trastornos depresivos relacionados con el trastorno bipolar I y II, también se usa para el alcoholismo, trastorno de estrés posttraumático, enfermedad de Parkinson, síndrome de Tourette, también como sedante para trastorno del sueño y ansiedad ( Sánchez, 2008).

La técnica de cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Performance (H.P.L.C.) por su naturaleza selectiva, permite la valoración del principio activo QTF en el producto en mención, y no contando con un método de cuantificación en ninguna monografía oficial vigente, se hace necesario tener disponible la evidencia que pruebe que la técnica analítica propuesta para la fórmula farmacéutica de tabletas recubiertas es adecuado para su uso rutinario, de modo que su validación garantizara la confiabilidad de los resultados emitidos (Suneetha y Lakshmana, 2010).

Por esta consideración el presente trabajo de investigación plantea los siguientes objetivos.

**Objetivo General:**

- Validar una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Performance, (HPLC) para la determinación de contenido de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas y documentar los resultados obtenidos.

**Objetivos Específicos:**

- Determinar la prueba de aptitud del sistema específico para la cuantificación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas.
- Determinar la exactitud utilizando la técnica analítica por el método de H.P.L.C para la cuantificación de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.
- Comprobar la precisión de la técnica analítica por el método de H.P.L.C para la cuantificación de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.
- Determinar la especificidad-selectividad de la técnica analítica para el análisis de contenido por H.P.L.C. de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.



- Determinar la linealidad utilizando la técnica analítica por el método de H.P.L.C para la cuantificación de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.
- Evaluar la robustez empleando la técnica analítica por el método de H.P.L.C para la cuantificación de Quetiapina Fumarato en tabletas recubiertas.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Suneetha y Lakshmana (2010), determinaron que su propuesta del método por HPLC para la cuantificación de QTF; es simple, rápida, sensible, preciso y exacto para la cuantificación de la Quetiapina en formulaciones farmacéuticas. Por lo tanto, este método es fácil y cómodo de adoptar para el análisis de control de calidad de rutina de la Quetiapina a granel y sus formulaciones farmacéuticas. La Quetiapina se sometió a cromatografía de fase reversa, usando una columna C 18 (75x4.6mm, 3,5 micras), en una fase móvil que consiste en tampón fosfato (pH 3,0 ajustado con ácido fosfórico) y acetonitrilo en la proporción 40:60 v / v. La fase móvil se bombea a un flujo de 0,8 mL / min con detección a 291 nm. La respuesta del detector fue lineal en la concentración de 20-120 mg / mL. El alto porcentaje de la recuperación de la Quetiapina que van desde 98,43 hasta 99,47 indica que el método propuesto es de alta precisión. No se encontraron picos de interferencia en el cromatograma que indica que los excipientes utilizados en la formulación del comprimido no interfieren con la cuantificación de la Quetiapina.

Vinay y col.,(2010), presentaron un procedimiento potenciométrico validado para la determinación de QTF en sus formulaciones farmacéuticas. El método se basa en la propiedad básica de la molécula del fármaco, en el que se valora la

solución de la QTF en ácido acético glacial directamente con ácido acético perclórico potenciométricamente, empleando un vaso saturado para no modificar el sistema de electrodos calomelanos. Los resultados obtenidos se compararon estadísticamente con los obtenidos mediante un método espectrofotométrico UV convencional, donde la absorbancia de la solución metanólica de QTF se midió a 246 nm. Los resultados obtenidos por el método propuesto son concordantes con los del método de referencia. Los resultados también fueron comparados estadísticamente mediante la t de Student, prueba de precisión y prueba F para la varianza de precisión, con el método de referencia al 95% de nivel de confianza, los resultados mostraron que el t Student y prueba F infiere que el método propuesto es exacto y preciso como el método de referencia. El método además de ser rápido, sensible y preciso, dio resultados satisfactorios cuando se aplica a las formulaciones que contienen QTF. El procedimiento potenciométrico tiene la ventaja sobre los métodos previamente reportados en términos de simplicidad de la técnica y la facilidad de ejecución, por lo tanto, el método propuesto se puede utilizar en los laboratorios donde los instrumentos modernos y caros no están disponibles.

Bagade y col., (2009), mencionan que los métodos espectrofotométricos son simples, rápidos y fiables que se han desarrollado para la determinación de QTF en una formulación farmacéutica. Espectrofotométricamente, QTF se determinó mediante la medición de los valores a 254.76nm con 0,1 N HCl como medio de solvente. Las curvas de calibración del análisis fueron lineales en un rango de 10 a 30 mg / mL. El método desarrollado se aplicó de manera fácil y directa para el análisis de Quetiapina Fumarato donde el RSD se encontró que era del 0,20% (Quetipin ® comprimidos, 200 mg) y 0,16% (Quetipin ® comprimidos, 300 mg), respectivamente. Las recuperaciones porcentuales fueron de casi el 100%

para el método indicado. El método fue validado por completo y ha demostrado ser robusto. Los excipientes no interfieren en el análisis. Los resultados mostraron que este método puede ser utilizado para la determinación rápida de QTF en forma de tableta farmacéutica con precisión, exactitud y especificidad.

## 2.2. QUETIAPINA FUMARATO

### 2.2.1. Propiedades físicas y químicas

**Nombre químico:** 2-[2-(4-dibenzo [ b,f] [1,4] thiazepin- 11-il-1-piperazinil)

Etoxi etanol hemifumarato].

**Formula molecular:**  $(C_{21}H_{25}N_3O_2S)_2.C_4H_4O_4$

**Peso molecular:** 883.09

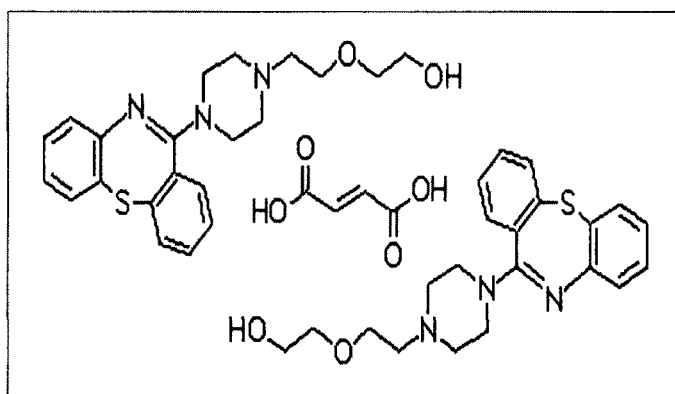
**Pureza:** 98.5- 101.0%

**Solubilidad:** Moderadamente soluble en agua, solubles en MeOH y HCl 0,1 N.

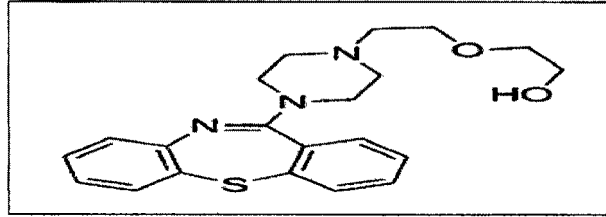
**Aspecto:** Polvo blanco o casi blanco, inodoro e insípido.

**Punto de fusión:** 172 a 176°C.

**Rango de uv, máximo:** 289±1nm (The Merck Index, 2010)



**Figura N°01. Formula estructural de Quetiapina Fumarato**



**Figura N°02. Formula estructural de Quetiapina**

**Estándar Secundario:** QUETIAPINA FUMARATO; Lote: 4002891001; N° de Control: P4417; Potencia Tal Cual: 98,75 %; Fecha de Expira: Febrero 2012.

### **2.2.2. Propiedades farmacológicas**

La Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) menciona que la QTF es una dibenzotiazepina con actividad antipsicótica, con elevada afinidad por los receptores para serotonina (SIIC, 2002).

Es un antipsicótico atípico que presenta una eficacia comparable al resto de los antipsicóticos atípicos, se asocia poco con alteraciones metabólicas, posee un perfil de aspectos adversos más benignos, con menos alteraciones extrapiramidales, de la prolactina, y también un perfil más favorable para la función cognitiva. Acción polivalente en la actuación sobre las distintas dimensiones de la enfermedad mental grave, tanto en la esquizofrenia como en el trastorno bipolar, como son los síntomas positivos, negativos, y afectivos (Rang y col., 2007).

### **2.2.3. Usos terapéuticos**

Tratamiento de la esquizofrenia, como monoterapia en el tratamiento de episodios de manía asociados con el desorden bipolar tipo I, como adyuvante a estabilizadores del ánimo (litio), en el tratamiento de episodios depresivos asociados con el trastorno bipolar (Lieberman, 2006).

### **2.2.4. Tabletas Recubiertas**

Es una forma farmacéutica sólida que contiene uno o varios principios activos con actividad terapéutica y excipientes, formulado en tamaño y forma para un

adecuado uso. El recubrimiento sirve para proteger el fármaco de la humedad y del aire, así como para enmascarar sabores y olores desagradables químicamente, el recubrimiento puede ser de azúcar o de un polímero y que se rompe al llegar al estómago (Remington, 2000).

### **2.3. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE**

Es un método de separación cromatográfica, se basa en un transporte forzado de líquido (fase móvil) transporte de la mezcla de analitos a través de los medios porosos y las diferencias en las interacciones en los analitos con la superficie de este medio poroso que resulta en tiempos de migración diferente para una mezcla de componentes (Lobrutto y Kazakevich, 2007).

#### **2.3.1. Clases de cromatografía líquida**

- **Fase normal o Líquido- Sólido (NP, LSC).**- Separación basada en adsorción/ desorción del analito en una superficie polar (silica).
- **Fase reversa (RPC).**- La separación de los analitos está basada en el coeficiente de partición de partículas entre la fase móvil y la fase estacionaria químicamente enlazada.
- **Intercambio Iónico (IEC).**- La separación está basada en el intercambio iónico con los contraiones y las interacciones con los iones enlazados en la fase estacionaria.
- **Exclusión por tamaño (SEC OR GPC).**- La separación está basada en el tamaño molecular de los analitos y la acción de filtro del empaque de la columna (Lobrutto y Kazakevich, 2007).

#### **2.3.2. Valoración de Quetiapina Fumarato**

En estudios biofarmacéuticos comparativos entre una forma farmacéutica de marca y genérico, se han determinado el contenido de Quetiapina efectuado por un método de cromatografía líquida de alta performance, técnica analítica

exacta, precisa, específica y reproducible que permite cuantificar en forma confiable este fármaco. De acuerdo a los valores encontrados, los dos productos cumplen con los requisitos internacionalmente aceptados de contenido del 90,0% al 110,0% de lo declarado. También en este ensayo se determinó el tiempo de retención del pico principal del cromatograma de un estándar de Quetiapina y de las muestras evaluadas. El tiempo de retención coincidente y los espectros de absorción similares entre el estándar y las muestras permiten concluir que el fármaco corresponde a Quetiapina (Saavedra y col., 2007).

### **2.3.3. Aptitud del sistema**

La prueba de aptitud del sistema es una parte integral de los procedimientos de cromatografía líquida. Se emplea para verificar que la resolución y la reproducibilidad del sistema cromatográfico son adecuadas para el análisis a realizar. Las pruebas se basan en el concepto de que el equipo, el sistema electrónico, las operaciones analíticas y las muestras a analizar constituyen un sistema integral que puede evaluarse como tal (USP33, 2010).

### **2.3.4. Características del método analítico**

**a) Practicabilidad.-** Han de evaluarse los parámetros de practicabilidad del método analítico: precisión exigible, sensibilidad deseable, grado de selectividad, tiempo, costo, tamaño de la muestra, cualificación del personal, tipo de equipo e instrumentación, condiciones de seguridad, etc.

**b) Idoneidad.-** La puesta a punto del método analítico incluye desde los primeros estudios de tanteo con patrones, hasta la utilización de la técnica analítica en muestras reales que garanticen el buen funcionamiento del sistema en el momento del análisis.

c) **Fiabilidad.-** Esta última etapa permitirá conocer las características de fiabilidad del método analítico para su aplicación rutinaria. Dichas características son las que demuestran la capacidad de una técnica analítica para mantener a lo largo del tiempo los criterios fundamentales de validación (AEFI, 2001).

## **2.4. VALIDACIÓN**

La validación es un programa elaborado para obtener una evidencia documentada real, que provea un alto grado de confiabilidad de que un proceso específico o procedimiento utilizado es reproducible y cumplirá las características y especificaciones de calidad predeterminada (USP 33, 2010).

Validación es la confirmación por examinación y la provisión de evidencia objetiva de que los particulares requisitos para un uso especial previsto son satisfactorios (ISO/IEC 17025, 2005).

### **2.4.1. Protocolo de validación**

Consiste en un plan experimental que debe de contener las especificaciones de los parámetros de validación. Mediante el protocolo de validación se aprueba o rechaza el método analítico propuesto (Castillo y Gonzáles, 1999).

### **2.4.2. Aplicación de la validación**

En un laboratorio de análisis de debe considerar la validación de:

- Maquinarias y equipos
- Método de limpieza
- Proceso de fabricación
- Método analítico (Castro y col., 1999).

### **2.4.3. Tipos de validación (Quattrocchi, 1992).**

**Validación prospectiva.-** Es aplicado cuando se desarrolla un nuevo método analítico para la verificación de cumplimiento de las condiciones o parámetros



establecidos para el proceso o para el método analítico, se lleva a cabo antes de la comercialización del producto.

**Validación retrospectiva.-** Se realiza cuando un método analítico que se ha venido utilizando durante mucho tiempo no dispone de la evidencia experimental y documentada sobre su validez.

**Revalidación o pos validación.-** Es realizado cuando un método validado ha sido modificado en alguno de los pasos del procedimiento establecido, o se ha variado alguno de los instrumentos, reactivos o materiales empleados originalmente; así como cambios en la matriz que contiene la muestra. La introducción de un cambio que puede afectar al proceso establecido en la validación obliga a realizar una revalidación total o parcial de dicho proceso, o el diseño de un nuevo proceso y su correspondiente validación.

#### **2.4.4. Categorías de validación**

La cantidad y el tipo de trabajo requerido para validar un método de HPLC varían en función del objetivo del método. Las actividades de validación deben organizarse de manera que los experimentos planeados complementen el método que se pretende apoyar (Ahuja y Dong, 2005).

Según la United States Pharmacopeia (USP), los requisitos de las pruebas farmacopeicas varían desde determinaciones analíticas muy rigurosas hasta evaluaciones subjetivas de atributos. Considerando esta amplia variedad es necesario que requieran diferentes esquemas de validación, para lo cual se indican las diferentes categorías a continuación (Ahuja y Dong, 2005).

- **Categoría I:** Procedimientos analíticos para la cuantificación de los componentes principales de los fármacos a granel o ingredientes activos (incluyendo conservantes) en productos farmacéuticos terminados.

- **Categoría II:** Procedimientos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos procedimientos incluyen análisis cuantitativos y pruebas de límite.
- **Categoría III:** Procedimiento analítico para la determinación de las características de desempeño (por ejemplo disolución, liberación de fármacos).
- **Categoría IV:** Pruebas de identificación

**TABLA N°01: Características analíticas típicas utilizadas para la validación de métodos.**

Características de Desempeño Analítico	categoría II			Categoría III	Categoría IV
	Categoría I	Análisis Cuantitativos	Pruebas de Limite		
Exactitud	SÍ	SÍ	*	*	NO
Precisión	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
Especificidad	SÍ	SÍ	SÍ	*	SÍ
Límite de Detección	NO	NO	SÍ	*	NO
Límite de Cuantificación	NO	SÍ	NO	*	NO
Linealidad	SÍ	SÍ	NO	*	NO
Intervalo	SÍ	SÍ	*	*	NO

\* Pueden requerirse, dependiendo de la naturaleza de la prueba

FUENTE: USP33 NF28. Farmacopea de los Estados Unidos de América. 2010.

#### 2.4.5. Parámetros de una validación

**Exactitud.-** La exactitud de un procedimiento analítico, es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese procedimiento y el valor verdadero. La exactitud de un procedimiento analítico debe establecerse en todo su intervalo. Los documentos International Conference on Harmonisation (ICH) recomiendan que se evaluará la exactitud analizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración. La exactitud puede expresarse como porcentaje de recuperación la cual debe estar entre un 98% y 102% (USP 33, 2010).

**Precisión.-** Es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad y de repetitividad (USP33, 2010).

Puede distinguir dos tipos de estudio.

**Repetibilidad.-** Es la medida de la precisión de un método efectuado en las mismas condiciones sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos, en un corto intervalo de tiempo (Castro y col., 1999).

**Reproducibilidad (Precisión Intermedia).-** Es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra, pero en condiciones diferentes como diferentes analistas, aparatos, días, etc (ICH, 1995).

**Especificidad – Selectividad.-** Los documentos ICH, la definen como capacidad de evaluar de manera inequívoca el analito en presencia de aquellos componentes cuya presencia resulte previsible, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz (USP 33, 2010).

**Especificidad.-** Capacidad de detectar el analito sin interferencias de ningún otro compuesto (USP 33, 2010).

**Selectividad.-** Capacidad de detectar el analito separadamente de sustancias químicas diferentes presentes en la muestra (USP 33, 2010).

### **Linealidad e intervalo**

**Linealidad.-** Es la capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado (USP 33, 2010).

$$y = mx + b$$

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta (Quattrocchi, 1992).

**Intervalo.-** Es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior del analito en la cual se puede determinar el analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad, se expresa normalmente en las mismas unidades que los resultados de la prueba. La ICH recomienda que, para establecer la linealidad se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones (ICH, 1995).

**Robustez.-** La robustez de un procedimiento analítico, es una medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas, la robustez puede determinarse durante las etapas de desarrollo del procedimiento analítico (USP 33, 2010).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo se realizó en la sección de Físico-química e Instrumentación del Departamento de Control de Calidad del Laboratorio MEDROCK COORPORATION S.A.C, ubicado en el distrito de Pueblo Libre, de la ciudad de Lima.

#### 3.2. POBLACIÓN

Quetiapina Fumarato 300 mg tabletas recubiertas de un Lote determinado.

#### 3.3. MUESTRA

100 tabletas recubiertas de Quetiapina Fumarato 300 mg, que fue distribuida de la siguiente manera.

**TABLA N° 02. Distribución de la muestra para la evaluación de los parámetros de validación**

PARAMETROS DE LA VALIDACIÓN	N° DE TABLETAS RECUBIERTAS DE QTF	
	1º ANALISTA	2º ANALISTA
Exactitud	20	...
Precisión	15	15
Especificidad - Selectividad	10	...
Linealidad	20	...
Robustez	20	...

### **3.4. DISEÑO METODOLÓGICO**

**3.4.1. Preparación de la Fase Móvil.-** Se Pesó 2.8 g de fosfato monobásico de potasio, 0.47 g de hidróxido de sodio, y 0.60 g de cloruro de potasio; transferir a un matraz de 1000 mL, se disolvió con 350 mL de agua purificada, luego se agregó 200 mL de acetonitrilo HPLC y 450 mL de metanol HPLC, se homogenizó y se dejó equilibrar la solución a temperatura ambiente, luego se prosiguió ajustar la solución hasta pH 7,0 utilizando ácido fosfórico al 85%, se filtró y desgasificó. La fase móvil sirvió para el desarrollo cromatográfico del estándar y las muestras, también se empleo como solvente de la última dilución del estándar y las muestras.

**3.4.2. Preparación de la Solución Diluyente.-** Se preparó una mezcla de Acetonitrilo HPLC y Metanol HPLC en la proporción 50/50, dejando equilibrar a temperatura ambiente. Es utilizado como solvente para la primera dilución del estándar y las muestras.

**3.4.3. Preparación del Estándar de Referencia.-** Se pesó con exactitud aproximadamente 29 mg de QTF Estándar de referencia (equivalente a aproximadamente 25 mg de Quetiapina base) y se transfirió a una fiola de 25 mL, se agregó 20 mL de solución diluyente, sonicando hasta completa disolución, se llevó a volumen con el mismo solvente y se homogenizó. Se tomó 5 mL de la solución obtenida y se llevó a fiola de 50 mL, completando a volumen con fase móvil. Se obtiene una solución de concentración 0.10 mg de Quetiapina base por mL. Filtrar utilizando membranas de POLYVINYL DIFLUORIDE (PVDF) de 0.45  $\mu$ m.

**3.4.4. Preparación de la Muestra.-** Se tomó 20 tabletas recubiertas, se registró el peso individualmente, se llevó a un mortero y se pulverizó. Se pesó aproximadamente 298 mg de la muestra (equivalente a 100 mg de Quetiapina base), y se transfirió a una fiola de 100 mL, se agregó 80 mL de solución

**diluyente**, sonicar por 10 minutos, luego se agitó mecánicamente por 30 minutos más, se llevó a volumen con el mismo solvente, se homogenizó y se dejó sedimentar. Se Tomó 5 mL de la solución sobrenadante y se llevó a una fiola de 50 mL, completando a volumen con **fase móvil** y se homogenizó. Se obtuvo una solución de concentración 0.10 mg de Quetiapina base por mL. Se filtró utilizando membranas de PVDF de 0.45  $\mu$ m.

Se Inyectó por separado volúmenes de 20  $\mu$ L de cada preparación, tanto estándar como muestra.

### 3.4.5. CÁLCULOS

#### Factor de calibración del Estándar de Quetiapina Fumarato

$$F_{st} = \frac{\text{PesoSt}}{25} \times \frac{5}{50} \times \frac{\text{PotSt}}{100} \times \frac{767,0}{883,1}$$

Dónde:

Peso St : Peso del estándar en miligramos

Pot St : Potencia tal cual del estándar

767,0 : Peso molecular de Quetiapina base

883,1 : Peso molecular de Quetiapina Fumarato

#### Factor de dilución de la muestra

$$F_{mp} = \frac{100}{W_{mp}} \times \frac{50}{5} \times PP$$

Dónde:

$W_{mp}$ : Peso de la muestra en miligramos.

PP : Peso promedio por tableta, sobre la cual se reporta el contenido de principio activo.

Volumen de inyección: 20  $\mu$ L

Temperatura: 25°C

Fase móvil: Acetonitrilo / Metanol/ Buffer fosfato (20 /45 /35) p H:7.0

Método de Cálculo: Estándar Externo.

### **3.4.8. Procedimientos para el desarrollo de los parámetros de validación**

#### **3.4.8.1. Exactitud**

a) **Preparación del Estándar de Referencia-** Se pesó con exactitud aproximadamente 29 mg de QUETIAPINA FUMARATO Estándar de Referencia y se transfirió a una fiola de 25 mL, se agregó 20 mL de **solución diluyente**, se sónico hasta completa disolución, luego se llevó a volumen con el mismo solvente y se homogenizó. Se tomó 5 mL de la solución obtenida y se llevó a fiola de 50 mL, en seguida se completó a volumen con **fase móvil**. Se filtró utilizando membranas de PVDF de 0.45  $\mu$ m.

#### **b) Preparación de las Muestras**

**b.1. Solución al 50%.-** En una fiola de 100 mL se colocó 57.5 mg de QTF estándar de referencia, se añadió 183 mg de preparación placebo, se agregó 80 mL de **solución diluyente**, se sónico por 10 minutos, luego se agitó mecánicamente por 30 minutos más, se llevó a volumen con el mismo solvente, se homogenizó y se dejó sedimentar. Se tomó 5 mL de la solución sobrenadante y se llevó a fiola de 50mL, se completó volumen con **fase móvil** y se homogenizó. Se filtró utilizando membrana de PVDF de 0.45 $\mu$ m.

**b.2. Solución al 100%.-** En una fiola de 100 mL se colocó 115 mg de QTF Estándar de Referencia, se añadió 183 mg de preparación placebo, se agregó 80 mL de **solución diluyente**, en seguida se sónico por 10 minutos, luego se agitó mecánicamente por 30 minutos más, se llevó a volumen con el mismo solvente, se homogenizó y se dejó sedimentar. Se tomó 5 mL de la solución sobrenadante y se llevó a fiola de 50 mL, completando a volumen con **fase móvil** y



Dónde:

Área MP : Área de la muestra.

Área St : Área del estándar.

### 3.5. ANÁLISIS DE DATOS

#### 3.5.1. Exactitud

##### a. Determinación del Porcentaje de Recuperación

$$\%R = \frac{X_h}{X_a} \times 100$$

Además:  $98 \% \leq \%R \leq 102\%$

Dónde:

**%R** : Porcentaje de recuperación

**X h** : Cantidad de analito hallado

**Xa** : Cantidad de analito añadido.

##### b. Aplicación de test de "t" de Student

**Criterio de aceptación.-** Si el "t" experimental es menor al "t" de las tablas (t<sub>tablas</sub>; 0,05: 2,306), para (n-1) =8 grados de libertad y un nivel de aceptación del 95% (p= 0.05), entonces no existe diferencias significativas entre la recuperación media y la cantidad añadida del analito.

Cálculo de "t" experimental:

$$t_{exp} = \frac{|100-R|-\sqrt{n}}{RSD}$$

Dónde:

**R** : Porcentaje de recuperación promedio de todos los datos.

**n** : Número de mediciones

**RSD** : Desviación estándar relativa o coeficiente de variación del total de mediciones. Si  $t_{exp} < t_{tablas}$

##### Intervalo de confianza del Porcentaje de Recuperación

Dónde: t = 2,306 para n - 1 grados de libertad= 9 - 1 = 8 y un nivel de confianza del 95%

$$\mu = x + \frac{t_{8;0,05}}{\sqrt{n}} \times S$$

Entonces: ...  $\leq \mu \leq$  ...

**3.5.2. Precisión**

**Criterios de aceptación**

a. **Desviación estándar relativa.**- En el siguiente cuadro, mostramos el límite permisible de RSD, para los diferentes métodos de análisis:

Precisión (Etapa)	RSD (%)
1. Repetibilidad	RSD $\leq$ 2%
2. Reproducibilidad	RSD $\leq$ 2%

b. **Análisis estadístico de la repetibilidad**

Dónde:

N	9
x(promedio)9	...
desviación estándar de 9	...
desviación estándar relativa	...
raíz cuadrada de 9	3,000
t <sub>tabla8; 0,05</sub>	2,306

**Intervalo de confianza individual:  $\mu = X \pm t \cdot S$**

Dónde: t<sub>tabla8; 0,05</sub> = 2,306 para n - 1 grados de libertad (9-1=8) y un nivel de confianza de 95%.

$\mu = X \pm t_{\text{tabla}} \cdot S$ , de los datos que se va obtener:

$$\mu = \dots \pm 2,306 (S)$$

Entonces: ...  $\leq \mu \leq$  ...

**Intervalo de Confianza de la Media:  $\mu = X \pm t \cdot S / \sqrt{n}$**

Dónde: t<sub>tabla8; 0,05</sub> = 2,306 para n - 1 grados de libertad (9-1=8) y un nivel de confianza de 95%.

$$\mu = x + \frac{t_{\text{tabla}}}{\sqrt{n}} \times S$$

Entonces: ...  $\leq \mu \leq$  ...

**c. Análisis estadístico de la precisión intermedia**

N	18
x(promedio) 18	...
desviación estándar de 18	...
desviación estándar relativa de	...
raíz cuadrada de 18	4,243
t <sub>tabla8; 0,05</sub>	2,110

**Intervalo de Confianza Individual:**  $\mu = x \pm t_{\text{tabla}} \times S$

Dónde: t exp = 2,110 para n – 1 grados de libertad (18-1 = 17) y un nivel de confianza de 95%.

De los datos que se van obtener:  $\mu = x \pm 2.110 \times S$

Entonces: ... <  $\mu$  < ...

**Intervalo de Confianza de la Media:**  $\mu = x \pm t \times S/\sqrt{n}$

Dónde: t exp = 2,110 para n – 1 grados de libertad (18 – 1 = 17) y un nivel de confianza de 95%.

$$\mu = x + \frac{t_{\text{tabla}}}{\sqrt{n}} \times S$$

Dónde: ... <  $\mu$  < ...

**3.4.3. Especificidad - Selectividad**

**a. Determinación del tiempo de retención del pico de Quetiapina Fumarato**

QUETIAPINA FUMARATO en la solución estándar de referencia

Tiempo de retención: ..... minutos.

QUETIAPINA FUMARATO en la solución muestra

Tiempo de retención: ..... minutos.

**b. Determinación de picos cromatográficos de excipientes en el placebo**

No se deben detectar picos cromatográficos de excipientes en el placebo

**c. Determinación de picos cromatográficos de reactivos utilizados en la**

**preparación de las muestras**

No se deben detectar picos cromatográficos de la fase móvil que interfieran con la determinación del analito.

**d. Determinación de picos cromatográficos de productos de degradación relacionados a Quetiapina Fumarato**

No se deben detectar picos cromatográficos de los posibles productos de degradación de los analitos por efecto de la degradación a la que ha sido sometido el producto que puedan interferir con la cuantificación del activo en mención.

**3.5.4. Linealidad**

**Cálculo de la recta de regresión**

1. Ecuación de la recta:

$$y = bx + a$$

Dónde:

x : Concentración del analito.

y : valor de la respuesta en área del pico cromatografica.

b : valor de la pendiente de la recta.

a : valor del intercepto de la recta con el eje "y"

2. Fórmulas para hallar la pendiente "b"

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

3. Fórmulas para hallar "a"

$$a = y - bx = \frac{\sum y}{n} - \frac{b \sum x}{n}$$

**Interpretación estadística de la regresión lineal**

a. **Coefficiente de correlación "r".**- El coeficiente de correlación "r", permite establecer si existe relación entre las variables x (Concentración) e y (Respuesta).

- **Test de Hipótesis para el Coeficiente de Correlación "r"**

H<sub>0</sub>: "r" es diferente de 1

**Criterio de aceptación.-** "r" no debe ser significativamente diferente de 1

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

**Resultado:** r =

- **Coeficiente de determinación.-** Es el cuadrado del coeficiente de correlación "r", e indica la proporción de la varianza total de "y". Este debe ser mayor o igual a **0.990** para ingredientes activos en una fórmula.

Resultado: r<sup>2</sup> =

- **Test de hipótesis para demostrar regresión en función del coeficiente de correlación "r"**

H<sub>0</sub> = no hay correlación entre x e y

H<sub>1</sub> = Presenta correlación.

**Criterio de aceptación.-** Si el valor de "t" obtenido es mayor que el de "t" de la tabla, calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de significación del 95% (probabilidad, p=0.05), entonces si hay correlación entre "x" e "y"

Cálculo de "t": t<sub>exp</sub>

$$t_{exp} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Resultados:

t<sub>exp</sub>:

t<sub>tabla</sub>: 2.160

## b. Test de Linealidad

- **Desviación estándar relativa de los factores de respuesta "f"**

**Criterio de aceptación:**  $RSD \leq 5\%$

Cálculo de "f":

$$f = \frac{y}{x}$$

Resultados

Promedio de "f":

Desviación estándar de "f":

Desviación estándar relativa de "f":

- **Significación estadística de la varianza de la pendiente "b"**

**Test de hipótesis para la pendiente "b":**  $H_0: b = 0$

**Criterio de aceptación.**-**"b"** debe ser significativamente diferente de cero

- \* Cálculo de la **varianza** de la pendiente:  $S_b^2$

$$S_b^2 = \frac{S^2_{xy}}{\sum (x-\bar{x})^2} = \frac{S^2_{xy}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

- \* Cálculo de la **varianza** del error experimental total:  $S^2_{x,y}$

$$S^2_{xy} = \frac{\sum y^2 - a\sum y - b\sum xy}{n-2} = \frac{\sum (y-\bar{y})^2 (1-r^2)}{n-2}$$

- \* Cálculo de la **desviación estándar** de la pendiente:  $S_b$

$$S_b = \sqrt{S_b^2}$$

$$S_b \text{ rel}(\%) = \frac{S_b \cdot 100}{b}$$

- \* Cálculos de los límites de confianza de la pendiente:

$$b \pm t_{\text{tabla}} S_b$$

Dónde: "t<sub>tabla</sub>" es el valor de la distribución de Student para (n-2) grados de libertad y un grado de significación del 95% (probabilidad,  $\alpha = 0.05$ )

- \* Cálculo del valor de "t" experimental:  $t_{\text{exp}}$

$$t_{\text{exp}} = \frac{|b|}{S_b}$$

**Criterio de aceptación.**- Si  $t_{exp} > t_{tabla}$ ; para  $\alpha = 0,05$  y  $(n-2)$  grados de libertad, entonces "b" es significativamente diferente de cero y se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ).

Resultados:

Intervalo de confianza para la pendiente "b":

$t_{exp}$ :

$t_{tabla} : 2.160$

### c. Test de Proporcionalidad

- **Significación estadística de la varianza del Intercepto "a":**

**Test de hipótesis para el intercepto "a":**  $H_0: a = 0$

**Criterio de aceptación.**- "a" no debe ser significativamente diferente de cero.

- \* Cálculo de la **varianza del Intercepto:  $S_a^2$**

$$S_{a^2} = \frac{s^2_{xy} (\sum X^2)}{\sum (x-\bar{x})^2 (n)} = \frac{s^2_{xy} (\sum X^2)}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

- \* Cálculo de la **varianza del error experimental total:  $S^2_{x,y}$**

$$S^2_{xy} = \frac{\sum y^2 - a \sum y - b \sum xy}{n-2} = \frac{\sum (y-\bar{y})^2 (1-r^2)}{n-2}$$

- \* Cálculo de la **desviación estándar del Intercepto:  $S_a$**

$$S_a = \sqrt{S_{a^2}}$$

$$S_a \text{ rel}(\%) = \frac{S_a \cdot 100}{a}$$

- \* Cálculo de los límites de confianza del Intercepto:

$$a \pm t_{tabla} S_a$$

Dónde:

"t" es el valor de la distribución de Student para  $(n-2)$  grados de libertad con una probabilidad de  $\alpha = 0,05$ .

- \* Cálculo del valor de "t" experimental:  $t_{exp}$

$$t_{exp} = \frac{|a|}{S_a}$$

**Criterio de aceptación.-** Si  $t_{exp} < t_{tabla}$ , para  $\alpha = 0,05$ , (n-2) grados de libertad entonces "a" no es significativamente diferente de cero y se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ).

Resultados:

Intervalo de Confianza para el intercepto "a" :

$t_{exp}$ :  $t_{tabla}$ : 2.160

### 3.5.5. Robustez

#### a. Desviación estándar relativa

En el siguiente cuadro, mostramos el límite permisible de RSD, para las diferentes condiciones de análisis:

TABLA N° 04. Parámetro a evaluar en el ensayo de robustez

PRECISIÓN	RSD (%) PERMISIBLE
1. REPETIBILIDAD	RSD ≤ 2%



#### **IV. RESULTADOS**

**TABLAN° 05.** Parámetros de adecuación obtenidos en la prueba de aptitud del sistema de la técnica analítica por HPLC, en la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

<b>PARÁMETRO DE ADECUACION</b>	<b>CRITERIO DE ACEPTACION</b>	<b>RESULTADOS</b>
Repetibilidad del tiempo de retención	RSD $\leq$ 1,0%	0,035%
Repetibilidad de Áreas	RSD $\leq$ 2,0%	0,214%
Factor de asimetría	Máximo: 1,5	0,308%
Número de platos teóricos	Mínimo: 1000	5966,247

**TABLA N° 06.** Porcentaje de recuperación obtenido de concentraciones diferentes para el ensayo de exactitud de la técnica analítica por HPLC, en la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

% TEORICO DEANALITO	ANALITO AÑADIDO (mg)	ANALITO RECUPERADO (mg)	% DE RECUPERACIÓN
50%	58.00	58.05	100.08
	57.70	58.34	101.12
	58.50	58.85	100.60
100%	118.56	117.98	99.51
	116.31	116.93	100.53
	118.44	119.00	100.47
150%	175.95	176.01	100.03
	178.34	178.91	100.32
	178.32	178.27	99.97
Promedio			100.29
Desviación estándar (DS)			0.461
Desviación estándar relativa (DSR)			0.459
Número de datos (n)			9.0
Grados de libertad (GL)			8.0
t experimental			1.918
t tabla ( $p = 0,05$ ; $GL:8$ )			2.306
$t_{exp} < t_{tabla}$			

**TABLA N° 07.** Resultados obtenidos por un analista durante el estudio de repetibilidad para la validación de la técnica analítica por HPLC, para el análisis de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

MUESTRAS	PESO (mg)	ÁREAS	mg DE ANALITO / ABLETA	PROMEDIO mg DE ANALITO / TABLETA
50%	150.4	1050.719	299.22	299.09
		1052.220	299.65	
		1047.757	298.38	
	150.5	1059.478	301.49	300.95
		1055.987	300.50	
		1057.276	300.86	
	151.2	1067.442	304.44	304.15
		1064.622	303.63	
		1067.249	304.38	
100%	299.7	2086.783	298.49	298.22
		2083.621	298.04	
		2084.296	298.14	
	299.9	2105.340	300.88	301.06
		2108.542	301.34	
		2105.900	300.96	
	299.2	2090.439	298.90	298.18
		2083.366	297.88	
		2082.519	297.76	
150%	450.2	3137.307	298.78	298.43
		3129.625	298.05	
		3133.846	298.45	
	450.9	3185.691	302.90	301.36
		3177.104	302.08	
		3145.897	299.11	
	450.2	3172.702	302.14	301.85
		3161.167	301.04	
		3175.129	302.37	
Promedio				300.37
Desviación estándar (DS)				2.033
Desviación estándar relativa (DSR)				0.677
t tabla ( $p = 0,05$ ; $GL: 8$ )				2.306
Intervalo de Confianza Individual ( $\mu = \bar{X} \pm t \cdot s$ )				$295.68 \leq \mu \leq 305.05$
Intervalo de Confianza de la Media ( $\mu = \bar{X} \pm t \cdot s / \sqrt{n}$ )				$298.80 \leq \mu \leq 301.93$

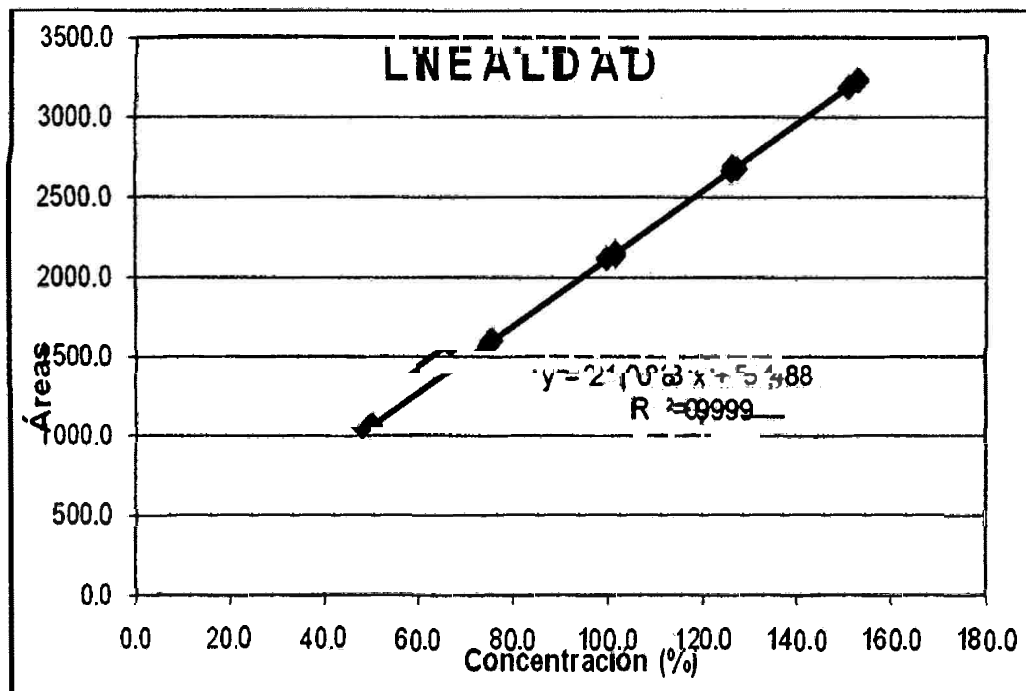
**TABLA Nº 08.** Resultados obtenidos por dos analistas durante el estudio de la precisión intermedia en la validación de la técnica analítica por HPLC, para el análisis de Quetiapina Fumarato. Lima 2011.

MUESTRA	CANTIDAD DE MUESTRA (mg) PESADO POR CADA ANÁLISTA		PROMEDIO: mg DE ANALITO / TABLETA	
	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2
50%	150.4	149.8	299.09	303.54
	150.5	150.1	300.95	301.18
	151.2	150.2	304.15	300.34
100%	299.7	298.6	298.22	299.06
	299.9	298.3	301.06	300.04
	299.2	299.0	298.18	301.24
150%	450.2	447.2	298.43	301.17
	450.9	447.1	301.36	301.47
	450.2	447.5	301.85	300.80
Promedio				300.67
Desviación estándar (DS)				1,657
Desviación estándar relativa (DSR)				0.551
Raíz cuadrada de 18				4.243
t tabla ( $p = 0,05$ ; $GL: 17$ )				2.110
Intervalo de Confianza Individual ( $\mu = X \pm t. S$ )				$297.18 \leq \mu \leq 304.17$
Intervalo de Confianza de la Media ( $\mu = X \pm t.S/ \sqrt{n}$ )				$299.85 \leq \mu \leq 301.50$

**TABLA N° 09.** Tiempos de retención a los que eluye el principio activo y los productos de degradación en el análisis de Selectividad – Especificidad de la técnica analítica por HPLC, en la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

<b>TIPO DE MUESTRA</b>	<b>TIEMPO DE RETENCIÓN (min)</b>
Estándar de Quetiapina	4.418 para la Quetiapina 1.021 para el ácido fumarico
Muestra de Quetiapina	4.423 para la Quetiapina 1.021 para ácido fumarico
Diluyente	No hay respuesta
Fase móvil	No hay respuesta
Placebo	No hay respuesta
Muestra de hidrolisis alcalina	4.414 para la Quetiapina 1.020 para e ácido fumarico 2.513para compuesto de degradación 1
Muestra de hidrolisis ácida	4.431 para la Quetiapina 1.027 para el ácido fumarico 1.438para compuesto de degradación 1 2.516 para compuesto de degradación 2 2.789 para compuesto de degradación 3
Muestra de oxidación	4.416 para la Quetiapina 1.019 para el ácido fumarico 2.817 para compuesto de degradación 3 3.222 para compuesto de degradación 4 2.838 para compuesto de degradación 5
Muestra de termólisis	4.403 para la Quetiapina 1.017para el ácido fumarico
Muestra de fotólisis	4.432 para la Quetiapina 1.022para el ácido fumarico

**FIGURA N° 03.** Curva de regresión lineal del área en función de la concentración, en el análisis de linealidad de la técnica analítica por HPLC, en la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.



**TABLA N° 10.** Resultados obtenidos en la prueba de robustez en tres condiciones diferentes de la técnica analítica por HPLC, en la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

MUESTRAS	R1 (mg): pH = 6,8 DE LA FASE MÓVIL.	R2 (mg): COLUMNA MARCA: VERTICAL. VertiSep™ AQS Phenyl (150 x 2,1mm, 5um) CROMATOGRÁFICA.	R3 (mg): REFRIGERACIÓN (2°- 8°) DURANTE 24 HORAS
M1	296,590	298,630	299,280
M2	295,460	298,390	301,200
M3	296,690	301,190	302,040
M4	292,690	298,160	300,090
M5	295,550	299,270	301,120
M6	293,260	298,120	298,210
Promedio	295,04	298,96	300,323
Desviación estándar (DS)	1,688	1,170	1,411
Desviación estándar relativa (DRS)	0,572	0,391	0,470



## V. DISCUSIÓN

El presente trabajo se propuso para desarrollar un método analítico por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC), para la cuantificación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas, la cual no figura en ninguna obra oficial.

En la TABLA N° 05, ANEXO N° 01 y ANEXO N° 02, se muestran los parámetros de adecuación y los resultados para la Aptitud del Sistema en la que se determinó la repetibilidad del tiempo de retención fue 0,035% de desviación estándar relativa, el cual indica un alto grado de certeza de la identidad del analito, demostrando la elución de la concentración máxima en el mismo tiempo. La repetibilidad de áreas fue 0,214% de desviación estándar relativa, indica que la integración de las áreas es precisa. El factor de asimetría fue 0,308% de desviación estándar relativa muestra que el pico es simétrico, demostrando la usencia de colas hacia la derecha e izquierda. El número de platos teóricos es 5966,247 el cual indica la eficiencia de la columna cromatografica. Los valores obtenidos para cada parámetro de adecuación quedan dentro de las especificación según de la USP.

Considerando estas condiciones de trabajo se procedió a la validación de la técnica analítica desarrollada por el método de HPLC.

En la TABLA N° 06 y ANEXO N° 04 muestra el porcentaje de recuperación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas en función a la cantidad agregada, donde el porcentaje de recuperación que se obtuvo fue satisfactorio (media = 100,29 %), con una desviación estándar relativa de 0,459. Para confirmar el resultado, se sometió al parámetro estadístico de test de Student donde  $t_{exp} = 1.918$  y  $t_{tabla} = 2.306$ . Al ser  $t_{exp} < t_{tabla}$  no existe diferencia significativa entre la cantidad añadida del analito y la cantidad recuperada del mismo. Según el ANEXO N° 03, se realizó el Test de igualdad de varianzas (test G de Cochran), donde  $G_{exp} = 0.645 < G_{tabla} = 0.8709$  que significa que las varianzas de las tres concentraciones utilizadas son equivalentes. Es decir, el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

En el estudio de repetibilidad se obtuvo resultados por un analista efectuándose sobre una serie de alícuotas homogéneas. En la TABLA N° 07 se muestra el promedio del contenido de analito declarado siendo 300,37 mg/tableta recubierta con una desviación estándar relativa de 0.677, para un criterio de aceptación de no más de 2% para determinaciones independientes a concentraciones de 50%, 100% y 150%. Según AEFI (2001) el criterio de aceptación debe estar en función de la concentración, para los principios activos menor al 2,0%, por lo que se espera resultados muy cercanos al cero, como lo obtenido en el trabajo. Según el criterio de Martin-Smith y Rudd (1990) consideran para formulaciones farmacéuticas que contienen entre 1 y  $10^{-3}$  de concentración de principio activo, la desviación estándar relativa en el estudio de repetibilidad para los resultados debe ser menor que el 1,0%, y el valor obtenido en este trabajo está dentro de este criterio.

Al determinar el límite de confianza individual se obtuvo  $295,68 \leq \mu \leq 305,05$ , quedando cada uno de los cuantificados dentro del límite superior e inferior. Para el límite de confianza de la media fue de  $298,80 \leq \mu \leq 301,93$ , quedando también la media dentro de estos límites.

En la TABLA N° 08, se observa la variabilidad del contenido hallado de la Quetiapina, realizado por dos analistas, los resultados obtenidos demuestran que no existe diferencia significativa entre los resultados alcanzados por los analistas (analista 1: 300,37 mg /tabletas recubiertas) y (analista 2: 300,98 mg/ tabletas recubiertas), así mismo, la desviación estándar relativa es de 0,551 para un criterio de aceptación de 2,0%, lo cual indica que el método es reproducible. Se determinó el límite de confianza individual que fue de  $297,18 \leq \mu \leq 304,17$ , los resultados obtenidos individualmente queda dentro de estos valores hallados, el límite de confianza de la media fue  $299,85 \leq \mu \leq 301,50$ , el promedio del contenido hallados es 300,67 mg/ tabletas recubiertas, el referido valor se encuentra dentro de estos límites. DeSain (1992) y Martin-Smith y Rudd (1990), plantean que para la mayoría de las técnicas analíticas el coeficiente de variación de la precisión intermedia debe ser menor de 2,0%.

En la TABLA N° 09, se muestra los tiempos de retención a los que eluye el principio activo y los productos de degradación en el ensayo de selectividad – especificidad, en la cual el tiempo de retención del estándar y la muestra para la Quetiapina es de 4.418 y 4.423 minutos respectivamente siendo esta respuesta casi exacta para ambos, y también se encuentra una respuesta de 1.021 minutos para el ácido fumarico siendo similar el estándar y la muestra, de igual manera se observa la diferencia de tiempos de retención entre la Quetiapina y el ácido fumarico, tanto en el estándar como en la muestra. En la muestra de diluyente, fase móvil y placebo no se encontró ninguna respuesta el cual indica que el diluyente, fase móvil y el placebo no interfieren en la

cuantificación del principio activo. En la muestra de hidrolisis alcalina se obtuvo una respuesta a los 4.414 minutos para la Quetiapina, 1.020 minutos para el ácido fumarico y 2.513 minutos para el compuesto de degradación 1, entre este último y la Quetiapina hay diferencia en el tiempo de retención significativamente el cual no interfiere en la cuantificación, a la vez se muestra que en el hidrolisis alcalina encontramos como producto del estrés al que fue sometida solo un compuesto de degradación. En la muestra de hidrolisis acida se obtuvo una respuesta de 4.431 minutos para la Quetiapina, 1.027 minutos para el ácido fumarico, 1.438 minutos para el compuesto de degradación 1; 2.516 minutos para el compuesto de degradación 2 y 2.789 minutos para el compuesto de degradación 3; donde la el tiempo de retención de la Quetiapina con respecto a los demás tiempos de retención hay diferencias marcadas, estos productos de degradación obtenidos en esta prueba no interfieren en la cuantificación del analito principal. En la oxidación se observa tiempos de retención de 4.416 minutos para la Quetiapina, 1.019 minutos para el ácido fumarico, 2.817 minutos para el compuesto de degradación 3; 3.222 minutos para compuesto de degradación 4 y 2.838 minutos para el compuesto de degradación 5, de igual manera siendo muy distantes del tiempo de retención entre la Quetiapina y los productos de degradación, por tanto, no hay interferencia en la cuantificación del pico principal. En la termólisis se observa tiempos de retención de 4.403 minutos para la Quetiapina y 1.017 minutos para el ácido fumarico, de igual manera, en la fotólisis se observa tiempos de retención de 4.432 minutos para la Quetiapina y 1.022 minutos para el ácido fumarico, el cual indica que la termólisis y fotólisis no afectan en la degradación de la Quetiapina, ya que no se encontró ninguna respuesta diferente a la Quetiapina y el ácido fumarico. Según Martin-Smith y Rudd (1990), los métodos cromatográficos se consideran selectivos, si se demuestran que los picos son

homogéneos y corresponden a un solo compuesto, mediante una buena separación del analito y productos relacionados.

En la FIGURA N° 03 y en el ANEXO N° 15, se observa la variación del área en función de concentración en el ensayo de linealidad del método, donde se observa un coeficiente de correlación igual a 0,9999, y la ecuación de la recta fue  $y = 21,083x + 5,488$ . Por tanto, el coeficiente de correlación es mayor a 0,995 para ingredientes activos en una fórmula según lo exigido por la FDA para este parámetro. Por otro lado, 0,9999 muestra un alto grado de correlación según Pearson, esto significa que la variable independiente explica un 99,99% el comportamiento de la variable dependiente "y", muchos autores como Martin-Smith y Rudd (1990), plantean que para que el método se considere lineal, el coeficiente de correlación debe ser mayor que 0,999 y también con respecto al trabajo realizado por Suneetha y Lakshmana (2010), obtuvieron un coeficiente de correlación igual a 0,999 siendo este valor casi semejante al resultado hallado en este trabajo. Sin embargo, Quattrocchi (1992) considera que la mejor forma de indicar la linealidad del método desarrollado es realizando una prueba estadística de t de Student. Al aplicar el test de linealidad (ANEXO N° 15) se demostró la regresión en función del coeficiente de correlación ( $r$ ), tenemos  $H_0 =$  no hay correlación entre "x" e "y" mientras la  $H_1 =$  si hay correlación, se tiene que el valor de "t" obtenido (295,597) es mayor que el "t" de tabla (2,160), calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de confianza del 95%, entonces si hay correlación entre "x" e "y", aceptándose la hipótesis experimental, por tanto, el t de Student sirvió para determinar si la correlación lineal es significativa. Asimismo, mediante el test de Cochran (ANEXO N° 16), también demostramos que al ser  $G_{exp} = 0,267$  menor que  $G_{tabla} = 0,6838$ , las varianzas de las concentraciones son

homogéneas, que el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

Si el valor de "b" fuese igual a 0 significaría que la recta es paralela al eje de abcisas y no habría correlacion, pero en nuestro análisis el valor obtenido para  $t_{exp}$  indica, con un nivel de confianza de 99% que "b" es significativamente diferente de 0, entonces, si hay correlacion. En el análisis del intercepto o termino independiente "a" la determinación de la varianza del termino independiente, decimos que  $t_{exp} < t_{tabla}$ , donde  $t_{exp} = 0,197$  y  $t_{tabla} = 2,160$ , del análisis el valor obtenido para el  $t_{exp}$ , indica con un nivel de confianza que "a" no es significativamente diferente de 0, entonces si hay correlacion.

En el TABLA Nº 10, los resultados por efecto de la variabilidad, realizando el cambio de pH (6,8) de la fase móvil, cambio de columna (Marca: Vertical) y sometiendo la muestra a refrigeración (2°- 8°), donde la respuesta hallada del contenido del analito declarado es independiente de la variabilidad de esas condiciones.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se validó la técnica analítica por método de Cromatografía Líquida de Alta Performance, (HPLC) para la determinación de contenido de Quetiapina Fumarato en la Forma Farmacéutica de Tabletas Recubiertas, demostrando y documentando los resultados obtenidos, que es confiable por cumplir con los parámetros de exactitud, precisión, especificidad – selectividad, linealidad y robustez.
2. La prueba de aptitud del sistema para el método analítico fue reproducible en tiempo de retención y áreas.
3. La técnica analítica fue exacta, ya que su capacidad analítica permite obtener resultados lo más cercano al valor real.
4. La técnica analítica fue precisa, ya que el grado de concordancia nos permite obtener resultados repetitivos y reproducibles.
5. La técnica analítica desarrollada fue específica – selectiva, ya que no se detectó la interferencia de la matriz, ni de los productos de degradación.
6. La técnica analítica fue lineal, porque determinó la relación entre las concentraciones (50%-150%) y la respuesta (Áreas), siendo estos

proporcionales para determinar la regresión lineal en la cual indica un alto grado de correlacion.

7. La técnica analítica fue robusta porque no se halló diferencias significativas, con los resultados obtenidos trabajando a las condiciones cromatográficos establecidas.



## **VII. RECOMENDACIONES**

1. La técnica analítica se reevaluará cuando el producto sufra cambio en la formulación, con fines de producir datos analíticos fiables.
2. Se realizará la revalidación de la técnica analítica cuando se modifique diferencialmente uno o más de las condiciones cromatográficas establecidas en la técnica analítica validada.
3. Se revalidará la técnica analítica cuando haya una modificación en una de las etapas del proceso de fabricación.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ahuja, S y Dong, M.** (2005). Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC, Edit El sevier, Vol 6. Academic Press, Amsterdam.
2. **Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI).** (2001). Validación de Métodos Analíticos. España
3. **Bagade, S. B., Narkhede S.P., Nikam, D.S., Sachde C.K.** (2009). Development and validation of UV- Spectrophotometric method for Quetiapine Fumarate in two dose tablets. International Journal of ChemTech Research, Vol.1, Nº 4: pp: 898-904.
4. **Castro, M., Martí, P., Sebastián, G.** (1999). Validación de métodos analíticos comisión de normas de buena fabricación y control de calidad. 1ra Edición. Sección Catalana - USA.
5. **Castillo, B. y Gonzales, R.** (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Rev Cubana Farm. Habana. Vol 30, Nº 1: 43-51.
6. **DeSain, C.** (1992). Master method validation protocols, Biopharm, 30-4.
7. **Food and Drug Administration (FDA).** (2002). Current Good Manufacturing Practice. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
8. **International Conference on Harmonisation (ICH).** (1995). of Thechnical Requeriments for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ente regulador para USA, la comunidad Europea y Japón).
9. **International Organization for Standardization (ISO/IEC 17025:2005,** (2005).Quality management and Quality Assurance Standards. Guidelines for Selection and Use. Geneva.
10. **Quattrocchi, O.** (1992). Introducción a la HPLC: aplicación y práctica. 1ra. Edición, editorial Artes Gráficas Farro S.A. Argentina.
11. **Lieberman J.** (2006). Tratado de Psicofarmacología. España. Capítulo 30. pp.517-531.disponible en: [http://books.google.co.ve/books?id=kuiShiOc\\_j](http://books.google.co.ve/books?id=kuiShiOc_j)
12. **Lobrutto, R y Kazakevoch, Y.** (2007). HPLC for Pharmaceutical Scientists. Editorial Wiley-Interscience. 1ºEdicion. USA.
13. **Martin-Smith, M y Rudd,D.** (1990). The importance of proper validation of the analytical methods employed en the quality control of pharmaceuticals. Acta Pharm Jugosl.40: 7-19.

14. **Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter .J.M.** (2000). *Farmacología*; 4ta Edición, Editorial Harcourt. España: pp. 579- 589.
15. **Remington.** (2000).*Farmacología*, 20ª Edición, Editorial Medica Panamericana. Argentina.
16. **Saavedra, I., Quiñones, L., Escala, M., Varela, N., Cáceres, D., Sasso, J., Díaz, A., Ortega, V., Rojas, L., Pérez, M.J., Tapia, J., Leyton, S., Orellana, M., Pérez, M., Rojas, J., Valenzuela ,H.** (2007). Estudio de Biodisponibilidad relativa de una Formulación oral de Quetiapina. Laboratorio de Farmacocinética y Biodisponibilidad, Centro de Investigación Farmacológicas y Toxicológicas, Programa de Farmacología Clínica, Facultad de Medicina Universidad de Chile. Santiago-Chile
17. **Sánchez, J.**(2008).Quetiapina. Disponible en: <http://sanliz.com>
18. **Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC).** (2002). Quetiapina: Un Nuevo Antipsicótico Atípico.*Journal of Clinical Psychiatry* 56(9): 438-445. Argentina
19. **Suneetha, D y Lakshmana Rao, A.** (2010). A Validated RP- HPLC Method for the Estimation of Quetiapine in Bulk and Pharmaceutil Formulations *E-Journal of Chemistry*, 7(S1),S26- S266. India.
20. **The Merck Index.** (2010). An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biological, thirteenth edition. Editorial Ataff, USA.
21. **USP 33.** (2010). *Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario Internacional (NF28)* Copyright 2010 The United States Pharmacopeial Convención. 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, Estados unidos de América. Oficial desde el 1º de mayo de 2010 hasta el 30 de abril del 2011.
22. **Vinay, K.B., Revanasiddappa, H.D., Rajendraprasad, N.** (2010) Potentiometric Determination of Quetiapine Fumarate in Pharmaceutical Formulations. *Portugaliae Electrochimica Acta.* 28 (5): 1647-1571. India.

## **ANEXOS**

# ANEXO N°01

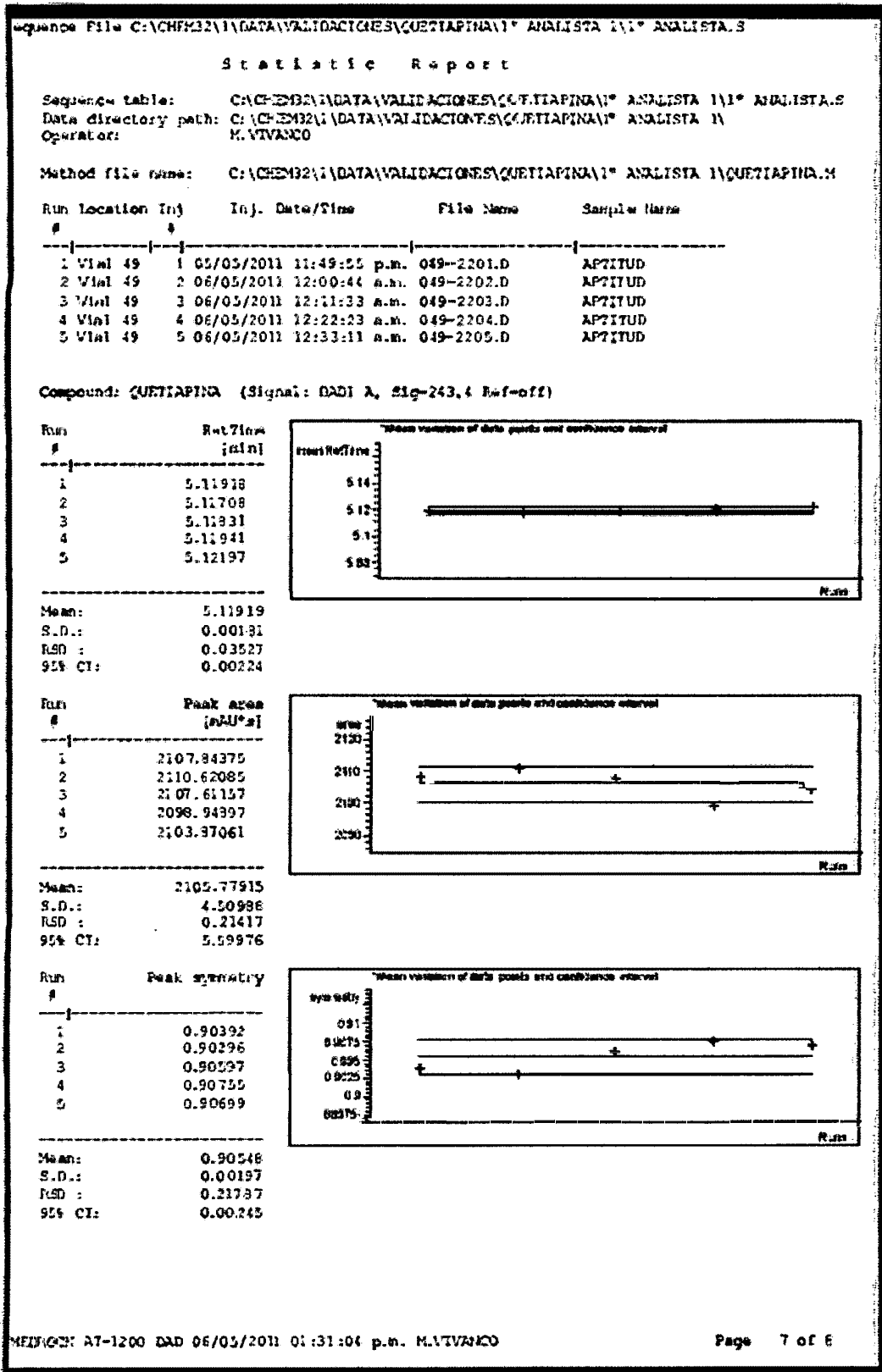


FIGURA N°04. CromatogramadelAptitud del Sistema. Lima2011.

## ANEXO N°02

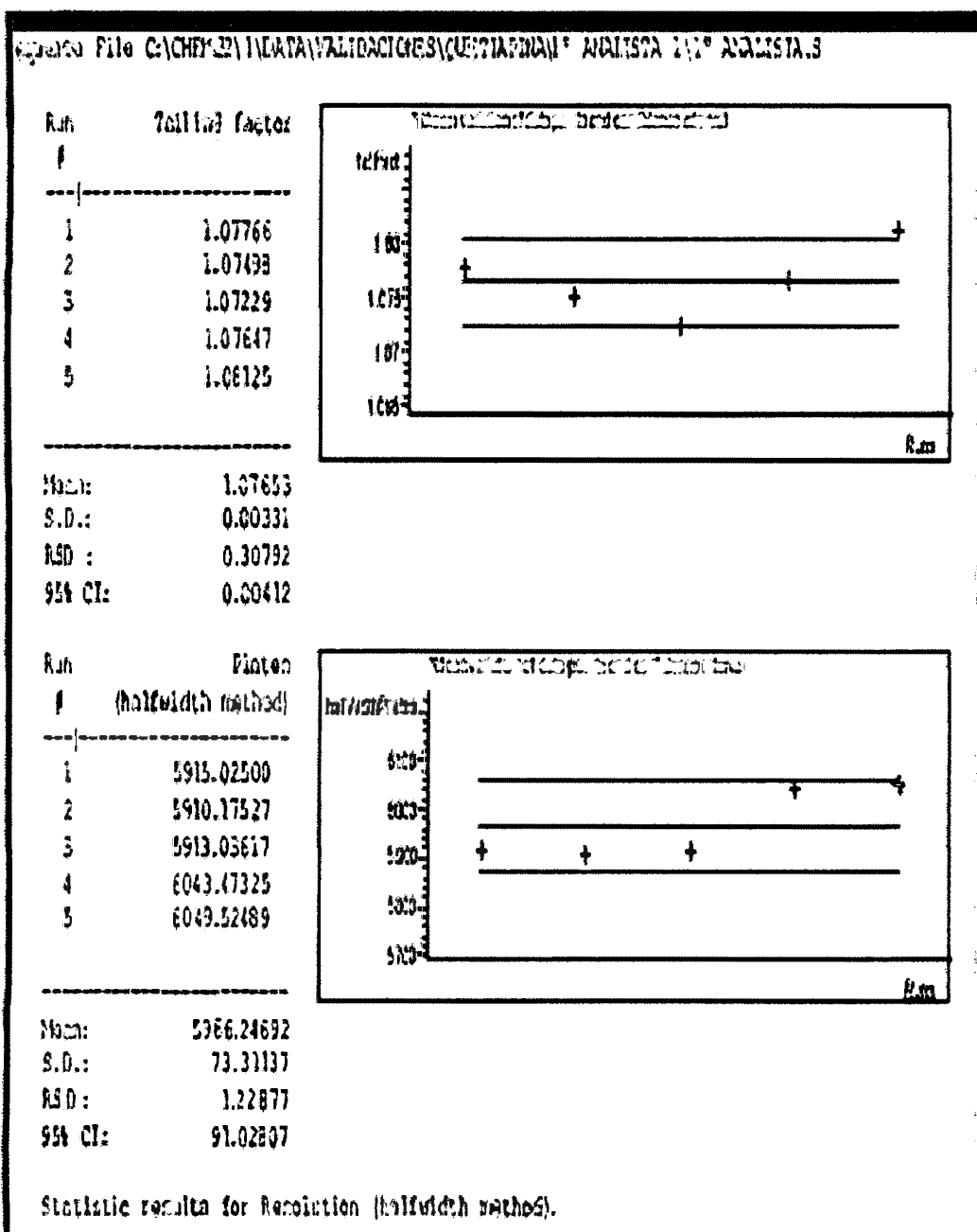


FIGURA N° 05. Cromatograma del Aptitud del Sistema. Lima 2011.

### ANEXO N°03

TABLA N° 10. Determinación de la exactitud en las muestras de concentraciones diferentes en la validación de la técnica analítica para el análisis de contenido de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

% Teórico de analito	Analito añadido (mg)	Áreas	Analito hallado (mg)	mg prom	s	mg prom ± s	s <sup>2</sup>
Exactitud 50%	58.00	1050.084	58.05	58.41	0.41	58.05± 0.41	0.17
	57.70	1055.444	58.34				
	58.50	1064.582	58.85				
Exactitud 100%	118.56	2134.187	117.98	117,97	1.04	117,97±1.04	1.08
	116.31	2115.173	116.93				
	118.44	2152.658	119.00				
Exactitud 150%	175.95	3183.943	176.01	177,73	1.52	177,73±1.52	2.31
	178.34	3236.402	178.91				
	178.32	3224.852	178.27				

**Test de Igualdad de Varianzas (Test G de Cochran):**

$$G_{exp} = \frac{S^2_{max}}{s^2_1 + s^2_2 + s^2_3 + s^2_4 + s^2_5} = \frac{2,31}{3,56} = 0,645$$

$G_{tabla} (P=0,05; K=3; n=3) = 0.8709$

Al ser  $G_{exp} < G_{tabla}$  significa que las varianzas de las tres concentraciones utilizadas son equivalentes. Es decir, el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

## ANEXO N°04

TABLA N° 11. Porcentaje de recuperación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas en función a la cantidad agregada, en la ensayo de exactitud de la técnica analítica. Lima 2011.

Porcentaje de recuperación (Test t de Student):

% Teórico de analito	Porcentaje de recuperación (%)
Exactitud 50%	100.08
	101.12
	100.60
Exactitud 100%	99.51
	100.53
	100.47
Exactitud 150%	100.03
	100.32
	99.97
<b>Promedio</b>	<b>100.29</b>
<b>DSR(%)</b>	<b>0.458</b>
<b>t<sub>exp</sub></b>	1.918
<b>t<sub>tabla 8:0.05</sub></b>	2.306
<b>Intervalo de Confianza Superior</b>	100.65
<b>Intervalo de Confianza Inferior</b>	99.94

Para: Grados de libertad:  $n - 1 = 8$  y  $p: 0,05$ ; con un nivel de confianza del 95,0%

el valor de:  $t_{\text{tabla}} (P=0,05; GL=9 - 1=8) = 2.306$

$$t_{\text{exp}} = \frac{|100 - R| - \sqrt{n}}{RSD} = \frac{|100 - 100,29| - \sqrt{9}}{0,33} = 1,918$$

Al ser  $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$  no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100, confirmando que el método es exacto.













ANEXO N°: 12

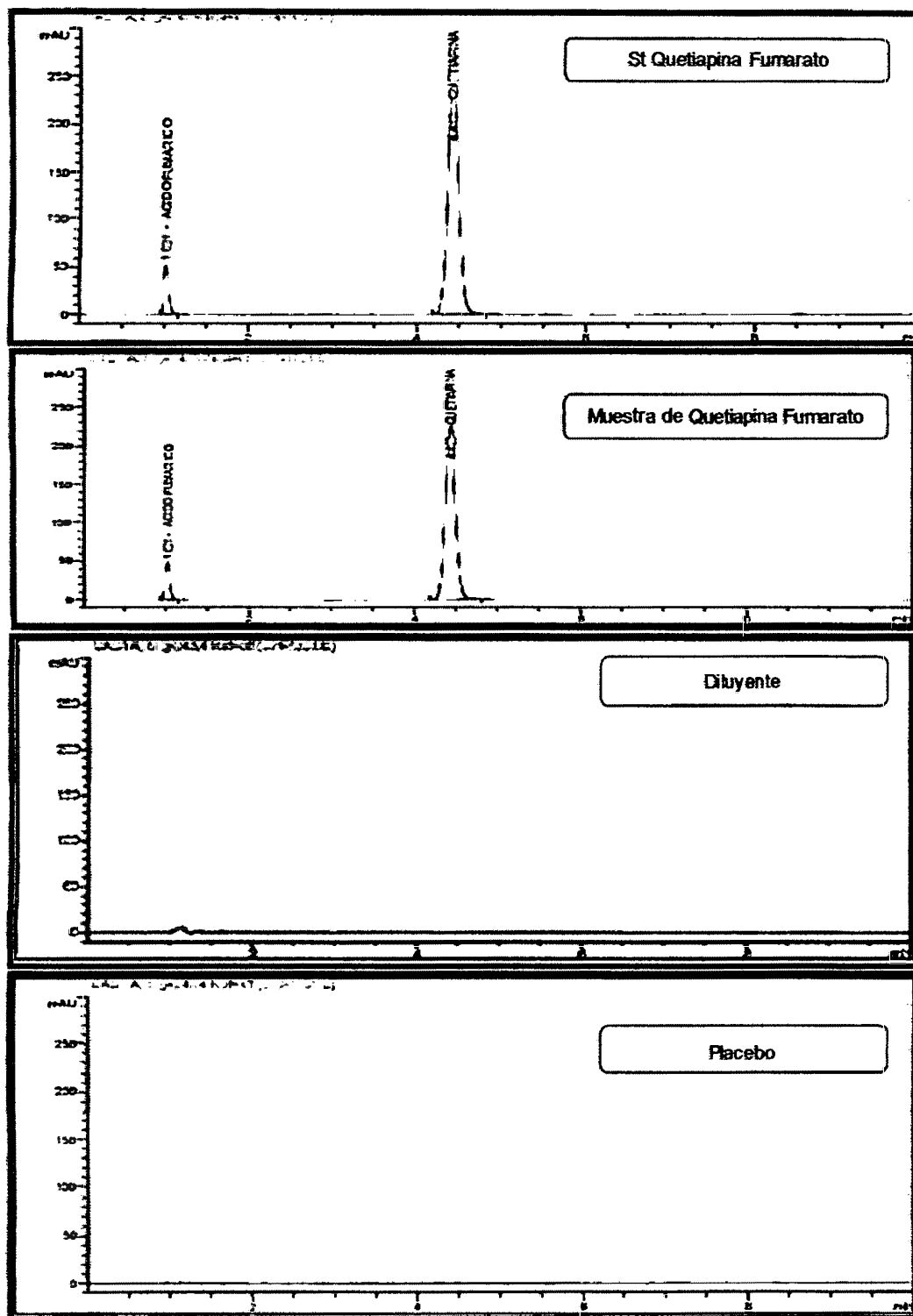


FIGURA N° 12. cromatogramas obtenidos en el análisis de selectividad – especificidad en la técnica analítica de la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

ANEXO N°: 13

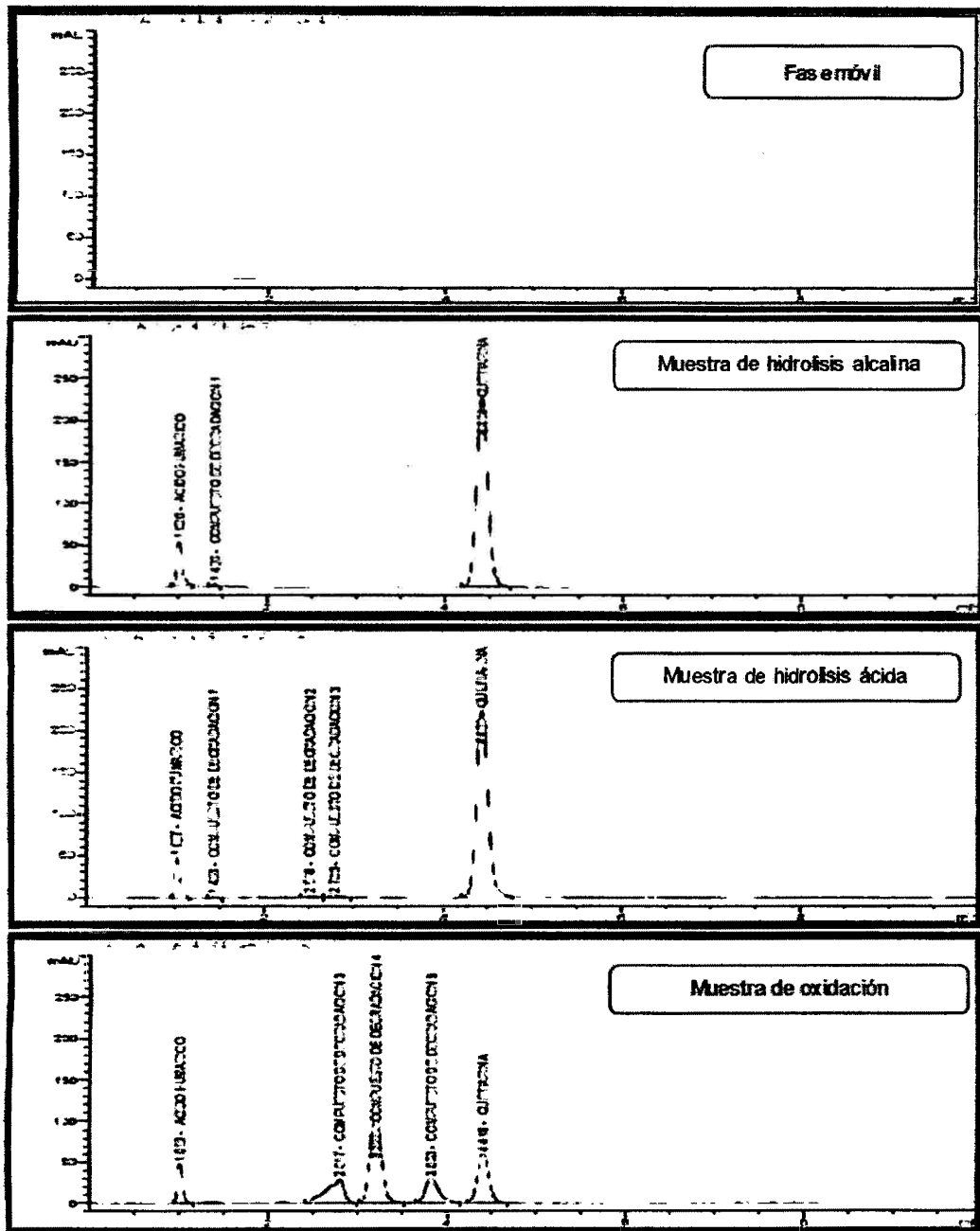


FIGURA N° 11. Cromatogramas obtenidos en el análisis de selectividad – especificidad en la técnica analítica de la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.

## ANEXON°14

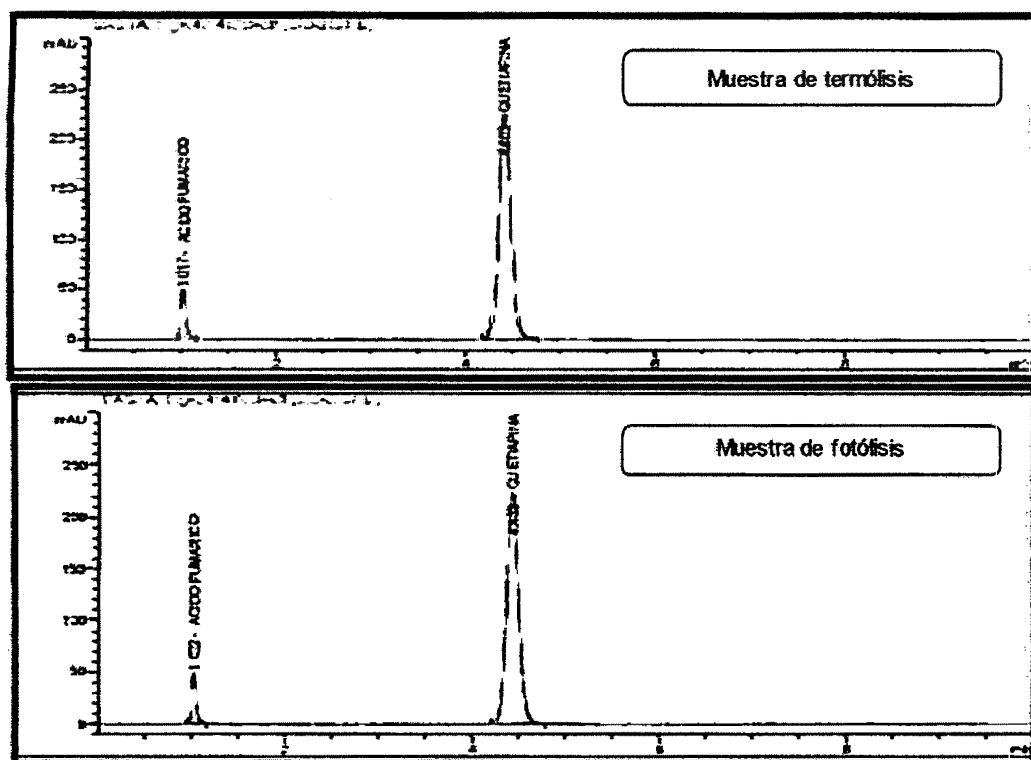


FIGURA N° 13. Cromatogramas obtenidos en el análisis de selectividad – especificidad en la técnica analítica de la validación de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.



**ANEXO N° 15**

**TABLA N° 13. Resultado de linealidad del método en función de concentraciones y áreas requeridas para determinar la curva regresión lineal de las soluciones estándar de QUETIAPINA FUMARATO tabletas recubiertas en el rango de (50% -150%).Lima 2011.**

Concen- tración	Mues- tras	mg/mL(X)	Área (Y)	X x Y	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	f <sub>i</sub> (Y/X)
50%	St1	49.745	1.050.077	52.236.237	2.474.578	1.102.662.532	21.109
	St2	49.488	1.055.444	52.231.624	2.449.045	1.113.961.713	21.327
	St3	50.174	1.064.582	53.414.315	2.517.427	1.133.335.332	21.218
75%	St1	74.721	1.567.435	117.119.706	5.583.171	2.456.852.270	20.977
	St2	75.347	1.602.185	120.719.401	5.677.128	2.566.997.479	21.264
	St3	75.681	1.600.852	121.154.440	5.727.646	2.562.727.948	21.153
100%	St1	101.686	2.134.187	217.016.721	10.340.024	4.554.753.169	20.988
	St2	99.756	2.115.173	211.001.529	9.951.288	4.473.958.258	21.203
	St3	101.583	2.152.658	218.673.411	10.319.103	4.633.935.590	21.191
125%	St1	126.138	2.663.446	335.962.377	15.910.849	7.093.946.994	21.115
	St2	126.404	2.691.604	340.229.709	15.977.995	7.244.729.850	21.294
	St3	127.382	2.677.991	341.127.401	16.226.134	7.171.634.743	21.023
150%	St1	150.908	3.183.943	480.482.048	22.773.182	10.137.494.280	21.099
	St2	152.958	3.236.402	495.032.536	23.396.058	10.474.294.863	21.159
	St3	152.941	3.224.852	493.210.674	23.390.811	10.399.672.335	21.086
Σ		1.514.911	32.020.632	3.649.612.12	172.714.43	77.120.957.356	317.206

Promedio de Factor de Respuesta (f)	21.147
Desviación Estándar de f	0.106
Desviación Estándar Relativa de f	0.499
Coefficiente de Correlación: r	0.9999
Coefficiente de Correlación: r <sup>2</sup>	0.9999

**\*Coeficiente de correlación: r**

"r" debe ser mayor o igual a 0.995.

Resultado:  $r = 0,9999$

**\* Coeficiente de determinación: r<sup>2</sup>** debe ser mayor o igual a 0.990.

Resultado:  $r^2 = 0,9999$

**\* Test de Hipótesis para demostrar regresión en función del coeficiente de correlación "r":**

H<sub>0</sub> = no hay correlación entre x e y.

H<sub>1</sub> = si hay correlación

Resultado: T<sub>exp</sub> = 295,597

T<sub>table</sub> = 2,160

t<sub>exp</sub> es mayor t<sub>tabla</sub>, entonces rechazamos H<sub>0</sub> y aceptamos H<sub>1</sub>.

## ANEXO N° 16

**TABLA N° 14.** Resultado de linealidad en función de concentraciones y áreas requeridas para determinar la curva regresión lineal de las soluciones estándar de QUETIAPINA FUMARATO tabletas recubiertas en el rango de (50% - 150%).Lima 2011.

Concen tración	Mues tras	mg/mL (x)	Área (y)	f(y/x)	Prom	s	S <sup>2</sup>
50%	St1	49.745	1.050.077	21.109	21.218	0,109	0,012
	St2	49.488	1.055.444	21.327			
	St3	50.174	1.064.582	21.218			
75%	St1	74.721	1.567.435	20.977	21.131	0,145	0,016
	St2	75.347	1.602.185	21.264			
	St3	75.681	1.600.852	21.153			
100%	St1	101.686	2.134.187	20.988	21.127	0,121	0,013
	St2	99.756	2.115.173	21.203			
	St3	101.583	2.152.658	21.191			
125%	St1	126.138	2.663.446	21.115	21.144	0,138	0,015
	St2	126.404	2.691.604	21.294			
	St3	127.382	2.677.991	21.023			
150%	St1	150.908	3.183.943	21.099	21.115	0,039	0,004
	St2	152.958	3.236.402	21.159			
	St3	152.941	3.224.852	21.086			
Σ		1.514.911	32.020.832	317.206	105.735	0,551	0,060

### Test de Cochran

$$G_{\text{tabla}} (\alpha=0,05; k=5; n=3) = 0.6838$$

$$G_{\text{exp}} = \frac{S^2_{\text{max}}}{s^2_1 + s^2_2 + s^2_3 + s^2_4 + s^2_5} = \frac{0,016}{0,060} = 0,267$$

Al ser  $G_{\text{exp}} < G_{\text{tabla}}$ , significa que las varianzas de las concentraciones son homogéneas, es decir, que el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

## ANEXO N°17

### INFORME TÉCNICO

PRODUCTO : QUETIAPINA 300 mg TABLETAS RECUBIERTAS  
MÉTODO : CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE

PARAMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN	RESULTADOS
<b>APTITUD DEL SISTEMA</b>		
* Reproducibilidad de los tiempos de retención	$DSR \leq 1\%$	DSR = 0,035 %
* Reproducibilidad de las áreas	$DSR \leq 2\%$	DSR = 0,214 %
<b>LINEALIDAD</b>		
Ecuación de la recta	$y = bx + a$	$y = 21.799 x + 0.617$
* Coeficiente de correlación: r	$r \geq 0,995$	0,9994
* Coeficiente de determinación: r <sup>2</sup>	$r^2 \geq 0,990$	0,9987
* Test de hipótesis para demostrar regresión en función de "y"	$t_{exp} > t_{tabla}$ ( $t_{tabla} = 2,262$ )	100,001 > 2,160
<b>Test de Linealidad</b>		
* Desviación Estándar Relativa de "r"	DSR < 5%	DSR = 1,170 %
* Intervalo de confianza de la pendiente "b"	$m = b \pm t_{exp} S_b$	21,328 a 22,270
* Test de hipótesis de la pendiente "b"	$t_{exp} > t_{tabla} = 3,801$	100,001 > 3,012
<b>Test de Proporcionalidad</b>		
* Intervalo de confianza del intercepto "a"	$m = a \pm t_{exp} S_a$	-200,739 a 153,541 *
* Test de hipótesis del intercepto "a"	$t_{exp} < t_{tabla} = 3,805$	-0,221 < 2,160
		* El intervalo de confianza del intercepto "a" incluye al cero (0).
<b>PRECISIÓN</b>		
* Desviación Estándar Relativa de la Repetibilidad	DSR < 2%	DSR = 0,677 %
* Desviación Estándar Relativa de la Precisión Intermedia	DSR < 2%	DSR = 0,551 %
<b>EXACTITUD</b>		
* Porcentaje de Recuperación	98% - 102 %	100,29 %
* Desviación Estándar Relativa de la Recuperación	DSR < 2 %	0,458 %
* Test de hipótesis para la Recuperación	$t_{exp} < t_{tabla} = 5,051$	1,318 < 2,306
* Intervalo de confianza de la Recuperación	$\frac{x - t_{exp} \cdot S}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \frac{x + t_{exp} \cdot S}{\sqrt{n}}$	99,04 a 100,85
<b>ESPECIFICIDAD</b>		
* Respuesta del Estándar de Quetiapina	Hay respuesta	Hay respuesta a los 4.418 min
* Respuesta de la Muestra de Quetiapina	Hay respuesta	Hay respuesta a los 4.423 min
* Respuesta del Placebo	No hay respuesta	No hay respuesta a 4.42 min
* Respuesta de la Fase Móvil	No hay respuesta	No hay r respuesta a 4.42 min
* Respuesta de los posibles Productos de degradación de Quetiapina	No hay interferencia	No se detectan respuestas interferentes con la del principio activo de interés en el rango de medida por efecto de los posibles productos de degradación de Quetiapina.
<b>INTERVALO DEL MÉTODO</b>		
* Linealidad	50 % - 150 %	Conforme
* Precisión	50 % - 150 %	Conforme
* Exactitud	50 % - 150 %	Conforme
CONCLUSIÓN:	APROBADO	

FIGURA N° 14. Informe técnico de la validación de la técnica analítica. Lima

**ANEXO N° 18**



FOTOGRAFÍA N° 01. Fotografía de la Quetiapina tabletas recubiertas. Lima 2011.

## ANEXO N° 19



FOTOGRAFÍA N° 02. Fotografía del equipo de HPLC utilizado para el desarrollo de la validación de la técnica analítica de Quetiapina Fumarato tabletas recubiertas. Lima 2011.