



Trabajo final integrador

“Evaluación Estadística de Datos de Estabilidad”

Farm. Bioq. Alicia Gentile

Laboratorios Biotechno Pharma

Diciembre 2014

Evaluación Estadística de Datos de Estabilidad

1. Objetivo:

Establecer un criterio de evaluación para identificar Cambios en el Tiempo y Variación de Datos en Estudios de Estabilidad.

2. Alcance

El estudio se realizó sobre un Paclitaxel 30 mg Inyectable, con el fin de hacerlo extensivo a otros estudios de estabilidad del laboratorio.

3. Organización

Laboratorios BiotechnoPharma SA es un laboratorio de capitales venezolanos establecido en el país hace 2 años, adquiriendo certificados de productos de empresas nacionales. Comercializa sus productos a través de convenios con obras sociales. Se trata de una PyME en crecimiento, la cual tiene proyectado comenzar a trabajar en instalaciones propias el primer cuatrimestre de 2015, en la planta en construcción ubicada en el Parque Industrial Ezeiza, la cual fue pensada como planta de Investigación y Desarrollo del grupo.

4. Resumen

En la industria farmacéutica, los estudios de estabilidad de los medicamentos juegan un rol fundamental en el seguimiento de la calidad de los productos. Este tipo de estudios se desarrollan tanto durante la fase de desarrollo del medicamento, para establecer la fórmula, período de vida útil (vencimiento) y condiciones de almacenamiento, como durante todo el ciclo de comercialización del producto, siendo necesario por normativa controlar la estabilidad de al menos un lote al año de cada producto elaborado por la compañía. Estos estudios se realizan de acuerdo a las normativas de la OMS, y de la ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use), organismo que involucra autoridades regulatorias y organismos representantes de la industria farmacéutica de Japón, EEUU y la Unión Europea, con la OMS como observador, y miembros asociados como la IFPMA (International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations)). El establecimiento del período de vida útil, en la fase de registro de medicamentos nuevos, se realiza con estabilidades aceleradas y en tiempo real, proyectando el período de vida útil antes de completar el período de vencimiento propuesto, que en general, no va más allá de los 12 meses del último tiempo presentado a la autoridad sanitaria. Este período debe confirmarse posteriormente con estudios de estabilidad en tiempo real. La importancia de ponderar correctamente el vencimiento de los productos reside en que el mismo no debe ser menor al tiempo que garantice la eficacia y seguridad del producto para el paciente. Sin embargo, el hecho de asignar un tiempo de vencimiento menor al que realmente le

corresponde al mismo, puede tener implicancias negativas desde el punto de vista de logística (en productos que se exportan) y económicas negativas para la empresa.

De acuerdo a la guía ICH Q1E (Guía para Evaluación de Datos de Estabilidad), la posibilidad de desarrollar una extrapolación estadística del período de vida útil (o vencimiento) de un medicamento, y el tiempo de extensión máximo otorgado por la estimación de datos en dicha extrapolación, debe basarse en el hecho de que los datos demuestren o no cambio con el tiempo y/o variabilidad. Sin embargo estos documentos no sugieren mediciones o criterios de aceptación para la evaluación de estos dos parámetros.

Por otra parte, las guías ICH establecen lineamientos para el análisis de datos de estudios de estabilidad de productos nuevos, sin considerar las estabilidades denominadas “on going” o “de seguimiento” que requieren ser realizadas para cumplir con las normativas nacionales, las cuales se encuentran alineadas con directrices de la OMS (realización del estudio de estabilidad de al menos 1 lote de producto comercializado por año). Este tipo de estudio de estabilidad es importante para evaluar que los productos mantengan su performance de calidad a través del tiempo, y en muchos casos, son utilizados para solicitar la extensión del período de vida útil de un medicamento. El objetivo del presente trabajo es la evaluación estadística de datos de estudios de estabilidad on going, para verificar tanto la performance de la técnica analítica utilizada en el análisis de valoración de Paclitaxel, como la posibilidad de solicitar la extensión del período de vida útil del mismo.

5. Marco Normativo

Guía ICH Q1A(R2) Stability Testing of new drugs substances and products.

Guía Q1E Evaluation of stability Data

WHO 43rd Technical Report. Annex 2. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products

Disposición 2819/04 – ANMAT

6. Introducción

La Guía ICH Q1E (Guía para la Evaluación de Datos de Estabilidad), incluye un árbol de decisiones que relaciona los datos obtenidos de estabilidad acelerada para la evaluación de los datos de estabilidad en tiempo real y deja al lector la decisión final para evaluar si se requiere evaluación estadística del período de vida útil y cuál puede ser el período de vida máxima de un producto.

Si se requiere análisis estadístico, el período de vida útil es el tiempo al cual el límite inferior de la curva de intervalo de confianza de un lado (95%) intercepta el valor mínimo de aceptación (para parámetros que disminuyen con el tiempo como la valoración) ó el límite superior intercepta el valor máximo (en el caso de parámetros que aumentan con el tiempo, como los productos de degradación).

Este árbol de decisiones implica responder las siguientes preguntas:

1. ¿Existe poco o ningún cambio en el tiempo en los datos de estabilidad?
2. ¿Existe poca o ninguna variabilidad?

Sin embargo esta guía no establece ningún criterio que defina los conceptos de “cambio en el tiempo” y “variabilidad”.

Para este trabajo, la evaluación del cambio en el tiempo en los datos de estabilidad se realizará mediante un análisis de la recta de regresión de los datos de valoración de principio activo en el tiempo, donde la pendiente es la velocidad de degradación y la ordenada en el origen es el valor inicial de la variable estudiada.

Se establece un test de hipótesis de acuerdo a lo siguiente:

Pendiente = 0 H_0 (Hipótesis nula)

Pendiente $\neq$ 0 H_1 (Hipótesis alternativa)

El valor p es el nivel de significancia mínimo conduciría al rechazo de la hipótesis nula.

El valor de p mayormente utilizado es de 0,05 como nivel de significancia en muchas evaluaciones estadísticas. Sin embargo la guía ICH Q1A establece $p=0,25$ para aceptar la igualdad de pendientes y ordenadas en el origen para permitir realizar un pool con las curvas de regresión de lotes diferentes. De esta forma si el valor de p es $> 0,25$, se concluirá que la pendiente no presenta variación o presenta muy poca variación en el tiempo.

Para evaluar la variabilidad, el desvío estándar a lo largo de la línea de regresión $S_{y/x}$ puede ser un indicador de la misma en los datos. Sin embargo, el mismo no tiene en cuenta los límites de aceptación del ítem en cuestión, que puede variar desde un 98%-102% en la valoración de un principio activo a 90%-110% en la variación de algunos productos, hasta un 90%-130% en la valoración de otros.

Para esto, en este trabajo se evaluará la variabilidad mediante el índice de Capacidad C_p , concepto que se tomó prestado del campo de la estadística de control de procesos.

En el caso de valoraciones de principios activos, el mismo, se va degradando con el tiempo y por lo tanto se evalúa su caída, por lo que se tendrá en cuenta en este caso el $C_{p_{min}}$.

Por el contrario, en el caso de la evaluación de aparición de productos de degradación, por ser un parámetro que aumenta con el tiempo, se evaluará a través del $C_{p_{max}}$.

Por lo tanto se tendrá en cuenta el valor de C_{p_k} para la evaluación de los parámetros de variación.

De esta forma se pretende evaluar la capacidad del método para arrojar resultados confiables a lo largo del tiempo.

7. Resultados

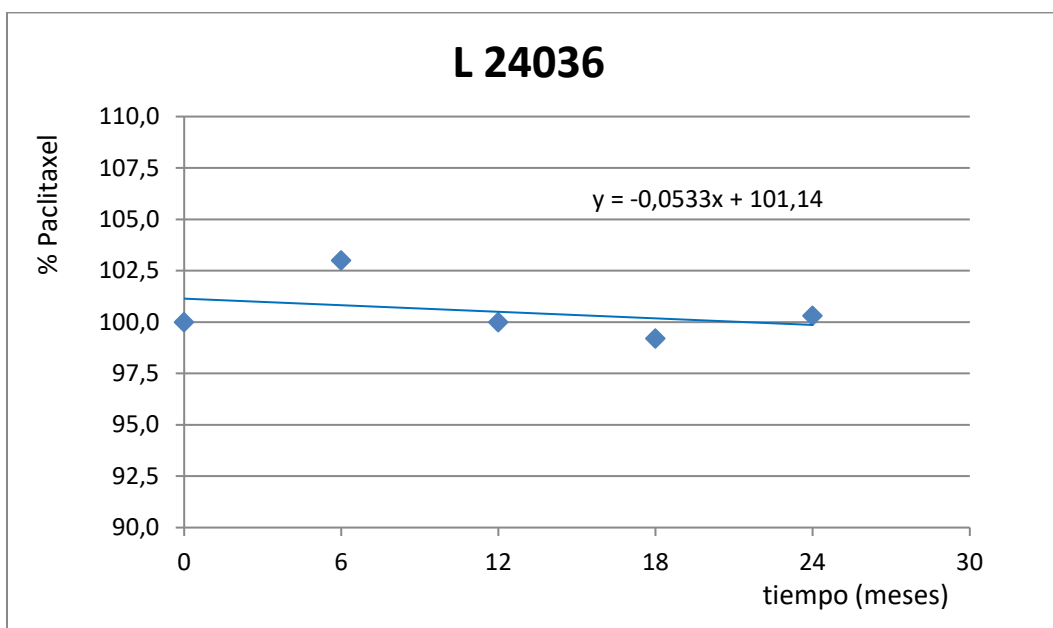
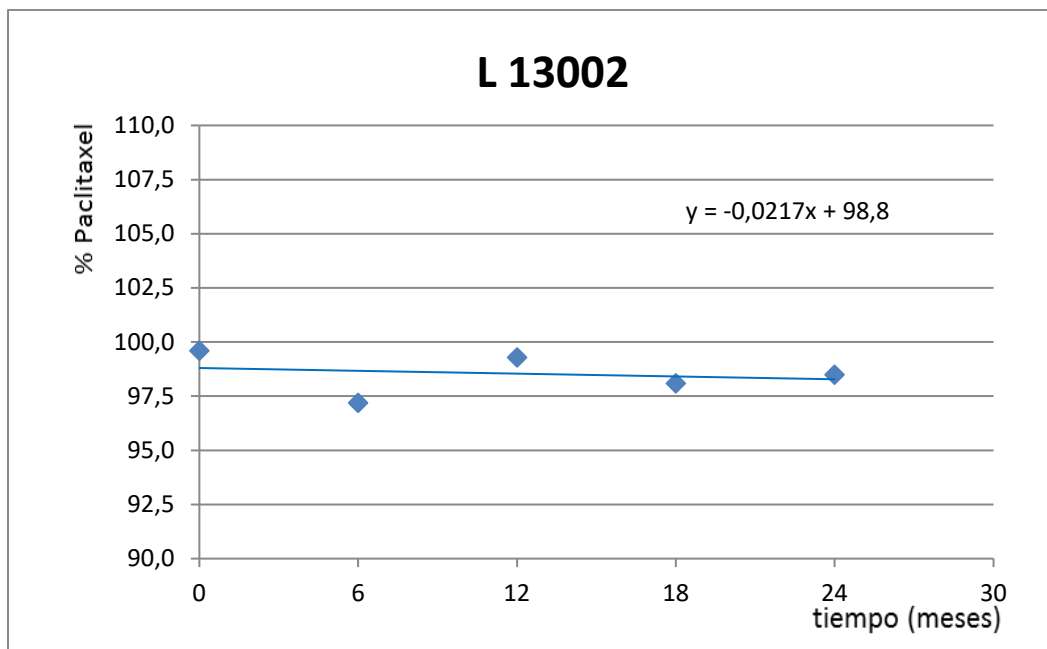
A continuación, se presentan los resultados de Valoración de 3 lotes de Paclitaxel 30 mg inyectable Biotechno Pharma.

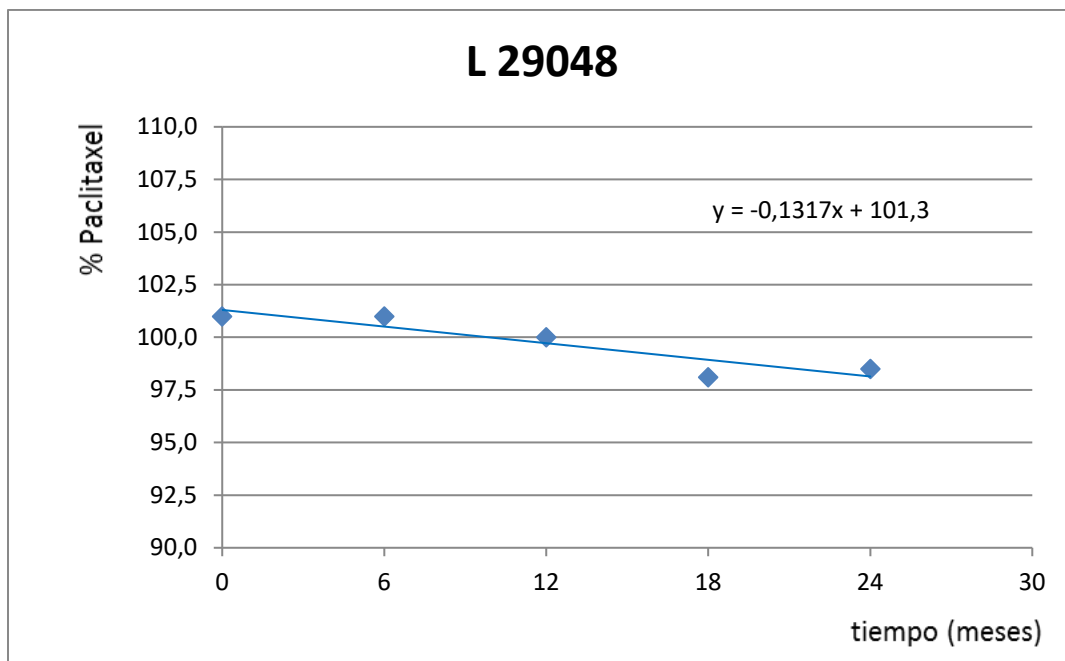
LOTE: 13002	Tiempo	0	6	12	18	24
Valoración	x1	99.5	98.3	100.2	99.8	97.9
	x2	99.8	96.5	97.6	97.6	98.5
	x3	99.5	96.8	100.1	96.9	99.1
	Promedio	99.6	97.2	99.3	98.1	98.5
	S	0.1	0.8	1.2	1.2	0.5

LOTE: 24036	Tiempo	0	6	12	18	24
Valoración	x1	100	102.1	99.8	99.3	101.5
	x2	99.8	104.3	99.9	99.5	99.9
	x3	100.2	102.6	100.3	99.2	99.5
	Promedio	100.0	103.0	100.0	99.2	100.3
	S	0.2	1.2	0.3	0.0	0.9

LOTE: 29048	Tiempo	0	6	12	18	24
Valoración	x1	100.7	102.1	99.9	98.3	98.7
	x2	101.8	101.4	99.9	98.3	98.4
	x3	100.5	99.5	100.2	97.7	98.4
	Promedio	101.0	101.0	100.0	98.1	98.5
	S	0.6	1.1	0.1	0.3	0.1

Se asume que la cinética de degradación es lineal. Se grafican entonces los datos de valoración en función del tiempo:





Aparentemente, para los tres lotes, las rectas de regresión parecen no tener, o tener poca variabilidad en el tiempo y poca variación entre los datos obtenidos y los estimados por la recta de regresión. Lo que se pretende verificar es la existencia (o falta de la misma) de “cambio en el tiempo” y “variabilidad” de los resultados en los distintos lotes, tal como lo solicita la guía ICH para establecer períodos de vencimiento.

8. Análisis de resultados

8.1 Cambios en el tiempo

Para verificar el cambio del título de paclitaxel en el tiempo, se evaluará si las pendientes son significativamente distintas de cero.

Se establece un test de hipótesis de acuerdo a lo siguiente:

Pendiente = 0 H_0 (Hipótesis nula)

Pendiente $\neq$ 0 H_1 (Hipótesis alternativa)

El nivel de significancia será $p = 0,25$

Para esto se calculará la magnitud de test dada por la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{X} - \mu_0}{S} \sqrt{n}$$

Donde: S está dada por $S_{y/x}$, es decir los residuos de Y en la recta de regresión lineal

Siendo S_{yx}

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right\}$$

Donde $\hat{y}_i$ son los puntos sobre la recta de regresión calculada, correspondientes a los valores individuales de x, es decir, los valores de y “ajustados”.

Como queremos demostrar que la pendiente no difiere de cero, consideramos $\mu_0=0$

Por lo que la ecuación para calcular test quedaría conformada de la siguiente manera:

$$t_{test} = \frac{m}{S_{x/y}} \sqrt{n}$$

Siendo m la pendiente calculada para la recta de regresión.

Se estudia este parámetro para cada uno de los lotes. Los resultados se presentan a continuación:

LOTE: 13002	0	6	12	18	24
X_i^2	0	36	144	324	576
Y_i	99.6	97.2	99.3	98.1	98.5
prom	98.5				
m	-0.0217				
b	98.8				
$\hat{y}$	98.8	98.7	98.5	98.4	98.3
$y_i - \hat{y}$	0.8	-1.5	0.8	-0.3	0.2
$(y_i - \hat{y})^2$	0.64	2.1609	0.5776	0.0961	0.0484
$\sum (y_i - \hat{y})^2$	3.52				
$S_{x/y}$	1.08				
ttest	0.04				
ttab (0.75)	0.36				

LOTE: 24036	0	6	12	18	24
χ^2	0	36	144	324	576
Y_i	100.0	103.0	100.0	99.2	100.3
prom	100.5				
m	-0.0533				
b	101.14				
$\hat{y}$	101.1	100.8	100.5	100.2	99.9
$y_i - \hat{y}$	-1.1	2.2	-0.5	-1.0	0.4
$(y_i - \hat{y})^2$	1.2996	4.7524	0.25	0.9604	0.1936
$\Sigma (y_i - \hat{y})^2$	7.46				
S_x/y	1.58				
ttest	0.08				
ttab (0.75)	0.36				

LOTE: 29048	0	6	12	18	24
χ^2	0	36	144	324	576
Y_i	101.0	101.0	100.0	98.1	98.5
prom	99.7				
m	-0.1317				
b	101.3				
$\hat{y}$	101.3	100.5	99.7	98.9	98.1
$y_i - \hat{y}$	-0.3	0.5	0.3	-0.8	0.4
$(y_i - \hat{y})^2$	0.09	0.2401	0.0784	0.6889	0.1296
$\Sigma (y_i - \hat{y})^2$	1.23				
S_x/y	0.64				
ttest	0.46				
ttab (0.75)	0.36				

Como primera observación, podemos decir que del análisis de residuos, se considera válido el modelo lineal utilizado.

De acuerdo a estos resultados observamos que para los lotes 13002 y 24036 el t_{test} demostró ser menor que el t_{tab} , por lo cual no se rechaza la hipótesis nula, con una probabilidad del 25% de rechazarla siendo la misma verdadera. Podemos asumir entonces que **las pendientes de estos lotes no difieren significativamente de cero**, es decir, que **no hay cambios significativos** en la concentración de la droga durante los 24 meses estudiados.

Sin embargo para el lote 29048 no puede afirmarse lo mismo ya que el t_{test} es mayor que el t_{tab} , por lo que no puede asegurarse que la pendiente tenga poca o ninguna variabilidad, es decir que no sea significativamente distinta de cero. Dicho de otra manera, se asume entonces que el lote 29048 presenta un **cambio significativo en el tiempo**.

8.2 Variabilidad de datos

Para evaluar si existe **variabilidad** en los datos de valoración de cada lote, se verifica la dispersión de los datos en cada estudio. Esta dispersión puede evaluarse mediante el parámetro $S_{y/x}$ calculado anteriormente. Sin embargo, se desea relativizar este valor a los valores de tolerancia especificados para el producto, ya que el valor de dispersión por sí solo no nos habla de la capacidad de arrojar resultados adecuados si no conocemos el intervalo en el cual podemos aceptar los mismos.

Ésta se evaluará mediante el índice de Capacidad C_{pk} . concepto que se tomó prestado del campo de la estadística de control de procesos.

Como se trata de un estudio de valoración, es de esperar que el título de la droga decaiga con el tiempo por degradación, por lo que se evaluará el C_{pL} o índice de capacidad inferior.

El valor de aceptación para Paclitaxel según la Farmacopea Estadounidense (USP) se encuentra entre el 90% - 110% de la concentración declarada.

Donde:

$$C_{pI} = \frac{LI - \mu}{3 \times S_{y/x}}$$

Siendo

C_{pI} : Índice de capacidad inferior

LI: el límite de tolerancia inferior

μ : la media de resultados

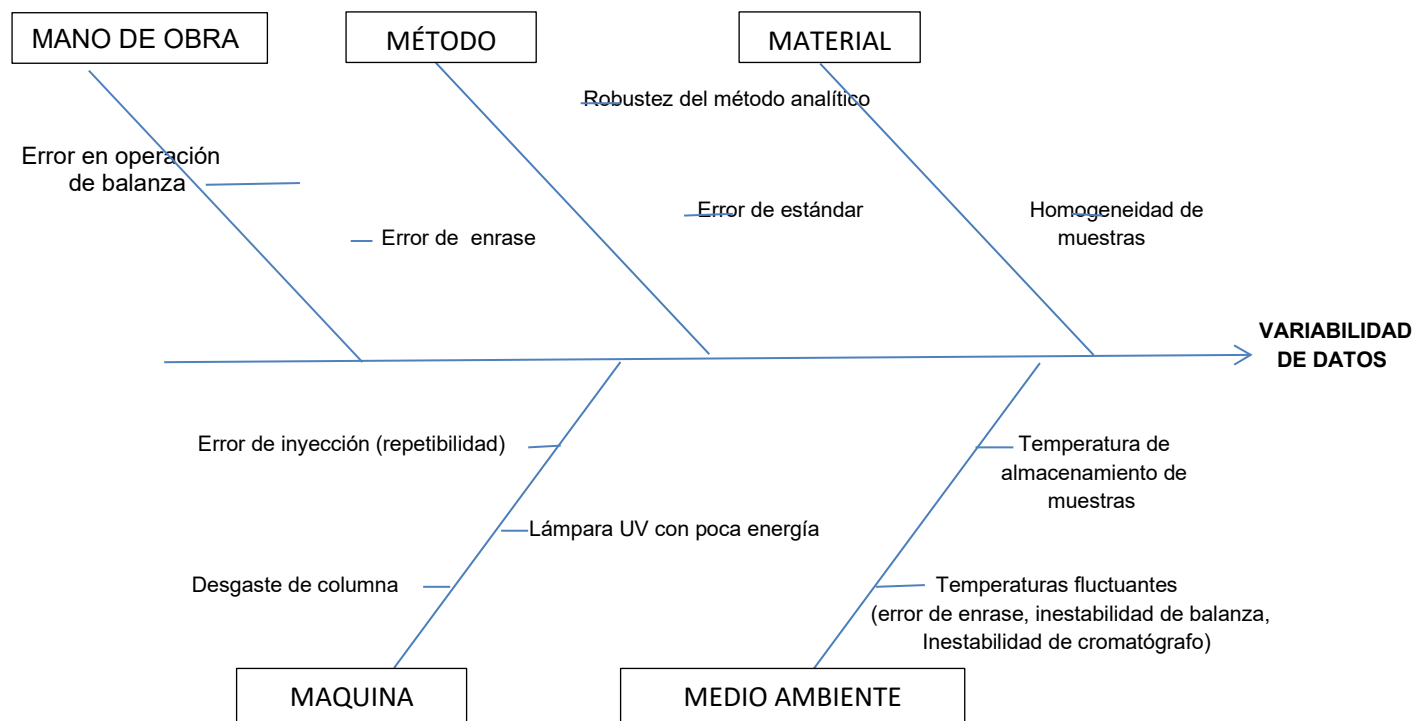
$S_{x/y}$: residuos de y en la recta de regresión lineal

Lote: 13002		Lote: 24036		Lote: 29048	
prom	98.5	prom	100.5	prom	99.7
$S_{x/y}$	1.08	$S_{x/y}$	1.58	$S_{x/y}$	0.64
Cpi	2.63	Cpi	2.22	Cpi	5.07

Dado que el criterio sugerido de aceptación es un valor límite de C_p de 2,5, se observa que para el lote 24063 el C_{pi} es menor a 2,5, por lo que **la variabilidad de los datos sería inaceptable**.

Para analizar esta variabilidad se procedió a desarrollar un Diagrama de causa-efecto o Diagrama de Ishikawa, el cual fue confeccionado por el equipo de trabajo mediante un Brain Storming realizado a tal fin.

El diagrama obtenido se presenta a continuación:



Se analizaron las distintas variables, se descartaron las que se pudo evidenciar que eran inaplicables, como por ejemplo, la lámpara UV del cromatógrafo, ya que la verificación previa y posterior indicaron que la lámpara de deuterio contaba con la suficiente energía. Se verificó el perfil térmico de las cámaras de estabilidad realizados durante la calificación anual de las mismas, las cuales se encontraban dentro de parámetros normales, y los registros no presentan ninguna evidencia de anomalía. Otras variables como la temperatura del ambiente no pudieron ser descartadas ya que no se cuenta con registros de temperatura de los locales donde se trabaja, si bien los mismos se encuentran regulados a una temperatura aproximada de 23°C durante todo el año.

Finalmente se decidió trabajar sobre dos variables que se consideraron que podrían aportar una solución al caso.

La primera de estas variables fue el error del operador en la pesada. Para minimizar el mismo, se duplicó la pesada a realizar en el estándar. Originalmente se pesaban 15 mg de Paclitaxel estándar y se llevaban a 25 ml en matraz aforado con solvente de dilución. Se decide cambiar la pesada a 30 mg y llevarlos a 50 ml con el mismo solvente a fin de minimizar el error relativo de las mismas.

Por otra parte se decidió analizar las distintas variables que pueden hacer a la robustez de la técnica, ya que se observó en los cromatogramas una diferencia de performance de lote a lote, evidenciándose particularmente en el factor de tailing de los picos. La diferencia en

este parámetro puede influir en la manera de integrar los picos y pudiendo incidir de esta forma en el resultado.

Para esto se realizó un desafío de la técnica mediante un diseño factorial de experimentos de la forma 2^k , donde los parámetros a variar serán la concentración de la fase orgánica, la concentración de ácido acético en el diluyente y la temperatura de la columna.

Nro	Causas de variación			Interacciones				Tailing	valoración	
	A	B	C	AB	AC	BC	ABC		Título	S_i^2
1	-	-	-	+	+	+	-	1,8	98,3	3,09
2	+	-	-	-	-	+	+	1,7	98,2	1,04
3	-	+	-	-	+	-	+	1,6	99,5	0,07
4	+	+	-	+	-	-	-	1,5	99,5	1,12
5	-	-	+	+	-	-	+	1,4	99,6	0,05
6	+	-	+	-	+	-	-	1,3	99,9	1,00
7	-	+	+	-	-	+	-	1,3	100,0	0,83
8	+	+	+	+	+	+	+	1,3	99,3	0,02

Donde se definieron los siguientes factores de variación que se analizarán en los siguientes rangos:

A: Concentración de la fase orgánica: proporción agua: acetonitrilo.

Normal: (11:9)

+ (10:10)

- (12:8)

B: Concentración de ácido acético en el diluyente

Normal: 200 μ l AcH / 500 ml metanol

+ 220 μ l / 500 ml

-180 μ l / 500 ml

C: Temperatura de la columna

Normal: 25°C

+ 30°C

-25°C

Analizando los resultados para el factor de tailing tenemos:

$$Y(A) = \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_4 + \hat{y}_6 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_3 + \hat{y}_5 + \hat{y}_7}{4} = -0,08$$

$$Y(B) = \frac{\hat{y}_3 + \hat{y}_4 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_5 + \hat{y}_6}{4} = -0,125$$

$$Y(C) = \frac{\hat{y}_5 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_4}{4} = -0,325$$

$$Y(AB) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7}{4} = 0,025$$

$$Y(AC) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_3 + \hat{y}_6 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_7}{4} = 0,025$$

$$Y(BC) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_3 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_6}{4} = 0,075$$

$$Y(ABC) = \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_5 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_4 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7}{4} = 0,025$$

Estos resultados estarían indicando que la temperatura de la columna juega un papel preponderante en el factor de tailing del pico de Paclitaxel y en menor medida podría influir la concentración de ácido acético en el diluyente.

Analizando los resultados para el título tenemos:

$$Y(A) = \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_4 + \hat{y}_6 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_3 + \hat{y}_5 + \hat{y}_7}{4} = -0,125$$

$$Y(B) = \frac{\hat{y}_3 + \hat{y}_4 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_5 + \hat{y}_6}{4} = 0,575$$

$$Y(C) = \frac{\hat{y}_5 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_4}{4} = 0,825$$

$$Y(AB) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7}{4} = -0,225$$

$$Y(AC) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_3 + \hat{y}_6 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_7}{4} = -0,075$$

$$Y(BC) = \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_7 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_3 + \hat{y}_4 + \hat{y}_5 + \hat{y}_6}{4} = -0,675$$

$$Y(ABC) = \frac{\hat{y}_2 + \hat{y}_3 + \hat{y}_5 + \hat{y}_8}{4} - \frac{\hat{y}_1 + \hat{y}_4 + \hat{y}_6 + \hat{y}_7}{4} = -0,275$$

Estos resultados indicarían de igual forma que la temperatura de la columna juega un papel importante en la cuantificación del principio activo y en menor medida la concentración de ácido acético en el solvente de dilución.

A partir de estos resultados se decidió controlar el pH del diluyente previo a su utilización. Por otra parte, la temperatura de la columna se elevó a 30°C ya que se demostró que de esta forma se obtienen picos más delgados y con menor tailing.

8.3 Determinación del período de vida útil

Se analiza lote a lote el tiempo en el que la curva de intervalo de confianza al 95% intercepta el valor inferior de tolerancia (90% en nuestro caso) para evaluar una posible extensión de vencimiento a futuro.

Para graficar el intervalo de confianza inferior (que será el intervalo crítico, por degradación de la droga), se calcula en primer lugar la recta de regresión estimada según

$$\hat{Y}_0 = b_0 + b_1 X_0$$

Donde

$\hat{Y}_0$: es el valor ajustado de Y

b_0 : intercepto estimado

b_1 : pendiente estimada

Luego se calcula el intervalo de confianza según:

$$(b_0 + b_1 X_0) \pm t_{n-2; 1-\alpha/2} \sqrt{\hat{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$$

Donde

$$\hat{D}^2(\hat{Y}_0) = S^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{X})^2}{\sum X_t^2 - n\bar{X}^2} \right]$$

De acuerdo a los resultados disponibles, se extrapola los resultados esperados a 48 meses:

Tabla 1: L 13002

LOTE: 13002	0	6	12	18	24	30	36	40	48
Valores reales	99.6	97.2	99.3	98.1	98.5				
Valores ajustados (Y0)	98.8	98.7	98.5	98.4	98.3	98.2	98.0	97.9	97.8
$\bar{X}$	12.00								
m	-0.022								
Ordenada en el origen	98.80								
n	5.00								
Sy/x	1.08								
Sy/x ²	1.17								
Xt2	0.00	36.00	144.00	324.00	576.00	900.00	1296.00	1600.00	2304.00
Xt ² - nX ²	-720	-684	-576	-396	-144	180	576	880	1584
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	-2520								
$\Sigma Xt2$	1080								
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	360								
(X0-X) ²	144	36	0	36	144	324	576	784	1296
$\hat{D}^2(\hat{Y}_0) = S^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{X})^2}{\sum X_t^2 - n\bar{X}^2} \right]$	0.705	0.352	0.235	0.352	0.705	1.292	2.114	2.792	4.462
$\sqrt{\hat{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	1.371	1.236	1.187	1.236	1.371	1.570	1.813	1.992	2.374
$t_{n-2; 1-\alpha/2}$	3.18								
$(b_0 + b_1 X_0) - t_{n-2; 1-\alpha/2} \sqrt{\hat{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	94.4	94.7	94.8	94.5	93.9	93.2	92.3	91.6	90.2

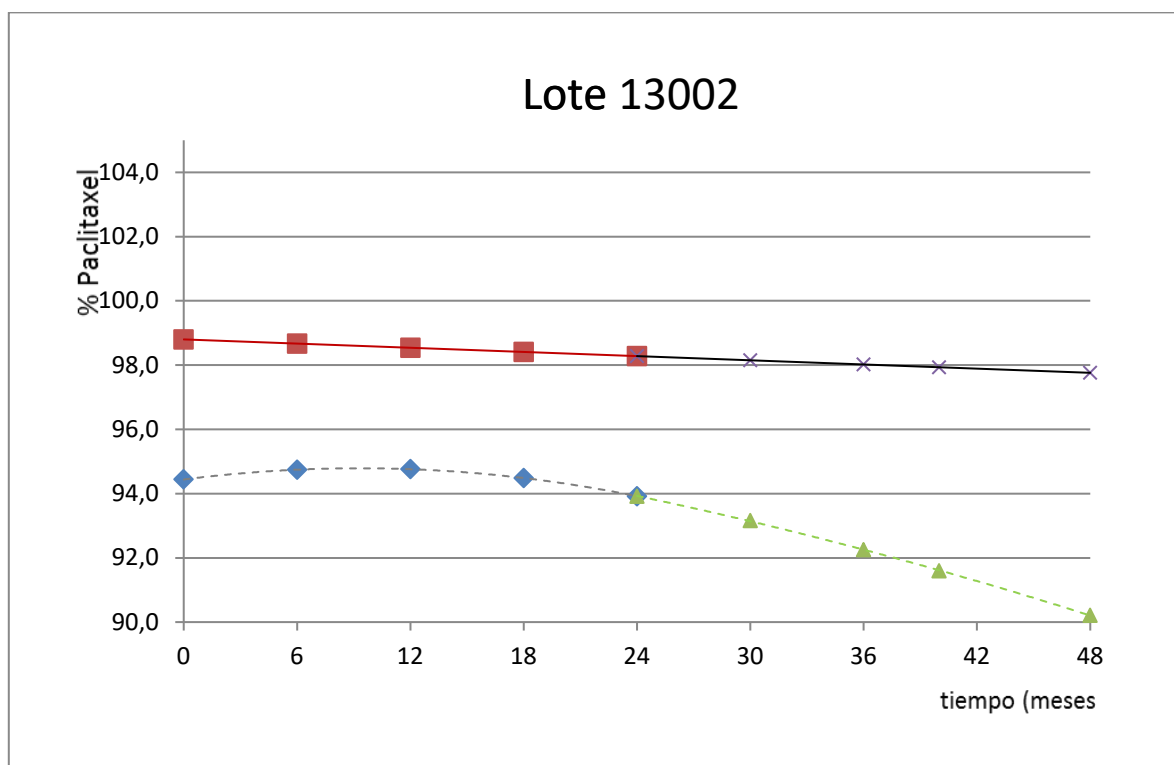


Tabla 2: Lote 24036

LOTE: 24036	0	6	12	18	24	30	36	40	48
Valores reales	100.0	103.0	100.0	101.0	100.3				
Valores ajustados (Y0)	101.1	101.0	100.9	100.7	100.6	100.4	100.3	100.2	100.0
$\bar{X}$	12.00								
m	-0.023								
Ordenada en el origen	101.14								
n	5.00								
Sy/x	1.58								
Sy/x ²	2.49								
Xt2	0.00	36.00	144.00	324.00	576.00	900.00	1296.00	1600.00	2304.00
Xt ² - nX ²	-720	-684	-576	-396	-144	180	576	880	1584
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	-2520								
ΣX_t2	1080								
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	360								
(X0-X) ²	144	36	0	36	144	324	576	784	1296
$\bar{D}^2(\hat{Y}_0) = S^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{X})^2}{\sum X_t^2 - n\bar{X}^2} \right]$	1.491	0.746	0.497	0.746	1.491	2.734	4.474	5.910	9.444
$\sqrt{\bar{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	1.994	1.797	1.727	1.797	1.994	2.285	2.638	2.897	3.454
$t_{n-2;1-\alpha/2}$	3.18								
$(b_0 + b_1X_0) - t_{n-2;1-\alpha/2} \sqrt{\bar{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	94.8	95.3	95.4	95.0	94.2	93.2	91.9	91.0	89.0

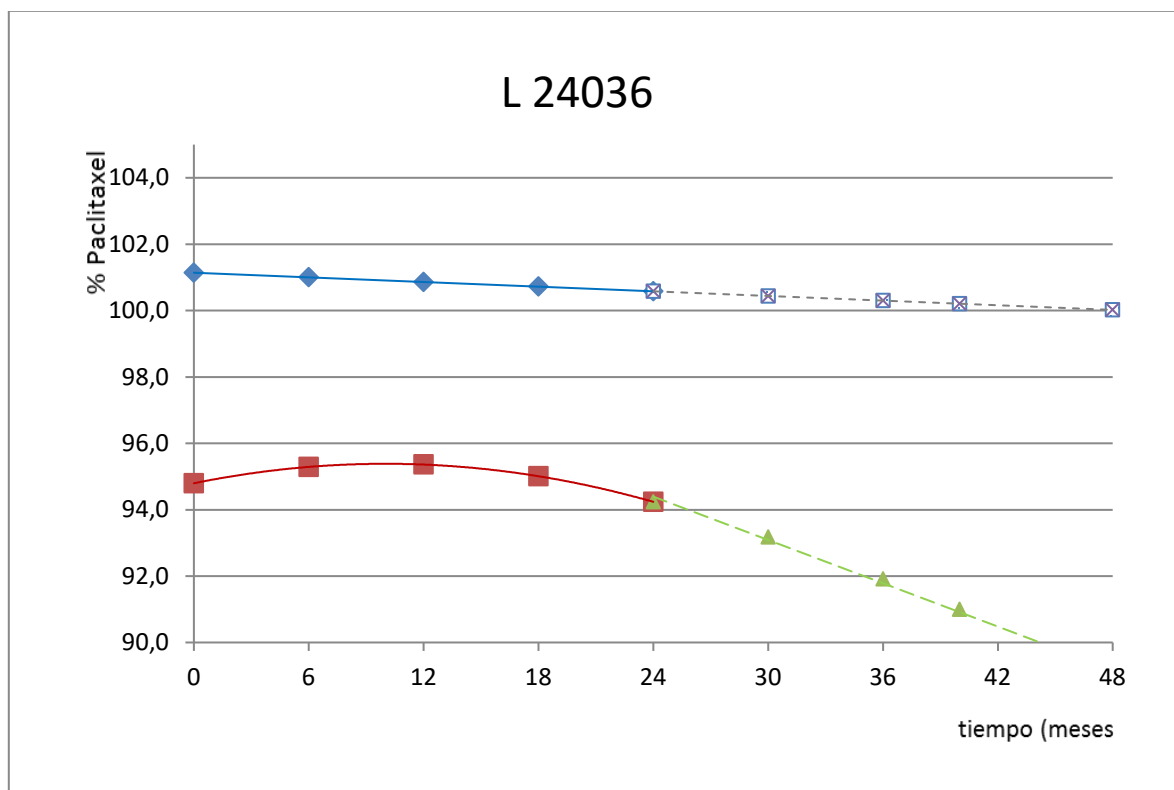
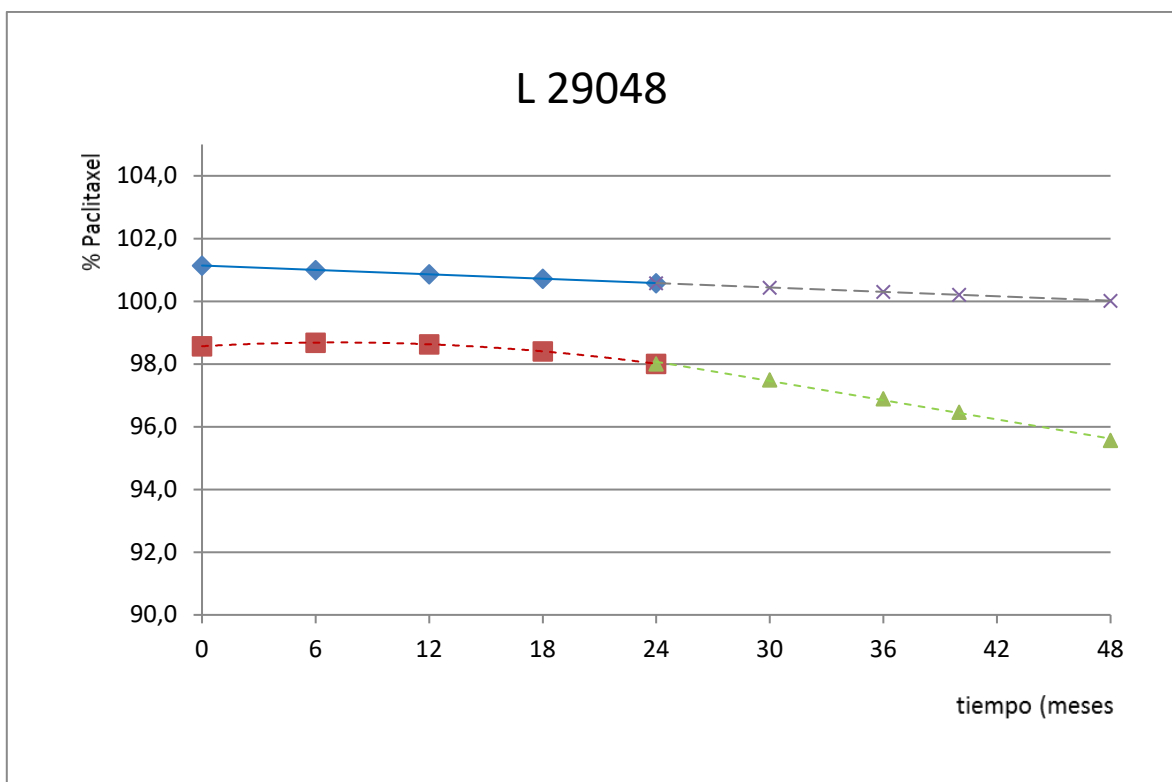


Tabla 3: Lote 29048

LOTE: 29048	0	6	12	18	24	30	36	40	48
Valores reales	100.2	100.4	99.8	99.1	99.1				
Valores ajustados (Y0)	101.1	101.0	100.9	100.7	100.6	100.4	100.3	100.2	100.0
$\bar{X}$	12.00								
m	-0.059								
Ordenada en el origen	100.41								
n	5.00								
Sy/x	0.64								
Sy/x ²	0.41								
Xt2	0.00	36.00	144.00	324.00	576.00	900.00	1296.00	1600.00	2304.00
Xt ² - nX ²	-720	-684	-576	-396	-144	180	576	880	1584
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	-2520								
$\Sigma Xt2$	1080								
$\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2$	360								
$(X_0 - \bar{X})^2$	144	36	0	36	144	324	576	784	1296
$\bar{D}^2(\hat{Y}_0) = S^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{X})^2}{\Sigma X_t^2 - n\bar{X}^2} \right]$	0.245	0.123	0.082	0.123	0.245	0.450	0.736	0.973	1.554
$\sqrt{\bar{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	0.809	0.729	0.701	0.729	0.809	0.927	1.070	1.175	1.401
$t_{n-2; 1-\alpha/2}$	3.18								
$(b_0 + b_1 X_0) - t_{n-2; 1-\alpha/2} \sqrt{\bar{D}^2(\hat{Y}_0) + S^2}$	98.6	98.7	98.6	98.4	98.0	97.5	96.9	96.5	95.6



En los 3 casos se observa que el título de Paclitaxel es mayor al 90% a los 36 meses, que es el tiempo máximo de período de vida útil que acepta la ANMAT.

A pesar de que el lote 29048 demostró tener un cambio significativo en el tiempo (demostrado en el punto 8.1), el peor caso corresponde al lote 24036. Esto se debió a la variabilidad de los resultados obtenidos en el mismo. De aquí la importancia de mejorar la técnica analítica para los estudios futuros.

Para el peor caso (lote 24036) a los 36 meses, el porcentaje de Paclitaxel en la muestra se estima en aproximadamente un 92%.

Esta evaluación deberá realizarse sobre otros parámetros del producto, como por ejemplo el desarrollo de productos de degradación antes de tomar una decisión.

9. Conclusión

Se estableció un método para analizar el “cambio en el tiempo” de datos de estabilidad. Para ello se realizó un test de hipótesis considerando que los resultados siguen una distribución normal, y estableciendo un valor de significancia $p=0,25$. Pudo concluirse de esta manera que no existe, o es mínimo el cambio en el tiempo para 2 de los lotes de Paclitaxel estudiados, ya que las pendientes no difieren significativamente de cero. Para un tercer lote, la variación no pudo considerarse despreciable.

Se graficaron los intervalos de confianza inferiores para los 3 lotes y se pudo corroborar que el producto mantiene la concentración dentro de especificaciones a los 36 meses, aún en el peor caso. Se estudiarán de la misma manera otras variables, como el aumento de productos de degradación, antes de decidir si corresponde realizar una solicitud de extensión de vencimiento.

Por otra parte se estableció un método sencillo para evaluar la variabilidad de los resultados obtenidos. Para ello se calcula el índice de Capacidad (Cp_k), el cual se considera aceptable si adquiere un valor mayor a 2,5. Mediante del índice de Capacidad Cp_{min} , se comprobó que uno de los tres lotes estudiados tenía una alta variabilidad entre resultados. Esto se verificó posteriormente mediante el intervalo de confianza que resultó ser el mayor de los 3 lotes.

Se decidió entonces estudiar las causas de variación de los resultados en las muestras y se propuso realizar un par de cambios en la técnica analítica, que implican el aumento de la temperatura de la columna a 30°C y el control del pH del diluyente utilizado en las muestras. El aumento de la temperatura de la columna se había considerado oportunamente en el ensayo de robustez de la técnica analítica y el control del pH del diluyente no implica un cambio en sí, por lo que no se considera necesario una revalidación de la técnica, ya que se continúa trabajando dentro del “espacio de diseño” de la misma. Se realizará un seguimiento de los próximos estudios de estabilidad para verificar si estos cambios mejoran efectivamente la técnica utilizada.

Este tipo de estudio demostró ser útil para realizar un control de las metodologías analíticas cromatográficas a través del tiempo, ya que si bien las mismas se controlan usualmente con parámetros típicos de las corridas cromatográficas (número de platos teóricos, factor de tailing, etc), este tipo de registro se realiza para tener un control sobre la performance de las columnas cromatográficas y no da mayor información sobre la metodología en sí.

La recopilación de datos de estabilidad en los laboratorios, además de ser una herramienta de control de la calidad de los productos, puede convertirse en una herramienta de revisión de la calidad de las técnicas analíticas en uso. Mediante el procedimiento aquí descripto se pretende aplicar un ciclo de mejora continua a las técnicas analíticas de la empresa a través de la evaluación del Cpk .

10. Bibliografía

Guía ICH Q1A(R2) Stability Testing of new drugs substances and products.

Statistical Evaluation of Stability Data: Criteria for Change-over-time and Data Variability

Roberto Mariano García. Inferencia Estadística y Diseño de Experimentos. Editorial Universitaria de Buenos Aires (2004) 267-268.