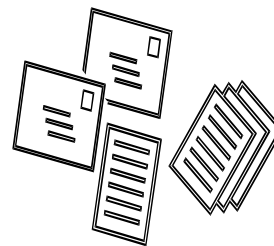


Comentario Especializado



ACERCAMIENTO A LA VALIDACION DE METODOS ANALITICOS EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA CUBANA

Dr. David Marrero Delange y Dr. Víctor González Canavaciolo.

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas,
Apartado Postal 6414, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Los métodos analíticos son ampliamente utilizados en la Industria Farmacéutica para la identificación y cuantificación de los componentes activos, impurezas y productos de degradación en materias primas y formas terminadas, así como para la determinación de propiedades específicas que influyen en la acción del producto, como la disolución y la velocidad de liberación. Lamentables hechos acontecidos en décadas pasadas, como el descubrimiento tardío del efecto teratogénico de la talidomida, hicieron que se tomara conciencia sobre la importancia de profundizar el estudio de los productos farmacéuticos. Lo anterior explica que actualmente constituya una exigencia legal de las agencias reguladoras y comisiones de Farmacopeas la validación, no sólo de los procesos de fabricación, sino también, de los métodos de análisis.¹⁻⁵

Debido a ello, y para garantizar que los análisis se realicen con la exactitud y precisión requerida, los métodos descritos en las Farmacopeas se encuentran validados.^{3,6} No obstante, tanto la variación de los excipientes utilizados en formas terminadas específicas como la introducción de una nueva sustancia activa conduce necesariamente a la validación del método analítico. Este proceso permite además, la detección de puntos débiles en el método, lo que posibilita su desarrollo y puesta a punto. Muestra de la importancia de estos procesos es el apoyo que les brinda la AOAC, organización líder en promover la excelencia analítica mediante programas de validación, asesorías en el manejo y acreditación de laboratorios y realización de estudios interlaboratorios.⁷

Actualmente existen diversos enfoques para el aseguramiento de la calidad de los resultados de laboratorio generados por organismos oficiales diferentes, tanto en Estados Unidos de América como en Europa. Como ejemplos se pueden señalar,

los requerimientos de la *Food and Drug Administration* (FDA) y la familia de Normas ISO 9000, de particular importancia en la aplicación de los sistemas de gestión de calidad analíticos en relación con los procesos de manufactura, así como en garantizar que estos sean eficientes, rentables y competitivos, lo que asegura la eficacia y confiabilidad en los productos y la satisfacción del cliente. De forma paralela se encuentran también, las directivas de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), la cual abarca, además de los mercados anteriores, a Japón.² Es necesario resaltar que en Cuba, sin embargo, la única guía de carácter nacional, perteneciente al ramo de los alimentos, no se puso en vigor hasta el año 2001,⁸ y falta aún una guía para la Industria Farmacéutica Nacional. Debido a esta carencia y dada la necesidad de los laboratorios cubanos de contar con los criterios de validación unificados, así como con un programa experimental a seguir, varias instituciones han redactado sus propios planes maestros de validación a partir de los criterios encontrados en diferentes guías y publicaciones. Lo anterior ha provocado cierta falta de uniformidad en las validaciones realizadas, tanto en los términos utilizados, como en los indicadores estudiados y en los criterios para su evaluación. Aunque la mayoría de dichas validaciones no ha sido publicada, el presente trabajo intenta un acercamiento a lo realizado en este tema en el país, a partir de lo encontrado en un grupo de publicaciones nacionales e internacionales, en varias de las cuales aparece más de un método analítico.

Los resultados resumidos de este trabajo (Tabla 1), muestran que el mayor número de validaciones publicadas corresponde a metodologías de formas terminadas (42),⁹⁻⁴⁶ tres de ellas, a ensayos de identidad³⁵⁻³⁷ y las 39 restantes, a deter-

minaciones cuantitativas. De estas últimas, 38 pertenecen a la determinación de los ingredientes activos, de las cuales, seis permiten además, el seguimiento de estudios de estabilidad,⁵ al incluir como parámetro la especificidad del método ante muestras sometidas a condiciones de degradación. En las últimas seis llama la atención la pequeña cifra por revelar un escaso interés en que la validación de las metodologías permita además, su empleo en los estudios de estabilidad, los que son obligatorios para cualquier sustancia activa o forma farmacéutica terminada, al ser la forma de precisar el plazo de tiempo en que el producto mantiene constantes los parámetros descritos en sus especificaciones de calidad. También llama la atención que no se encontraron publicaciones relacionadas con los ensayos de disolución de las formas terminadas, y sólo se halló una referida a la determinación de impurezas, específicamente, los productos de degradación de una forma terminada,⁴⁷ y una referida a la determinación de disolventes residuales.⁴⁸ También se encontró un solo trabajo relacionado con la validación del proceso de limpieza de los reactores posterior a su empleo en la producción, en el cual se determinan los límites de detección y cuantificación de dos principios activos.⁴⁹ Este último tipo de ensayo es fundamental para las fábricas donde un mismo equipo se emplea en la producción de diferentes medicamentos, siendo la única forma de garantizar que no ocurran contaminaciones cruzadas.

Se apreció que no hubo diferencias entre los ensayos de validación aplicados a las metodologías para productos sintéticos y los aplicados a las seis metodologías encontradas para los de origen natural.^{45,46,50-53} lo que ofrece un índice de las exigencias actuales para estos últimos productos. Tampoco se encontraron diferen-

Tabla 1. Resumen de algunos Métodos Analíticos representativos validados por la Industria Farmacéutica Cubana.

	Formas terminadas		Materia prima	Total	Referencias bibliográficas
Total de métodos	42	1	17	60	9-62
Ensayos realizados					
Linealidad	28	1	15	44	—
Especificidad	29	1	17	47	—
Exactitud	29	1	12	42	—
Repetibilidad	28	1	17	46	—
PI	23	1	14	38	—
Reproducibilidad	4		3	7	—
Robustez	6		4	10	—
LD	5	1	6	12	—
LC	2	1	4	7	—
Técnica empleada					
CLAR	13		3	16	9,12-18,21,22,26,41,43, 54,55,57
CG	11	1	5	18	14,24, 27-33,38,42,46, 47,52, 58-61
Valoración	1			1	20
Gravimetría	2			2	11,39
Electroforesis	2		2	4	35-37
CCD	2		1	3	25,44,54
Espectrofotometría	9		5	13	10,12,17,19,21,23,34,40, 45,50,53,56
Potenciometría			2	2	51,54
Absorción atómica			1	1	62

cias entre los procesos de validación aplicados a los métodos de cuantificación de sustancias activas⁵⁴⁻⁶² y a los de formas terminadas, lo cual coincide con lo observado para los trabajos de este tipo publicados por laboratorios y empresas farmacéuticas extranjeras.⁶³ La mayoría de los métodos clasificados por sus autores como de identificación, muestran sin embargo, la realización de tantos ensayos de validación como los cuantitativos, cuando en realidad sólo requerían del estudio de especificidad.⁵ Los parámetros más evaluados en general fueron, en el orden siguiente: especificidad, repetibilidad, linealidad, exactitud, y precisión intermedia, lo cual coincide con lo comúnmente observado en los trabajos publicados internacionalmente;⁶³ mientras entre los ensayos realizados con menor frecuencia se encuentran, los de robustez y de reproducibilidad interlaboratorios, solamente incluidos en 7 y 10 validaciones, respectivamente.

Resulta significativa la poca atención prestada en el medio cubano, a los dos ensayos de validación anteriormente mencionados, lo cual pudiera deberse, al menos en el caso del estudio interlaboratorios, a las dificultades prácticas para llevarlo a cabo. Dichas dificultades, sin embargo, no deben hacer olvidar que este estudio constituye la forma más efectiva de de-

terminar la precisión del método, sobre todo, cuando se prevé su aplicación fuera del laboratorio original. La explicación de esto radica en que frecuentemente los métodos analíticos son desarrollados y validados por analistas experimentados, utilizando los mejores equipos disponibles, pero cuando el método pasa a ser utilizado de forma rutinaria en otros laboratorios, donde las condiciones no son siempre las idóneas y el personal es menos experimentado, pueden verse afectados los resultados. En este contexto, surge como alternativa más sencilla y económica el ensayo de robustez, en el cual, se prueba el método en condiciones que se diferencian ligeramente de las originales, lo que permite determinar en qué magnitud se puede llegar a afectar su comportamiento y cuáles factores deben ser más estrictamente regulados al ser los que más inciden sobre los resultados. Estos dos estudios, por tanto, permiten determinar de forma aproximada, lo que ocurrirá en la práctica cuando el método comience a ser utilizado por diferentes partes o instituciones, como pueden ser productores, compradores y organismos reguladores.

El análisis de cómo ha sido abordada la precisión en sus diferentes niveles ejemplifica la poca uniformidad mencionada al inicio del artículo, y cierta falta de ac-

tualización en los términos empleados. Particularmente, el ensayo de precisión en que se incluyen diferentes días, analistas, etc., se denomina *Reproducibilidad* en la mayoría de los casos, cuando, en realidad debería ser llamado *Precisión Intermedia*, ya que desde hace aproximadamente una década, el término *Reproducibilidad* ha quedado reservado para los estudios interlaboratorios a los que los autores se refirieron en el párrafo anterior.⁶⁴ Otra irregularidad observada es que la determinación de los límites de detección y de cuantificación aparece no sólo en los métodos de cuantificación de impurezas, sino también innecesariamente, en los de cuantificación del ingrediente activo.

Un ensayo que al no formar parte de la validación queda usualmente fuera de las publicaciones es la determinación de la *Aplicabilidad o Idoneidad del Sistema*; si embargo, debe tenerse siempre en cuenta que la realización de este ensayo es imprescindible antes de acometer la aplicación del método, tanto en su validación como en las determinaciones de rutina, como única forma de demostrar que el sistema de instrumentos de medición está trabajando correctamente. En coincidencia con lo descrito internacionalmente, se apreció que las técnicas Cromatografía Gaseosa y Cromatografía Lí-

quida de Alta Resolución han sido las más empleadas, siendo esta última, la de más amplia aplicación en esta industria, dada la mayor diversidad de analitos que permite analizar.

CONCLUSIONES

Como se ha puntualizado en el análisis realizado, al no existir criterios únicos para la evaluación de los diferentes parámetros de validación, ha predominado el criterio del analista, quien ha basado sus decisiones en los encontrados previa evaluación del propósito y alcance de su método de análisis. En sentido general, se observa que los enfoques de las validaciones han sido similares en su esencia y aunque ha existido diversidad en los parámetros evaluados, algunos de los cuales, se han determinado con menor o mayor frecuencia de lo requerido, los resultados observados permiten afirmar que la calidad de los métodos analíticos en el país va en ascenso como parte del sistema de gestión de calidad de las empresas, al permitir la verificación de la efectividad de los procesos de manufactura. Este hecho indudablemente repercutirá en una mayor confianza en los productos cubanos y respaldará su comercialización, al asegurar a los consumidores la calidad requerida, y por tanto, que tendrán los efectos farmacéuticos deseados.

BIBLIOGRAFIA

- Regulación No.16-2000: Directrices sobre Buenas Prácticas de fabricación de productos farmacéuticos, Centro Estatal para el Control de los Medicamentos, Ciudad de La Habana, 2000.
- ICH, Guidance on Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and Products: Chemical Substances. Federal Register 65 (251) 83041, 2000.
- The United States Pharmacopoeia and National Formulary: USP24/NF19, Section 1225: Validation of Compendia Methods, USP Convention Inc. Rockville, MD, 2149, 2000.
- Brown R. *et al.* Analytical procedures and Methods validation: Highlights of the FDA's Draft Guidance, **LCGC**, **19**, 74, 2001.
- Green C. Step-by-step approach to establishing a method validation program, **J. of Validation Technol.**, **6**, 622, 2000.
- Castro M., Gascón S., Pujol M., Sans J. y Vicente L., Validación de métodos analíticos, A.E.F.I., Sec. Catalana, Comisión de Normas de Buenas Prácticas de Fabricación y Control de Calidad. Editada por Hewlett Packard, Barcelona, España, 1989.
- AOAC Int., www.aoac.org, última revisión octubre de 2004.
- Norma Cubana Experimental. Guía para la Validación de Métodos de Ensayos Químicos para Alimentos. Proyecto para circular. 7a Revisión. Primera Edición, Oficina Nacional de Normalización, 2001.
- Pérez I., González H.M., Contreras J. y Vázquez M. CUBAFARMACIA 2002, **Rev. Cubana de Farmacia**, Suplemento especial No. 1, 2002.
- Lora J., González Y., Hernández R.M., Jáuregui U. y García R., CUBAFARMACIA 2002, **Rev. Cub. de Farmacia**, Supl. Esp. No. 1, 2002.
- Suárez Y., García O. y Domínguez C.E. CUBAFARMACIA 2002, **Rev. Cubana de Farmacia**, Suplemento especial No. 1, 2002.
- Díaz I. y Fariñas O. **Rev. Cubana Farm.**, **34**, 93, 2000.
- Pérez X. y Martínez V. **Rev. Cubana Farm.**, **36**, 152, 2002.
- Porto V., De la Paz B. y García N. **Rev. Cubana Farm.**, **35**, 95, 2001.
- Padrón A., Fernández M., Martínez L. y Izquierdo J.C. **Rev. Cub. Farm.**, **32**, 93, 1998.
- Fernández A., Aguilera Y. y Alonso E. **Rev. Cubana Farm.**, **36**, 28, 2002.
- Artau C., Fernández A. y Alonso E. **Rev. Cubana Farm.**, **32**, 99, 1998.
- Sordo L., Rodríguez A.R. y Cruz J. **Rev. Cubana Farm.**, **35**, 104, 2001.
- Machua M., González H.M., Tan Y., Rodríguez J. y Díaz M. **Rev. Cubana Farm.**, **33**, 177, 1999.
- Fernández M., Díaz R. y Cordero S. **Sintefarma**, **8**, 1, 2002.
- Gra G., Fernández S.A., Castiñeiras M. Barrios M.A. **Rev. Cubana Farm.**, **37**, 2, 2003.
- Fernández A., García R., Lara M., León R. y Alonso E. I Conferencia Interamericana de Farmacia y Nutrición, La Habana, 64, 2001.
- Leyes E.A., Moya A.D. y López B. **Rev. Mexicana Cienc. Farm.**, **33**, 11, 2003.
- Gil L., Vidal I., Brutus M., Tarinas A., Ramos F., Tápanes R., Pérez J. y Castañedo N. III Congreso de la Sociedad Cubana de Química, Habana, **Rev. Cub. de Quím.**, **X**, 265, 1998.
- Alba M.A., Bravo L., Bilbao O., Bernal N. y Pérez K. Libro de Resúmenes del IV Congreso Internacional de Química, La Habana, **Rev. Cubana de Quím.**, **XIII**, 217, 2001.
- Moya A.D. y Valdés L. IV Congreso Internacional de Química, La Habana, **Rev. Cub. de Quím.**, **XIII**, 375, 2001.
- Méndez E., Marrero D., González V. y Laguna A. **J. Pharmaceut. & Biomed. Anal.**, **31**, 613, 2003.
- Tejeda Y., Méndez E., Sierra R., Marrero D., González V. y Laguna A. **IL Farmaco**, **58**, 521, 2003.
- Tejeda Y., Sierra R., González V., Méndez E. y Laguna A. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **33**, 107, 2003.
- Magraner J., González V.L., Laguna A., Lorenzo M., Cabrera L. y Uribarri E. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **29**, 127, 1998.
- Sierra R., González V.L., y Magraner J. **J. AOAC Int.**, **85**, 2, 2002.
- González V.L. y Magraner J. **J. AOAC Int.**, **82**, 834, 1999.
- Sierra R., Tejeda Y. y González V.L. **Rev. Cubana Farm.**, **35**, 239, 2001.
- Delgado I., García T., Ferreiro T., Puig A.C., Muñoz X. y Ferrey J. XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, México, 2000.
- García T., Delgado I., Ferreiro T., Puig A.C., Muñoz X. y Ferrey J. XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, México, 2000.
- Ferreiro T., Cabrera I., Delgado I., García T. y Cepero Z. XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, México, 2000.
- Muñoz Y., Martínez I., Fajardo E.M., Balboa J., Estrada E., Delgado I., Pombo E. y Ferreiro T. **Rev. Cubana Farm.**, **34**, 259, 2000.
- Ledeo O., Escobar M., Rosado A., Correa T., Jardines D. y Molerio J. Libro de III Simposio Internacional de Aplicaciones del Ozono, XIII Seminario Científico del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, 2000.
- Suárez Y., Almirall I., González H.M., Bilbao O. y Nieto O.M. **Rev. Cub. Farm.**, **34**, 12, 2000.
- Suárez Y., García O., y Al-Sufi F.M.A. **Rev. Cubana Farm.**, **35**, 171, 2001.
- Pérez L.L., Fernández A., y Alonso E. **Rev. Cubana Farm.**, **35**, 28, 2001.
- Bravo L.R., Bermúdez A. y Jiménez E. III Congreso de la Sociedad Cubana de Química, La Habana, **Rev. Cub. de Quím.**, **X**, 250, 1998.
- Fariñas O., Fariñas V., Herrera M., González M., Ramos Y., y Valdés Y. IV Congreso Internacional de Química, La Habana, **Rev. Cub. de Quím.**, **XIII**, 371, 2001.
- Moya A.D., Leyes E.A., Márquez T., López B. Y Díaz I. **Acta Farmaceut. Bonaerense**, **22**, 223, 2003.
- Lastra H., Rodríguez L., Ponce de León H., y González M.L. **Rev. Cubana Plant. Med.**, **5**, 17, 2000.
- Batista A., Pino J. y Roncal E. **Rev. Cubana Plant. Med.**, **1**, 1, 2003.
- González V.L., Magraner J., Cabrera L. y Rivero B. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **29**, 27, 1998.
- Jiménez E., Bravo L.R., Martínez P. y Rodríguez R. IV Congreso Internacional de Química, Habana, **Rev. Cubana de Quím.**, **XIII**, 367, 2001.
- Martínez L., García L., Pérez N. y Chang A. **Rev. Cub. de Farmacia**, **35**, 100, 2001.
- Gutiérrez Y.I., Miranda M., Varona N. y Rodríguez T. **Rev. Cub. Farm.**, **34**, 50, 2000.
- Morris H.J., Almarales A., Romero K. y Vidal M. **Rev. Cubana Farm.**, **36**, 56, 2002.
- Deroux M., González V.L. y Magraner J. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **31**, 23, 2000.
- Rodríguez E.A., Rodríguez J.E., Pardo Z. y Pavón V. **Rev. de Technol. e Hig. de los Alimentos**, junio, 79, 2000.
- González R., Nuevas L., Alberto N, Castillo B. y Capote R. **Analyt. Letter**, **31**, 411, 1998.
- González R., Nuevas L., Soto L., López M. y Hoogmartens J. **J. Liq. Chrom. Rel. Technol.**, **24**, 2315, 2001.
- Nuevas L., González R., Rodríguez J.C. y Hoogmartens J. **J. Pharmac. Biomed. Anal.**, **18**, 579, 1998.
- Falero A., Llanes N., Pérez C., Fonseca M., Aguila B., Borrego, Lightbourne E. y González V.L. **J. Separ. Sci.**, **24**, 479, 2001.
- Bravo L.R., Calvo A., Morales S., Jiménez E. y Muro D. III Congreso de la Sociedad Cubana de Química, La Habana, **Rev. Cub. de Quím.**, **X**, 250, 1998.
- Marrero D., Méndez E., González V.L., Cora M. y Laguna A. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **33**, 99, 2002.
- González V.L. y Magraner J., Otero T. y García E. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **30**, 148, 1999.
- González V.L., Magraner J., Laguna A., Velázquez C. y Lorenzo M. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **29**, 123, 1998.
- Rodríguez A.C. *et al.*, **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **36**, 9-14, 2005.
- Clarke G.S., The validation of analytical methods for drugs substances and drug products in UK pharmaceutical laboratories, **J. of Pharm. & Biomed. Anal.**, **12**, 643, 1994.
- ICH, Q2A. Text on validation of analytical procedures (International Conference of Harmonization of Technical Requirement for registration of drugs for Human use, Geneva, Switzerland, 1995.