



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**Método Analítico para determinar
la liberación de Progesterona con un
sistema Terapéutico Intrauterino Anti-
conceptivo de liberación controlada para
Tres Años**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

MA. DE LOURDES RIVERA VILLEGAS

DIR. DE LA TESIS: Q.F.I. JUAN JOSE DIAZ ESQUIVEL

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

SECCION	PAGINA
1. OBJETIVO.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	18
4. DESARROLLO DEL EXPERIMENTO.....	19
5. RESULTADOS.....	27
6. DISCUSION DE RESULTADOS.....	52
7. CONCLUSIONES.....	64
8. RESUMEN.....	66
9. BIBLIOGRAFIA.....	67

OBJETIVO

El objetivo de la presente tesis es hacer un estudio comparativo de los diferentes métodos desarrollados para determinar la velocidad de liberación de un sistema de liberación controlada (Dispositivo Intrauterino con progesterona) y un método desarrollado a nivel laboratorio, -- sin la sofisticación del equipo industrial y que además se necesita para estas pruebas; con éste método se determinó la velocidad de liberación de la progesterona del dispositivo intrauterino para poder simplificar de una manera eficaz el trabajo en la Industria Farmacéutica, operando como un método de control de calidad de estos dispositivos sin tener que tomar muestras de los dispositivos colocados "in situ", es decir, en la matriz de mujeres a las que se les implantó el dispositivo intrauterino, el cual se retira pasado un cierto tiempo (meses, según el protocolo del proyecto) para valorar la progesterona residual.

Calculando la velocidad de liberación de la progesterona "in vitro" se puede hacer una extrapolación del parámetro de velocidad de liberación para cuando el dispositivo sea colocado intrauterinamente en la mujer, y conocer de ésta manera, la cantidad de progesterona liberada con exactitud al cabo de los tres años que debe durar el sistema para que tenga una acción anticonceptiva eficaz.

INTRODUCCION

En los últimos años se han desarrollado nuevos sistemas con miras a la contracepción, tales como: Inmovilización de los espermatozoides - in vitro con hidroxipropilmetilcelulosa (15), administración de progestágenos a bajas dosis (16, 17), administración de progestinas a nivel del endometrio humano (31), Implantación de estradiol puro para el control de la concepción en forma de pellets (11). Este tipo de sustancias también se han utilizado como tratamiento de la menopausia (12).

Este intenso desarrollo de métodos anticonceptivos ha sido necesario debido a los graves efectos secundarios indeseables de los sistemas ya conocidos, como son: anticonceptivos orales, anticonceptivos inyectables, óvulos, espumas y sustancias espermaticidas, cuyos efectos secundarios van desde fatiga, cefaleas, acné, disminución del flujo menstrual, aumento de peso, náuseas, mareos, vómito, hasta efectos más graves como cambios en la función hepática, desórdenes de la coagulación sanguínea (tromboflebitis y embolias), cambios en los niveles de glucosa sanguínea, aumentos de la unión de hormonas a proteínas plasmáticas (6, 9), o efectos que implican el uso del dispositivo de cobre (malformaciones congénitas) reportados en la bibliografía (4), además de provocar en ocasiones reacciones severas y problemas en la piel (21).

Otros factores que han influido en el fracaso de los anticonceptivos y según estudios realizados en Estados Unidos son: la edad, la educación, la raza y hasta la religión (26).

Hay que mencionar también que una de las deficiencias más grandes es la falta de información de los pacientes que van a utilizar determinado método anticonceptivo. Son muy necesarios los folletos de informa-

ción para que las usuarias puedan conocer a fondo las características del sistema que desean emplear (5).

En cuanto a las desventajas de los anticonceptivos intrauterinos - podemos decir que, aparte de las contraindicaciones comunes, los anticonceptivos no hormonales están contraindicados en casos de dismenorrea e hipermenorrea, la presencia de sangrados intermenstruales, además que el comportamiento clínico tiende a desmejorar con el tiempo de uso (18).

Por todo lo anterior, se desarrolló un nuevo sistema anticonceptivo intrauterino, que no tuviera las desventajas de todos los demás anticonceptivos intrauterinos o de otro tipo, y que cumpliera además los requisitos indispensables para este tipo de sistemas:

1. El dispositivo debe ser insertado fácilmente y sin dolor en la cavidad uterina, y debe adaptarse a la configuración de la misma con una distorsión mínima del tejido.
2. Debe estar constituido por un material o materiales cuyas propiedades mecánicas, físicas y químicas minimicen la irritación local y no contengan sustancias que se liberen al medio y puedan tener una acción tóxica.
3. Debe ser diseñado de una manera que asegure que el fármaco liberado por el dispositivo lo hace con una velocidad constante y que se distribuye homogéneamente sobre la superficie endometrial.
4. Debe ser capaz de liberar el fármaco "in situ", sin que se vea influenciado por variables como son: la temperatura del cuerpo, la motilidad uterina y la composición del fluido uterino.
5. Debe contener la cantidad total adecuada del fármaco para asegurar que la vida media activa del sistema, sea predecible dentro de los -

límites establecidos, es decir la duración del dispositivo va a depender en este caso de la concentración del fármaco total que se encuentra dentro del sistema para poder asegurar que la cantidad liberada diariamente sea constante.

6. Su presencia en útero debe ser fácilmente detectable.
7. El fracaso del dispositivo "in situ" debe ser virtualmente imposible, y si ocurre un fracaso, no debe dejarse al azar.
8. Debe ser posible el manufacturarlo a gran escala con la seguridad de que sus características se reproduzcan de lote a lote, así como el que su comportamiento en el sistema biológico sea previsto.

Scomegna (28) estudió los efectos locales de la progesterona en el útero y vió que puede reducir la incidencia de expulsión del aparato y disminuir el volumen del sangrado provocado por los dispositivos inertes y sus observaciones sirvieron para llevar a cabo el nuevo dispositivo intrauterino liberador de progesterona, elaborado por Aiza Corporation, Inc. (3).

El sistema terapéutico intrauterino es un sistema liberador de fármaco por medio de una membrana. Una reserva central que contiene progesterona está encerrada en una membrana cilíndrica, a través de la cual la progesterona se va liberando a una velocidad de 65 mcg/día cuando se manufacturaba el dispositivo de un año, y de 30 mcg/día para el dispositivo que dura tres años, ya que se vió que la efectividad de éste último es comparable a la del primero, ya que no se necesita la cantidad programada en los primeros aparatos, sino sólo 5 mcg para obtener un efecto anticonceptivo eficaz. Los brazos transversales no contienen progesterona (1). (Ver figura 1).

Según Alza, la eficacia del sistema terapéutico es comparable a la de los anticonceptivos orales, pero elimina los riesgos de éstos (8,18).

Este sistema elaborado por Alza ha cumplido con todos los requisitos que deben de cumplir este tipo de sistemas y los cuales ya se han mencionado, además de que sus ventajas son las siguientes:

1. Elimina el uso de esteroides potentes.
2. Elimina la necesidad de estrógenos.
3. Disminuye los efectos secundarios ya que la acción es sólo en el útero y es rápidamente metabolizada.
4. Tiene una duración prolongada de tres años (32).

La administración de la progesterona por vía oral se popularizó en países avanzados y temieron que se presentaran efectos nocivos con la administración de la hormona por un tiempo prolongado. En la administración oral, el fármaco es distribuido a todo el organismo; en cambio en el útero, después de presentarse localmente su efecto, es rápidamente metabolizado y la posibilidad de que ocurran efectos nocivos posteriores es muy pequeña (14 y 18).

En México se han realizado estudios con este tipo de sistemas y se notó que las mujeres que utilizaron éste método lo hicieron con confianza un mayor tiempo, dado que en los primeros estudios sólo el 84.4% lo utilizaron todo el primer año, y después aumentó a un 94.3% el uso continuo del aparato durante tres años; éstas tasas de continuidad son mucho más altas que en cualquier parte del mundo (10).

Se ha visto que con este dispositivo Intrauterino, la incidencia del sangrado irregular disminuye con el uso (13), así como la disminución y mejoría de la hipermenorrea (3, 13, 18).

La forma de este sistema intrauterino con progesterona consiste en una "T" que sirve como plataforma para el módulo de liberación, el cual libera la hormona natural, la progesterona a dosis constantes y precisas durante tres años (30 mcg/día).

Es importante hacer notar el hecho de que el efecto anticonceptivo del sistema depende primordialmente de la hormona liberada y no del efecto que pueda tener la plataforma. Esto significa que la plataforma puede ser diseñada no específicamente con fines anticonceptivos, sino para ofrecer máxima protección retención y comodidad a la paciente.

Se eligió la forma "T" en base a los estudios descritos por Tatum (1972), los cuales indicaban el alto grado de retención de la "T" y la superioridad sobre los otros dispositivos al reducir al mínimo el dolor y el sangrado. La plataforma, en sí no proporciona un efecto anticonceptivo, de aquí que, aunque el sistema con progesterona es semejante a los demás dispositivos en cuanto a su colocación intrauterina, difiere básicamente en cuanto a su funcionamiento, ya que es esencialmente un método de anticoncepción esteroïdal con efectos locales de la hormona - (3).

Los componentes de este sistema son:

	DURACION	
	UN AÑO	TRES AÑOS
Progesterona U.S.P. (principio activo).....	39 mg	52 mg
Excipiente, c.b.p.	269 mg	283 mg

En cuanto a sus dimensiones, tenemos:

Diámetro recto externo	2.8 mm
Diámetro recto interno	2.3 mm
Diámetro de los brazos transversales	1.6 mm

Largo vertical	36.1 mm
Largo transversal	31.8 mm
Area de liberación	2.3 cm ²

Unidos a la base de la "T" se encuentran dos hilos, uno más largo que sostiene al sistema en su aplicador antes de insertarlo, y uno más corto que se extiende 9 cm desde la parte superior de la "T" y se usa para asegurarse de su correcta colocación. El médico puede medir el largo del hilo más corto que se extiende desde el cérvix cuando el sistema está "in situ". La sección vertical es suave para evitar que penetre hacia abajo en el tejido cervical.

El sistema y el aplicador viene en un empaque estéril. El aplicador está diseñado como un tubo curvo, muy semejante a un histerómetro. La ausencia del émbolo reduce al mínimo la posibilidad de perforación uterina durante la inserción. Los brazos horizontales de la "T" están colocados fuera del aplicador y se doblan hacia abajo por medio de un aditamento que hace que se flexionen inmediatamente antes de la inserción. El aplicador está graduado a 5, 6, 7, 8, 9 y 10 cm desde la base del plegador de brazos para indicar la profundidad de la inserción (3). (Ver figuras 1 y 2).

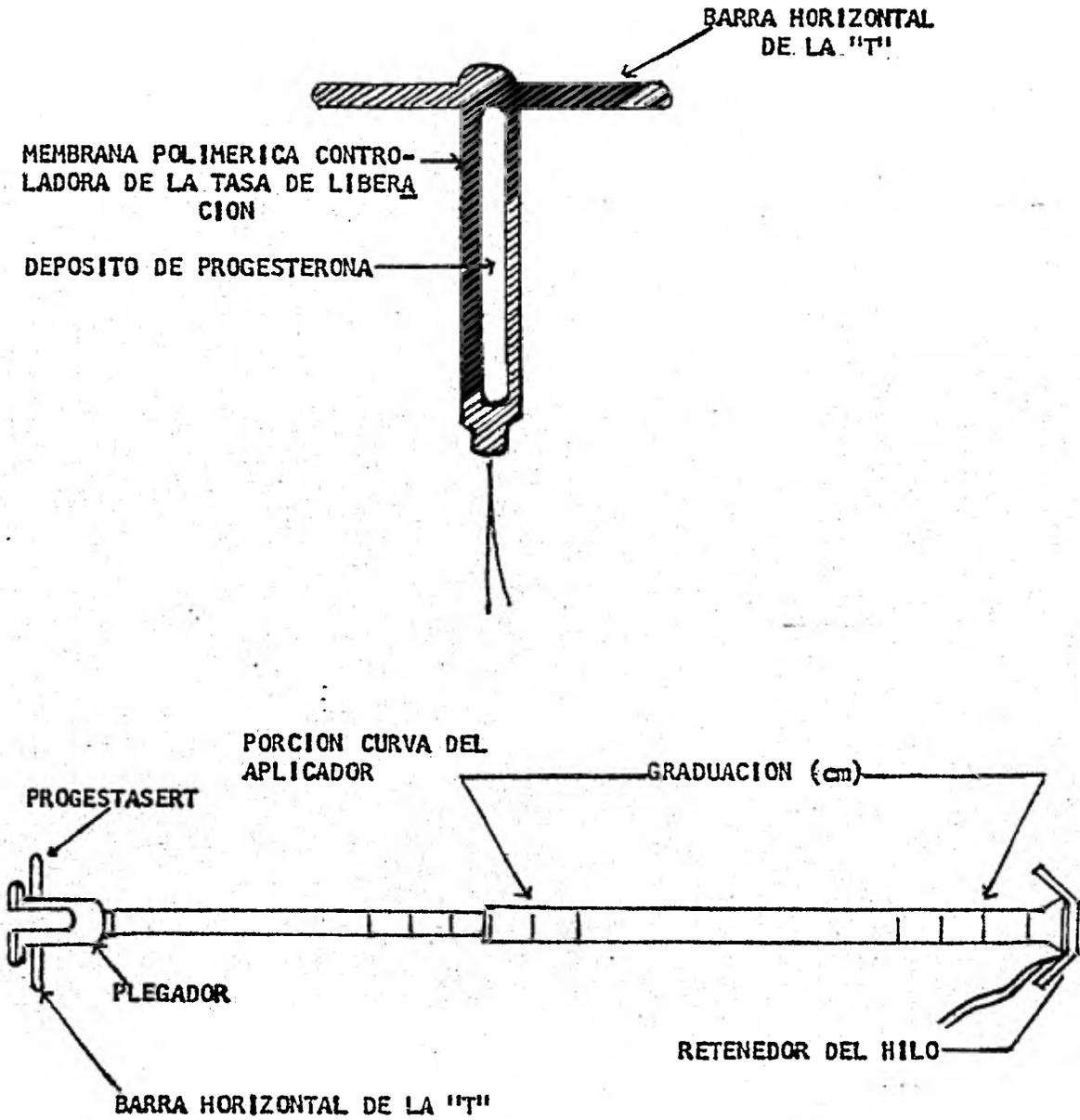


Figura No. 1.- Sistema Anticonceptivo Intrauterino con Progesterona y su Insertador.

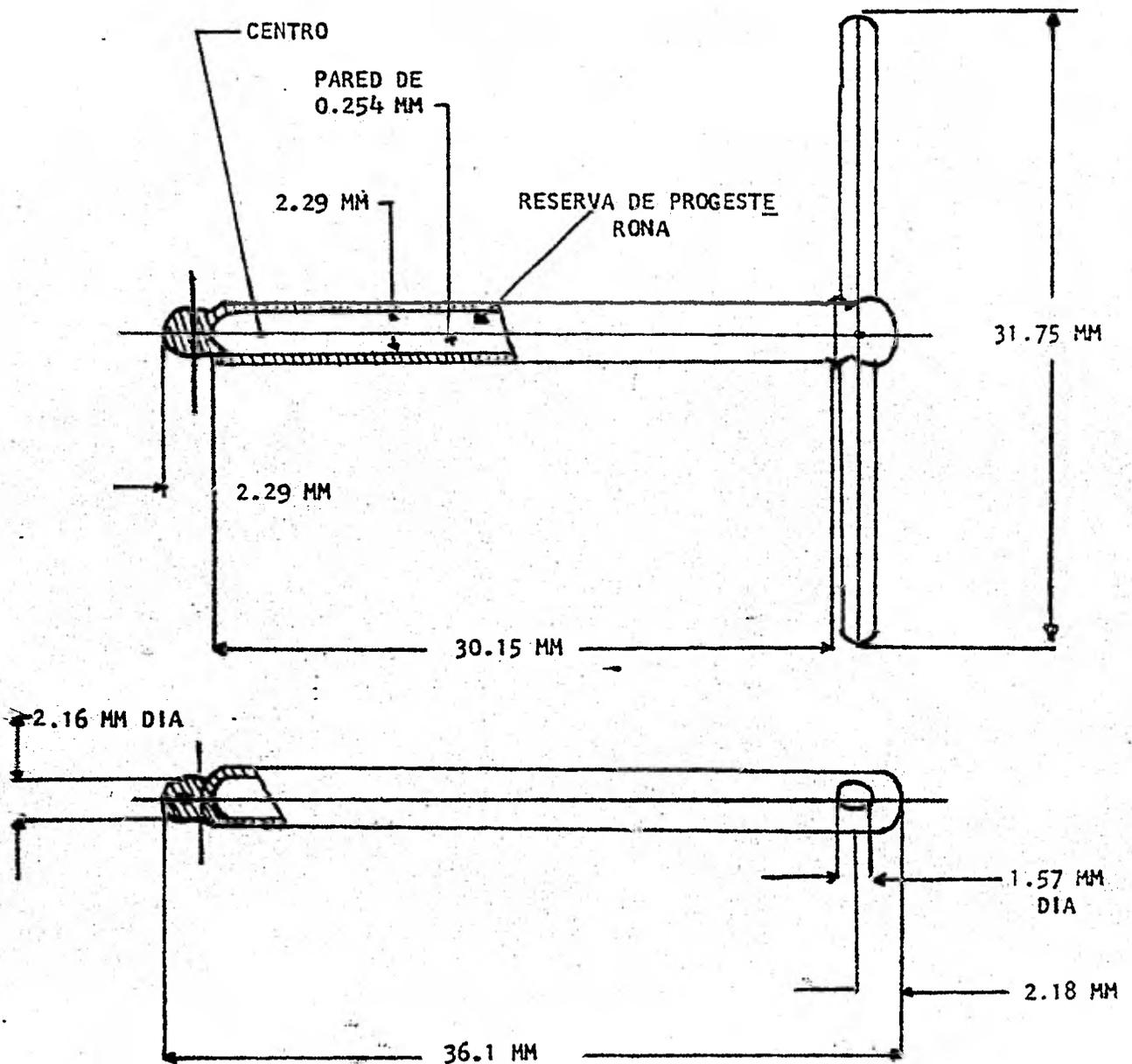


Figura No. 2. DIMENSIONES DEL SISTEMA TERAPEUTICO INTRAUTERINO DE PROGESTERONA. LIBERACION DE 30 MCG POR DIA DURANTE TRES AÑOS.

Se han llevado a cabo estudios y se ha visto que las pacientes jóvenes nulíparas tienen más del doble de posibilidades de expulsar el sistema de progesterona (12.3%), que las mujeres multíparas de más edad (2.3%), (2, 23). También se vió en estos estudios que la tasa de extracción o sangrado en Latinoamérica y en el Oriente es mucho más baja que en Europa, USA y Canadá (23). Sin embargo, no se sabe a ciencia cierta el porqué de esta diferencia.

Muchos estudios realizados de sangre y orina han demostrado que la hormona no tiene efecto sobre la ovulación y no produce efectos sistémicos, lo que también ha sido comprobado de las pruebas realizadas de hígado, riñón y de la función tiroidea y de los ensayos estándares hormonales.

Una de las mayores ventajas de este sistema, es que la fertilidad de la paciente se recupera muy pronto, después de que el sistema ha sido removido; se ha visto que el 75% de las mujeres recuperan su fertilidad dentro de los seis meses posteriores a su remoción.

Anteriormente, el sistema tenía que ser removido cada año, ya que sólo se fabricaba el de liberación de 65 mcg/día, por lo que su duración era sólo de 365 días; sin embargo, con el advenimiento del sistema intrauterino con duración de tres años, elimina esta molestia para la paciente, además de que el costo de producción ha descendido, ya que la cantidad de progesterona que se requiere para llevar a cabo la acción anticonceptiva es mucho muy pequeña, por lo que este sistema libera sólo 30 mcg diarios de progesterona (7).

TEORIA DEL SISTEMA.

La funcionabilidad del sistema intrauterino liberador de progesterona es doble:

- a. tiene la capacidad para liberar el compuesto activo, progesterona, - más allá del período de tiempo estipulado,
- b. tiene la capacidad para ser retenido en la cavidad uterina con una - biocompatibilidad aceptable.

Fisicoquímica de la membrana de difusión controlada conteniendo una reserva de fármaco: En el sistema intrauterino liberador de progesterona, la liberación del fármaco es controlada por una velocidad determinada, a la cual el fármaco se libera a través de una membrana de copolímero de etilén/vinil acetato.

La difusión a través de membranas poliméricas usualmente es independiente del medio ambiente externo, y las velocidades de difusión que se desean, se pueden conseguir variando el espesor o el área de la membrana.

El mecanismo por el cual la progesterona penetra la membrana polimérica se denomina SOLUCION-DIFUSION, en el cual, las especies que se difunden se disuelven en la membrana, como si lo hicieran en un líquido. La difusión neta de la progesterona a través de la membrana ocurre en dirección de un gradiente de concentración, tal y como sucede en los líquidos. La descripción general de la difusión se puede explicar con la ley de Fick:

$$J = - A \cdot D \frac{dc}{dx} \dots\dots\dots(1)$$

donde:

J es la velocidad de liberación en gm seg⁻¹

A es el área de la membrana en cm²

dc/dx es el gradiente de concentración en $gm.cm^2$

D es el coeficiente de difusión del fármaco en la membrana, expresado en $cm^2.seg^{-1}$

- El signo menos significa que la dirección del flujo es a favor de un gradiente de concentración.

Normalmente se asume que el fármaco an ambos lados de la membrana está en equilibrio con las respectivas superficies de la membrana. La concentración de fármaco dentro de la superficie de la membrana puede relacionarse a las concentraciones de fármaco en solución que se encuentran fuera de la superficie de la membrana por medio de las siguientes expresiones:

$$C_m(0) = KC' \text{ en la superficie } x = 0 \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$C_m(1) = K'C'' \text{ en la superficie } x = 1 \quad \dots\dots\dots(3)$$

donde:

C' y C'' son las concentraciones a ambos lados de la membrana, de espesor l , como se muestra en la figura 3.

x se refiere a cualquier distancia arbitraria a través del espesor de la membrana

K es llamado el coeficiente de distribución y es análogo al coeficiente de partición líquido-líquido. K se refiere al fluido de mezcla: equilibrio de membrana y K' se refiere a la membrana: equilibrio del fluido biológico.

En un caso ideal, el coeficiente de distribución y el coeficiente de difusión son constantes e independientes de la concentración. Por lo que podemos sustituir en la ecuación de Fick como sigue:

$$J = \frac{DA \cdot [C_m(0) - C_m(1)]}{l} = \frac{DA \Delta C_m}{l} \quad \dots\dots(4)$$

donde:

ΔC es la diferencia entre la concentración de fármaco en la membrana en las dos superficies.

De las ecuaciones (2) y (3), se deduce que:

$$J = \frac{DA}{l} \frac{K C^1 - K' C'^1}{1}$$

cuando C'^1 es baja, entonces $K' C'^1 = 0$, por lo que:

$$J = \frac{DAKC^1}{l} \dots\dots\dots(5)$$

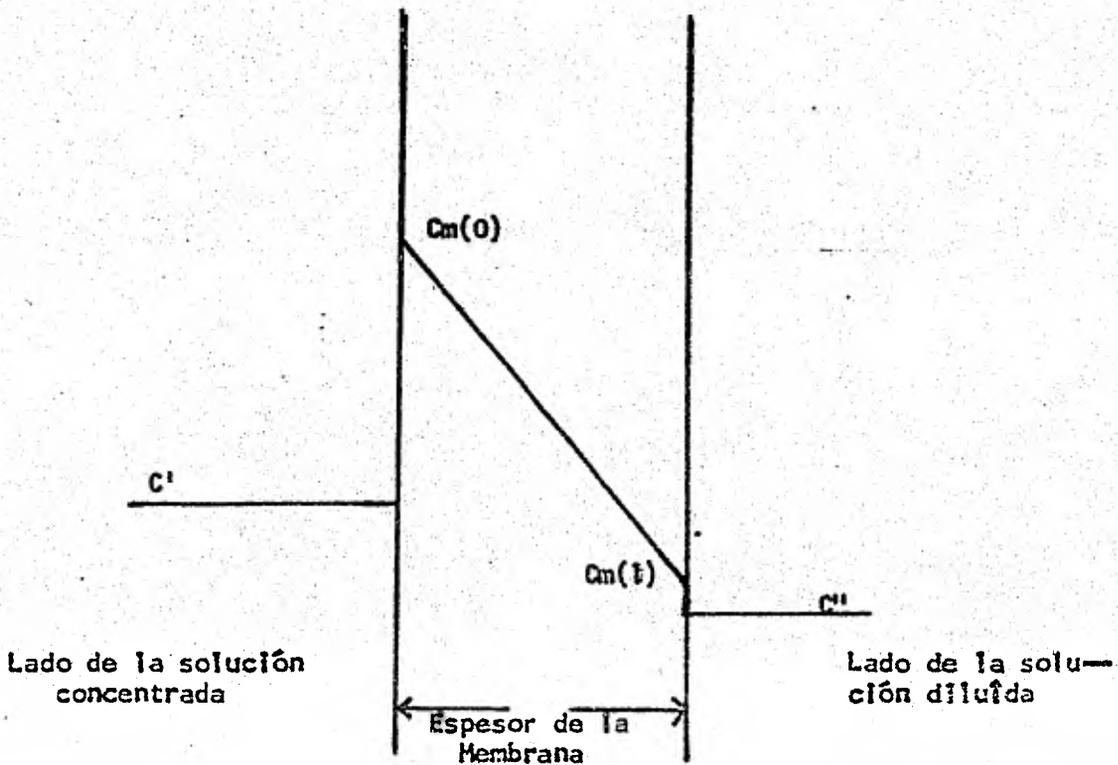


Figura No. 3. Esquema de la Concentración de Solutos en una Membrana de Solución - Difusión.

Ref. (1, 14)

Cuando el fármaco se encuentra en la película del polímero en solución, la concentración del fármaco disminuye conforme el tiempo pasa y muestra una cinética de primer orden.

Por otro lado, cuando el fármaco se encuentra suspendido en la solución, el decremento en la concentración del fármaco es compensado en un momento por la disolución del medicamento sólido. De esta manera, la concentración del fármaco se iguala al grado de disolución y permanece constante mostrando una cinética de orden cero (14).

Con excepción del primer período, cuando las condiciones no han alcanzado un estado de normalidad, la velocidad de liberación de la suspensión llega a ser constante bajo condiciones de temperatura constante y se puede mantener esa velocidad de liberación constante mientras el fármaco permanece en esas condiciones.

MECANISMO DE ACCIÓN.

En realidad no se sabe a ciencia cierta cuál es el verdadero mecanismo de acción de este tipo de dispositivos intrauterinos, aunque se han hecho muchas investigaciones y se han observado diferentes resultados, pero que son lo bastante coherentes como para postular cuatro mecanismos de acción que justifican el comportamiento de este sistema "in situ" y que son:

1. Uno de los mecanismos propuestos es el cambio hormonalmente inducido en el mucus cervical, que previene o inhibe el paso de la esperma en la vagina del útero.
2. Otro mecanismo es la prevención de la capacitación de los espermatozoides por alteración química del aerosoma.

Se sabe que la progesterona disminuye la toma de oxígeno de los es

permatozoides humanos, modificando al mismo tiempo el patrón de utilización de la glucosa. Por lo tanto, se puede decir que el dispositivo intrauterino interfiere en el metabolismo del espermatozoide y quizá en su capacitación, según los estudios hechos por Adolfo Rosado y col. (25).

3. La progesterona parece alterar el endometrio de manera que el metabolismo de los espermatozoides es inhibido por el medio ambiente hostil.
4. Finalmente, la progesterona provoca cambios en el revestimiento uterino de manera que impide la implantación del óvulo fecundado.

En los estudios que se han realizado, se ha determinado que sólo se requiere una pequeña cantidad liberada de forma constante de progesterona en el útero para obtener y mantener un efecto anticonceptivo. En este dispositivo que estamos estudiando, la cantidad de progesterona que se libera diariamente es de 30 mcg, ya que la reserva dentro del sistema intrauterino contiene un total de 52 mg de la hormona. Esta cantidad liberada es lo suficientemente efectiva para realizar su acción anticonceptiva con éxito, ya que hasta con sólo 5 mcg diarios se puede obtener una efectividad bastante alta (25). La cantidad adicional de progesterona preserva un gradiente de concentración suficientemente alto como para mantener una liberación constante. La cantidad total de progesterona que va incluida dentro de la unidad es menor a la cantidad producida en un día por el cuerpo lúteo de la mujer durante la parte posterior al ciclo menstrual y ésta cantidad también es menor a la cantidad equivalente de progesterona que contienen tres píldoras anticonceptivas convencionales (8).

De acuerdo con el Dr. Pharris (8), la progesterona que se libera es totalmente empujada por la cantidad que proviene de las glándulas adrenales y del ovario, todos los días, de manera que el cuerpo no reconoce la progesterona adicional. El agrega además que: "el endometrio por él mismo, metaboliza a la progesterona, de manera que el primer tejido que entra en contacto con la hormona, actúa como una barrera a la distribución sistémica" (8).

HORMONA PROGESTERONA.

La progesterona es una hormona secretada por el cuerpo lúteo y por la placenta principalmente. Es producida poco antes de la ovulación o al mismo tiempo; la producción de progesterona es estimulada por la Hormona Luteinizante y por la Hormona Folículo-Estimulante.

Si el óvulo no se fertiliza, la secreción de la progesterona del cuerpo lúteo continúa hasta el fin del período menstrual y disminuye gradualmente. Durante esta fase lútea, la progesterona actúa en el útero primado por los estrógenos para estimular el crecimiento glandular y el desarrollo del endometrio. La función de tales acciones es la de preparar el endometrio para la implantación del óvulo fertilizado. Es importante señalar que las acciones de la progesterona sólo se manifiestan después de la primación con estrógenos, por lo que las acciones de los estrógenos y de la progesterona son sinérgicas. Las acciones de la progesterona hacen que el endometrio uterino sea capaz de aceptar y soportar el crecimiento del óvulo fertilizado. Si la fertilización no ocurre se presenta la menstruación.

Los estrógenos estimulan el desarrollo de los conductos de las glándulas mamarias mientras que la progesterona induce la proliferación

alveolar del sistema de conductos. Durante el embarazo, la progesterona actúa sobre la Hormona Folículo Estimulante y la Hormona Luteinizante, inhibiendo la ovulación durante nueve meses que dura el embarazo. Esta supresión de gonadotropina pituitaria se explota farmacológicamente y es el mecanismo principal de acción de los anticonceptivos progestacionales orales sintéticos.

La progesterona tiene una vida media relativamente corta. Cuando se ingiere, se inactiva rápidamente en el hígado. Si se escapa a la inactivación del hígado, puede almacenarse en tejido adiposo.

La administración de estrógeno y de una progestina contenidos en una combinación o en preparaciones secuenciales, puede interferir con la fertilidad de muchas maneras, además de la ya explicada. Sin embargo, en general el mecanismo que se sigue es la inhibición de la ovulación. El efecto predominante de los estrógenos es inhibir la secreción de la Hormona Folículo Estimulante y la acción de la progesterona sirve para inhibir la secreción de la Hormona Luteinizante. Está claro que la ovulación se puede prevenir ya sea por la inhibición a los estímulos ovulatorios o previniendo el crecimiento de los folículos y esto concuerda con los experimentos llevados a cabo, ya que se ha visto que la ovulación puede ser prevenida ya sea por el estrógeno o por la progesterona dados individualmente, es decir por separado, o combinados en alguna formulación especial (6, 10).

PARTE EXPERIMENTAL.

MATERIAL Y METODOS.- Para el ensayo de control de calidad de cada uno de los sistemas intrauterinos, se necesitó:

- 1 sistema intrauterino liberador de progesterona durante tres años.
- 1 matraz volumétrico de 500 ml.
- 1 probeta de 100 ml.
- 1 pipeta de 10 ml.
- 1 matraz volumétrico de 100 ml.

Para el experimento del cálculo de velocidad de liberación de la progesterona del sistema intrauterino se necesitó:

- 1 sistema intrauterino liberador de progesterona durante tres años.
- 1 agitador lighting con graduación de velocidades con propela de aspas móviles, equilibrado a 300 rev/min.
- 1 estroboscopio para ajustar el lighting a las revoluciones requeridas.
- 1 baño a temperatura constante de $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- 1 soporte de porcelana.
- 2 soportes de fierro.
- 2 pinzas para bureta.
- 3 pinzas de nuez.
- 1 matraz erlenmeyer de 250 ml.
- 1 trozo de alambre acerado de aproximadamente 30 cm de longitud.
- esferas de plástico de 3 cm. de diámetro huecas.
- 1 matraz volumétrico de 250 ml.
- 1 pipeta volumétrica de 10 ml.
- 1 pipeta volumétrica de 5 ml.
- 1 espectrofotómetro modelo Bauch & Lomb Spectronic 700.

2 celdas de cuarzo.

Reactivos:

Agua destilada.

Metanol absoluto.

Progesterona U.S.P. micronizada y pura.

DESARROLLO DEL EXPERIMENTO.- Antes de comenzar la experimentación para calcular la velocidad de liberación de la progesterona del sistema, lo que se hizo fue efectuar el ensayo de una muestra de los sistemas de que se disponían para comprobar la calidad del producto, es decir, que la cantidad de progesterona fuera de $52 \text{ mg} \pm 5\%$ en total, ya que esa es la cantidad que se necesita para obtener una velocidad de liberación de 30 mcg/día durante tres años, asegurando la efectividad anticonceptiva debido al gradiente de concentración.

Este ensayo se realizó de la siguiente manera: se cortó el lado o parte inferior del sistema y se forzó para que la mezcla que contiene el excipiente y la progesterona saliera totalmente y se recopiló en un matraz volumétrico de 500 ml, teniendo cuidado de no contaminar la mezcla o las membranas exteriores del sistema. Una vez vaciada la totalidad de la "T" y de haberla enjuagado perfectamente con metanol absoluto, se agregan 250 ml de metanol absoluto y se agita el matraz vigorosamente durante 5 o 10 minutos para que toda la progesterona presente se disuelva totalmente y entonces poder diluir con metanol hasta completar un volumen de 500 ml. La solución resultante será un poco opaca y habrá partículas en suspensión debido a los excipientes contenidos en la mezcla del sistema, los cuales no son solubles en metanol, por lo cual se

rá necesario centrifugar o filtrar un poco de esta suspensión para poder continuar con el análisis.

Una vez que se ha filtrado o centrifugado la suspensión, se toman 15 ml del sobrenadante o del filtrado y se llevan a 100 ml con metanol en un matraz volumétrico. Esta solución se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 241 nm, teniendo un blanco de metanol absoluto y como solución estándar, una de progesterona U.S.P. pura micronizada de 15 mcg/ml de metanol.

Para calcular la cantidad de progesterona presente en el sistema se utiliza la siguiente fórmula:

$$\frac{Au}{As} \times 15 \times 3333.3333 = \text{mcg de progesterona totales presentes en el dispositivo}$$

donde:

Au es la lectura del problema

As es la lectura del estándar

15 es la concentración del estándar en mcg/ml

3333.3333 es el factor de dilución en ml

En la determinación de la velocidad de liberación de la progesterona, el método utilizado fue el siguiente:

en un matraz erlenmeyer de 250 ml, se coloca el dispositivo de progesterona sujeto con el alambre acerado, de manera que quede fijo a éste, a una altura determinada, pegado a la pared del matraz, para evitar que la propela roce con el dispositivo o con el alambre, ya que entonces se enredaría provocando problemas, si es que no se está vigilando el aparato todo el día.

Se agregan al matraz aproximadamente 230 ml de agua destilada precalentada a $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y se coloca éste en el baño maría, el cual contendrá agua precalentada también a 60°C (una de las variables más importantes de la experimentación) y el borde del baño de agua deberá sobrepasar el nivel de agua destilada que contiene el matraz para evitar cambios en la temperatura.

Se introduce la propela del agitador o lighting al matraz erlenmeyer; este agitador debió haber sido calibrado antes de trabajar para que dé una velocidad de 300 rev/min con el estroboscopio, ya que éste paso es muy necesario para asegurar la confiabilidad del método.

La boca del matraz se tapa con un capuchón de aluminio para evitar al máximo la evaporación del agua dentro del matraz.

En cuanto al baño maría, la evaporación del agua se evita colocando las esferas pequeñas de plástico sobre el agua, ya que éstas actúan como un sistema de condensación y además impiden el paso del vapor hacia el exterior, por lo que, una vez que se lleve a cabo el inicio del experimento, los cuidados que se deberán tener con el aparato serán mínimos, lo cual es una gran ventaja (ver figura No. 4).

El agitador se deja funcionando durante 23.91 horas, terminadas las cuales se apaga el agitador y se cambia la solución del matraz erlenmeyer que ya contiene cierta cantidad de progesterona liberada por difusión, por otros 230 ml de agua destilada precalentada siempre a 60°C ; esta operación no debe sobrepasar los cinco minutos, pasados los cuales se pone a funcionar nuevamente el agitador, por otras 23.91 horas, chequeando diariamente la temperatura del baño para evitar variaciones y manteniendo el nivel de agua indicado en un principio. Esta opera

ción se lleva a cabo durante 30 días, los cuales se fijaron de acuerdo con los resultados obtenidos en el primer experimento y que se discutirán posteriormente.

A la solución que se obtiene de la agitación, se coloca en un matraz volumétrico de 250 ml, y una vez que la solución adquiere la temperatura ambiente se le agregan 15 ml de metanol (como codisolvente) y se afora al volumen con agua destilada.

Estas muestras se guardan en el refrigerador hasta obtener todas las muestras del experimento, es decir 30. Después, éstas muestras se leen en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 248 nm (deben estar las muestras a temperatura ambiente), utilizando como blanco una mezcla de metanol-agua en una proporción de 3:47 y teniendo un estándar de progesterona U.S.P. de 7 mcg/ml de agua.

La razón por la cual se leen todas las muestras hasta finalizar el experimento, es para evitar variaciones de lectura en el espectro debidas a error humano, a la variación del voltaje, si es que no se cuenta con un regulador de voltaje adecuado para el espectrofotómetro, etcétera; de manera que leyendo todas las muestras el mismo día, el posible error será el mismo y no afectará a los resultados del experimento.

El cálculo de la velocidad de liberación de la progesterona del sistema se hace con la siguiente fórmula:

$$\text{Velocidad de liberación} = (A_u/A_s) (24/23.91) (250 \times C)$$

donde:

A_u es la absorbancia de la solución problema del día "x".

A_s es la absorbancia de la solución estándar (7 mcg/ml)

24/23.91 es el factor de tiempo, haciéndolo en relación a un día

ya que lo que nos interesa saber es la cantidad de progesterona liberada en cada día del experimento.

250 es el factor de dilución.

C es la concentración del estándar en mg/ml

Las concentraciones o las velocidades de liberación así obtenidas se grafican en papel milimétrico colocando en el eje de las abscisas (x) el tiempo expresado en días, y en el eje de las ordenadas (y) las velocidades de liberación de la progesterona expresadas en mg/día. Con esta gráfica se puede interpretar el comportamiento que sigue la progesterona dentro del sistema y calcular la cantidad liberada al final del experimento para poder así hacer una extrapolación de éstas velocidades a lo que sucedería cuando el dispositivo se encuentre dentro del útero de la mujer.

Ahora bien, para asegurarnos que los dispositivos utilizados durante el experimento tenían la cantidad adecuada de progesterona (52 mg), se realizó el análisis de los residuos de las "T" al final del experimento como sigue:

se corta la parte inferior de la "T" de manera que todo el contenido pueda salir y colocarse en un matraz volumétrico de 250 ml lavando el interior con metanol (el interior de la "T") y evitando la contaminación en la muestra o en las paredes del sistema, después se agita vigorosamente hasta que la mayor parte del contenido se haya disuelto en el metanol y entonces se afora al volumen con metanol.

Se filtra una parte de esta suspensión y se toman 15 ml del filtrado, los cuales se colocan en un matraz volumétrico de 100 ml y se vuelven a aforar con metanol. La solución así obtenida se lee en el espec-

trofotómetro a una longitud de onda de 241 nm utilizando metanol absoluto como blanco y un estándar de progesterona U.S.P. de 7 mcg/ml de metanol.

Los cálculos para determinar la cantidad de progesterona residual es como sigue:

$$\frac{A_u}{A_s} \times 0.007 \times 1666.6667 = \text{mg de progesterona presentes en el residuo de el dispositivo intrauterino}$$

donde:

A_u es la absorbancia de el problema

A_s es la absorbancia de el estándar

0.007 es la concentración del estándar en mg/ml

1666.6667 es el factor de dilución

También se calculó el porcentaje de progesterona liberado día a día y considerando que los dispositivos tienen 52 mg de progesterona, se obtuvo la siguiente relación:

$$\% \text{ de progesterona liberada relativa} = \frac{A_u}{A_s} \times 0.007 \times 0.8833 \times 100$$

donde:

A_u es la absorbancia del problema

A_s es la absorbancia del estándar

0.007 es la concentración del estándar en mg/ml

0.8833 es un factor, resultado del cociente de: $\frac{250}{283}$, ya que

283 mg es la cantidad total de la mezcla contenida en el dispositivo intrauterino incluyendo los excipientes y 250 ml es el volumen al que se afora cada una de las muestras.

El porcentaje calculado así debe dividirse entre 18.37%, que es el porcentaje de progesterona en que se encuentra dentro de la formulación total del dispositivo:

$$\begin{array}{rcl} 283 \text{ mg} & \text{---} & 100\% \\ 52 \text{ mg} & \text{---} & x = 18.37\% \end{array}$$

con lo cual obtenemos:

$$\frac{\% \text{ relativo}}{\% \text{ real de progesterona}} = \% \text{ liberado de progesterona por día}$$

Así por ejemplo, para calcular el porcentaje en que se liberó la progesterona del primer dispositivo utilizado en el primer día, se calcula así:

$$A_u = 0.278$$

$$A_s = 0.35$$

$$C_c = 0.007 \text{ mg/ml}$$

$$F_D = 0.8833$$

sustituyendo en la fórmula tenemos:

$$\frac{0.278}{0.350} \times 0.007 \times 0.8833 \times 100 = 0.4911 = \% \text{ relativo}$$

ahora:

$$\frac{0.4911\%}{18.37\%} = 2.67346 \% \text{ real de progesterona liberada el primer día del sistema.}$$

Referencia: (22)

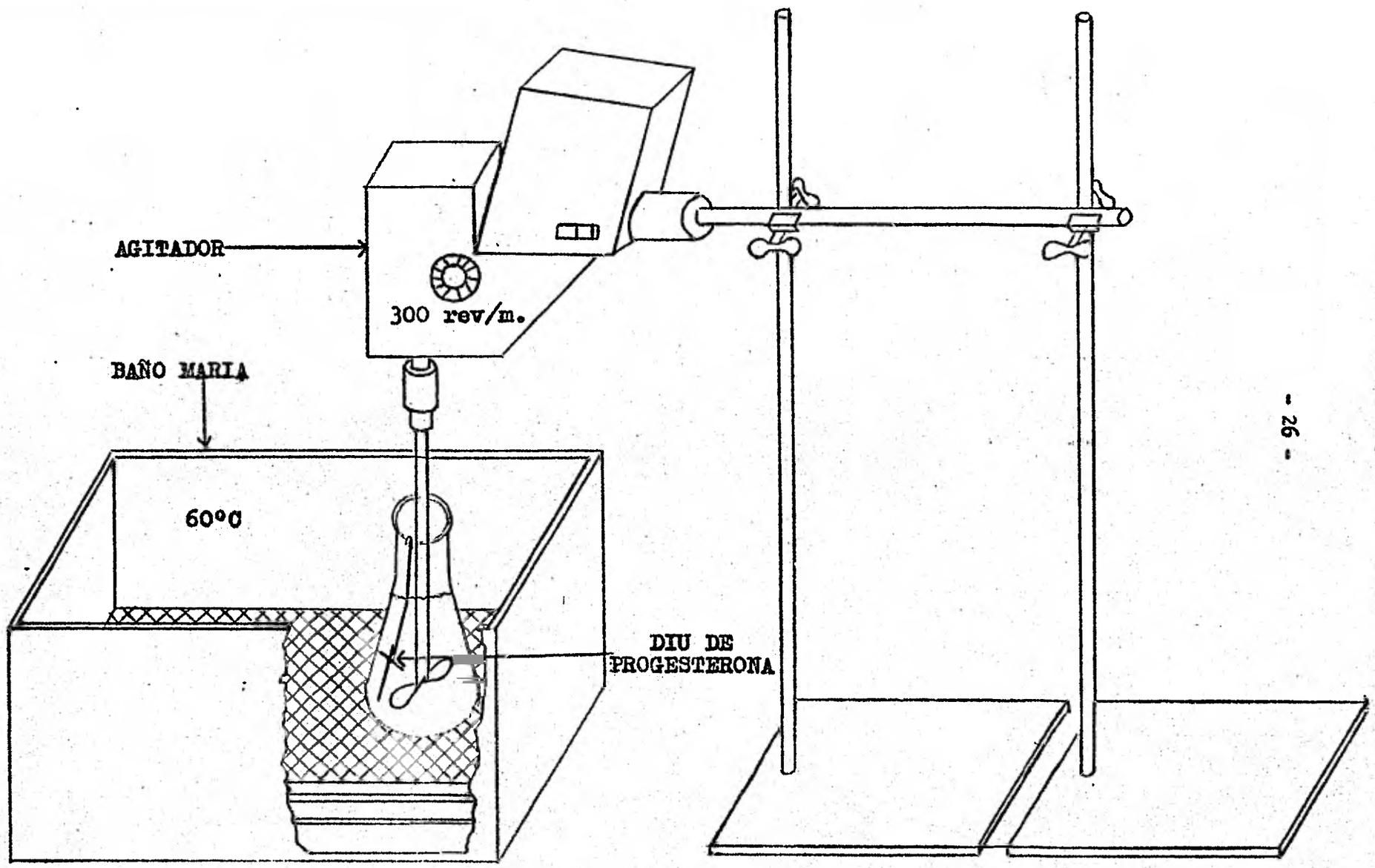


Figura No. 4. • Aparato utilizado durante la Experimentación con el Sistema Intrauterino Anticonceptivo con Progesterona.

RESULTADOS.

A continuación se explican los resultados de todos los ensayos llevados a cabo antes del experimento de velocidad de liberación, durante el experimento de velocidad de liberación y el de los resultados obtenidos de los residuos de las "T" utilizadas.

Para asegurar la calidad del producto, se tomó una "T" o dispositivo de una manera aleatoria de un conjunto de 58 unidades y se realizó el ensayo como ya se ha explicado anteriormente, obteniéndose lo siguiente:

Concentración del estándar de progesterona = 15 mcg/ml

Solución problema = 15 ml del filtrado del dispositivo aforados a 100 ml.

Bianco = metanol absoluto

Au = 0.72

As = 0.68

utilizando la relación:

$$\frac{Au}{As} \times 15 \times 3333.3333 = \text{mcg de progesterona totales presentes en el dispositivo}$$

sustituimos los datos y obtenemos:

$$\frac{0.72}{0.68} \times 15 \times 3333.3333 = 52941.176 \text{ mcg de progesterona}$$

es decir que el dispositivo utilizado en este ensayo contenía un total de 52.9411 mg de progesterona.

DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE LIBERACION IN VITRO A 60 °C.- Para poder llevar a cabo la correcta determinación de la velocidad de liberación in vitro de la progesterona contenida en un dispositivo intrauterino anticonceptivo, se experimentó con cuatro dispositivos con progesterona, pero en lugar de experimentar con los cuatro sistemas a la vez (lo que podría realizarse fácilmente en la industria), se experimentó con un sistema por vez. El tiempo requerido para que, según los parámetros de experimentación que se fijaron desde un principio (60 °C y 300 rev/min), la progesterona se liberara en una cantidad suficiente para cubrir los tres años de anticoncepción eficaz, se determinó en el primer experimento, ya que en él se dejó liberar toda la progesterona que estaba contenida en la "T" y, después analizando los resultados, saber qué tiempo "in vitro" correspondía a tres años de liberación "in vivo". Este primer experimento duró por tanto un total de 57 días en los cuales se libera una cantidad de progesterona equivalente al 97.913%, lo cual nos indica que casi toda la progesterona se había liberado al cabo de ese tiempo.

De ese primer experimento se pudo ver que el tiempo necesario de experimentación requerido para que se liberara la cantidad de progesterona cuando el sistema se encontrara dentro del útero de la mujer era de 28 días, al cabo de los cuales se liberaba una cantidad de progesterona de 33 mg; estos 33 mg son los que se liberan "in situ" a razón de 30 mcg diarios de progesterona durante tres años. De ahí que, los siguientes experimentos solo duraran 30 días y se concluyó en base a esos resultados.

Posteriormente se explicará con detalle la forma en como se hizo.

la extrapolación de datos "in vitro" a los datos "in vivo".

PRIMER EXPERIMENTO DE VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA DE UN DISPOSITIVO INTRAUTERINO ANTICONCEPTIVO PARA TRES AÑOS.

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
1	0.278	1.395 mg/día	2.67346	97.32650
2	0.330	1.6561 "	3.17353	94.15301
3	0.309	1.5500 "	2.97158	91.18143
4	0.295	1.4804 "	2.83694	88.34449
5	0.313	1.5708 "	3.01004	85.33445
6	0.315	1.5808 "	3.02928	82.30517
7	0.295	1.4808 "	2.83694	79.46823
8	0.273	1.3701 "	2.62537	76.84286
9	0.302	1.5156 "	2.90426	73.93860
10	0.275	1.3801 "	2.64461	71.29399
11	0.299	1.5005 "	2.87541	68.41858
12	0.2303	1.1557 "	2.21474	66.20384
13	0.226	1.1341 "	2.17338	64.03046
14	0.219	1.0090 "	2.10607	61.92439
15	0.220	1.1040 "	2.11568	59.80871
16	0.190	0.9535 "	1.82718	57.98153
17	0.222	1.1141 "	2.13492	55.84661
18	0.210	1.0538 "	2.01952	53.82709
19	0.2207	1.1075 "	2.12242	51.70467
20	0.207	1.0388 "	1.99067	49.71400
21	0.201	1.0087 "	1.93297	47.78103
22	0.185	0.9284 "	1.77910	46.00193

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
23	0.180	0.9033 mg/día	1.73101	44.27092
24	0.170	0.8531 "	1.63484	42.63608
25	0.1588	0.7969 "	1.52714	41.10894
26	0.105	0.7938 "	1.00976	40.09918
27	0.089	0.4466 "	0.85589	39.24329
28	0.100	0.5018 "	0.96167	38.28162
29	0.182	0.9133 "	1.75025	36.53137
30	0.182	0.9133 "	1.75025	36.53137
31	0.179	0.8983 "	1.72140	33.05972
32	0.175	0.8782 "	1.68293	31.37679
33	0.159	0.7979 "	1.52900	29.84779
34	0.1499	0.7522 "	1.44155	28.40624
35	0.1531	0.7683 "	1.47232	26.93392
36	0.150	0.7527 "	1.44251	25.49141
37	0.150	0.7527 "	1.44251	24.04890
38	0.175	0.8782 "	1.68293	22.36597
39	0.175	0.8782 "	1.68293	20.68304
40	0.168	0.8431 "	1.61561	19.06743
41	0.1926	0.9660 "	1.85218	17.21525
42	0.171	0.8581 "	1.64446	15.57079
43	0.160	0.8029 "	1.53868	14.03211
44	0.159	0.7979 "	1.52906	12.50305
45	0.149	0.7477 "	1.43289	11.07016
46	0.144	0.7226 "	1.38481	9.68535
47	0.144	0.7226 "	1.38481	9.68535

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
48	0.173	0.8682 mg/día	1.66370	6.63684
49	0.151	0.7578 "	1.45213	5.18471
50	0.1361	0.6830 "	1.30884	3.87587
51	0.0500	0.2509 "	0.48083	3.39504
52	0.0500	0.2509 "	0.48083	2.91421
53	0.0520	0.2609 "	0.50007	2.41414
54	0.0390	0.1957 "	0.37505	2.03909
55	0.0407	0.2042 "	0.39149	1.64769
56	0.0407	0.2042 "	0.39149	1.25629
57	0.0010	0.0052 "	0.00010	1.25619

La lectura a 248 nm del estándar de progesterona de 7 mcg/ml en este experimento fue de: 0.35.

En base a lo anterior vemos que la cantidad en miligramos total liberada por el dispositivo a las condiciones dadas es:

51.7085 mg de progesterona

lo cual equivale al 99.4394% de progesterona total liberada, ya que el dispositivo tiene una capacidad de 52 mg \pm 5% de progesterona.

Los datos de porcentaje anteriores son teóricos, sin embargo, calculando la sumatoria de los porcentajes de progesterona liberados diariamente, vemos que el porcentaje real de progesterona liberada es:

98.74381%

lo cual equivale a una cantidad de progesterona liberada durante los 57 días de experimentación de 51.7085 mg de progesterona.

Con estos datos podemos calcular la cantidad total real de progesterona

rona que contenía este dispositivo:

98.74381% — 51.7085 mg de progesterona

100.0% — X = cantidad total de progesterona

∴ X = 52.366321 mg de progesterona presentes en el
dispositivo intrauterino.

SEGUNDO EXPERIMENTO DE VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA DE UN
DISPOSITIVO INTRAUTERINO ANTICONCEPTIVO PARA TRES AÑOS.

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
1	0.340	1.6361 mg/día	3.13532	96.8647
2	0.355	1.7083 "	3.27365	93.5910
3	0.330	1.5880 "	3.04311	90.5479
4	0.341	1.6410 "	3.15455	87.4034
5	0.319	1.5351 "	2.94167	84.4617
6	0.301	1.4485 "	2.77568	81.6860
7	0.298	1.4340 "	2.74802	78.9380
8	0.300	1.4436 "	2.76646	76.1715
9	0.275	1.3233 "	2.53592	73.6356
10	0.285	1.3715 "	2.62814	71.0075
11	0.278	1.3378 "	2.56359	68.4439
12	0.263	1.2656 "	2.42526	66.0186
13	0.268	1.2897 "	2.47137	63.5473
14	0.268	1.2897 "	2.47137	61.0759
15	0.255	1.2271 "	2.35403	58.7219
16	0.251	1.2078 "	2.31461	56.4073
17	0.248	1.1934 "	2.28694	54.1203
18	0.248	1.1934 "	2.28694	51.8334
19	0.247	1.1886 "	2.27772	49.5557
20	0.249	1.1982 "	2.29616	47.2595
21	0.258	1.2415 "	2.37916	44.8803
22	0.238	1.1453 "	2.19473	42.6856

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
23	0.245	1.1790 mg/día	2.25928	40.4263
24	0.228	1.0972 "	2.10251	38.3238
25	0.229	1.1020 "	2.11173	36.2121
26	0.219	1.0539 "	2.01952	34.1926
27	0.229	1.1020 "	2.11173	32.0808
28	0.218	1.0490 "	2.01029	30.0705
29	0.220	1.0587 "	2.02874	28.0418
30	0.210	1.0105 "	1.93652	26.1053
31	0.215	1.0346 "	1.98263	24.1226
32	0.210	1.0105 "	1.93652	22.1861
33	0.211	1.0154 "	1.94574	20.2403

La lectura a 248 nm del estándar de progesterona de 7 mcg/ml en este experimento fue de: 0.365.

La cantidad total de progesterona liberada durante los 33 días de experimentación es de:

41.6203 mg de progesterona

En cuanto al porcentaje de progesterona liberado de acuerdo con los datos anteriores es de:

79.76961%

Con este dispositivo se realizó el ensayo del residuo para comprobar la cantidad de progesterona dentro del dispositivo. El método que se siguió fue el explicado en las páginas 23 y 24, por lo que aquí solo se darán los resultados.

Longitud de onda: 241 nm

Blanco: metanol absoluto

Estándar: 7 mcg/ml de progesterona en metanol

Lectura del estándar: 0.259

Lectura del problema: 0.239

Cálculos:

$$\frac{0.239}{0.259} \times 0.007 \times 1666.6667 = \underline{10.765756 \text{ mg de progesterona}}$$

Con estos resultados podemos calcular la cantidad total real de progesterona en el dispositivo:

$$\text{progesterona total} = 41.6203 \text{ mg liberados} + 10.7657 \text{ mg del residuo} = \underline{52.386 \text{ mg de progesterona del segundo experimento}}$$

TERCER EXPERIMENTO DE VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA DE UN DISPOSITIVO INTRAUTERINO ANTICONCEPTIVO PARA TRES AÑOS.

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
1	0.331	1.5671 mg/día	3.00297	96.9970
2	0.329	1.5576 "	2.98482	94.0122
3	0.304	1.4392 "	2.75801	91.2542
4	0.300	1.4203 "	2.72172	88.5325
5	0.299	1.4156 "	2.71265	85.8198
6	0.299	1.4156 "	2.71265	83.1072
7	0.289	1.3682 "	2.62192	80.4853
8	0.280	1.3256 "	2.54027	77.9450
9	0.272	1.2877 "	2.46769	75.4773
10	0.265	1.2546 "	2.40419	73.0731
11	0.263	1.2451 "	2.38604	70.6871
12	0.259	1.2262 "	2.34975	68.3373
13	0.250	1.1836 "	2.26810	66.0692
14	0.248	1.1457 "	2.24996	63.8193
15	0.241	1.1410 "	2.18645	61.6328
16	0.250	1.1836 "	2.26810	59.3647
17	0.229	1.0842 "	2.07758	57.2871
18	0.222	1.0510 "	2.01407	55.2731
19	0.220	1.0415 "	1.99592	53.2771
20	0.215	1.0179 "	1.95057	51.3266
21	0.221	1.0463 "	2.00500	49.3216
22	0.215	1.0179 "	1.95057	47.3710

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
23	0.211	0.9989 mg/día	1.91428	45.4567
24	0.205	0.9705 "	1.85984	43.5969
25	0.202	0.9563 "	1.83262	41.7643
26	0.202	0.9563 "	1.83262	39.9316
27	0.195	0.9232 "	1.76912	38.1625
28	0.191	0.9042 "	1.73283	36.4296
29	0.197	0.9326 "	1.78726	34.6423
30	0.181	0.8768 "	1.63303	33.0092

La lectura a 248 nm del estándar de progesterona de 7 mcg/ml en este experimento fue de: 0.371.

La cantidad de progesterona total liberada a los 30 días de experimentación es de:

34.9543 mg de progesterona

El porcentaje de progesterona liberado, de acuerdo con los datos anteriores es de:

67.01912 %

Por lo tanto, podemos calcular la cantidad real teórica de progesterona que había en el dispositivo:

34.9543 mg de progesterona - 67.01912%

X - 100.0 %

∴ X = 52.1557 mg de progesterona presentes en el --

dispositivo del tercer experimento.

CUARTO EXPERIMENTO DE VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA DE UN DISPOSITIVO INTRAUTERINO ANTICONCEPTIVO PARA TRES AÑOS.

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
1	0.315	1.5585 mg/día	2.98661	97.0134
2	0.311	1.5387 "	2.94869	94.0647
3	0.300	1.4843 "	2.84439	91.2203
4	0.254	1.2570 "	2.40825	88.8121
5	0.254	1.2570 "	2.40825	86.4038
6	0.295	1.5516 "	2.79698	83.6068
7	0.290	1.4348 "	2.74958	80.8573
8	0.275	1.3606 "	2.60736	78.2499
9	0.228	1.1309 "	2.16174	76.0882
10	0.228	1.1309 "	2.16174	73.9264
11	0.270	1.3359 "	2.55995	71.3665
12	0.250	1.2545 "	2.37032	68.9961
13	0.252	1.2468 "	2.38929	66.6069
14	0.250	1.2468 "	2.38929	64.2365
15	0.240	1.1874 "	2.27551	61.9610
16	0.231	1.1429 "	2.19018	59.7708
17	0.210	1.0420 "	1.99107	57.7798
18	0.210	1.0420 "	1.99107	55.7887
19	0.249	1.2320 "	2.36084	53.4279
20	0.230	1.1380 "	2.18070	51.2472
21	0.225	1.1132 "	2.13329	49.1139
22	0.222	1.0984 "	2.10485	47.0090

DIA	LECTURAS A 248 nm	VELOCIDAD DE LIBERACION	PORCENTAJE LIBERADO	PORCENTAJE RESIDUAL
23	0.219	1.0835 mg/día	2.07640	44.9326
24	0.219	1.0835 "	2.07640	42.8562
25	0.212	1.0489 "	2.01003	40.8462
26	0.185	0.9161 "	1.75404	39.0922
27	0.185	0.9161 "	1.75404	37.3381
28	0.221	1.0934 "	2.09537	35.2427
29	0.208	1.0291 "	1.97211	33.2706
30	0.164	0.8148 "	1.55493	31.7157
31	0.164	0.8148 "	1.55493	30.1608

La lectura a 248 nm del estándar de progesterona de 7 mcg/ml en este experimento fue de: 0.355.

La cantidad de progesterona total liberada durante los 31 días de experimentación es de:

36.5745 mg de progesterona

El porcentaje de progesterona liberado de acuerdo con los datos anteriores es de:

69.83923%

Por lo tanto, podemos calcular la cantidad de progesterona en el cuarto dispositivo:

36.5745 mg de progesterona - 69.83923%

X - 100 %

°. X = 52.3695 mg de progesterona presentes en el dispositivo del cuarto experimento.

Los anteriores datos son teóricos y teniendo como base que el dis-

positivo contenía efectivamente 52 mg; sin embargo, con éste dispositivo también se realizó el ensayo del residuo para comprobar lo anterior y los datos encontrados fueron:

Blanco: metanol absoluto

Estándar: solución de progesterona en metanol con 7 mcg/ml

Problema: solución de 100 ml preparada como ya se explicó en la sección de Métodos.

Cálculos:

$$A_u = 0.438$$

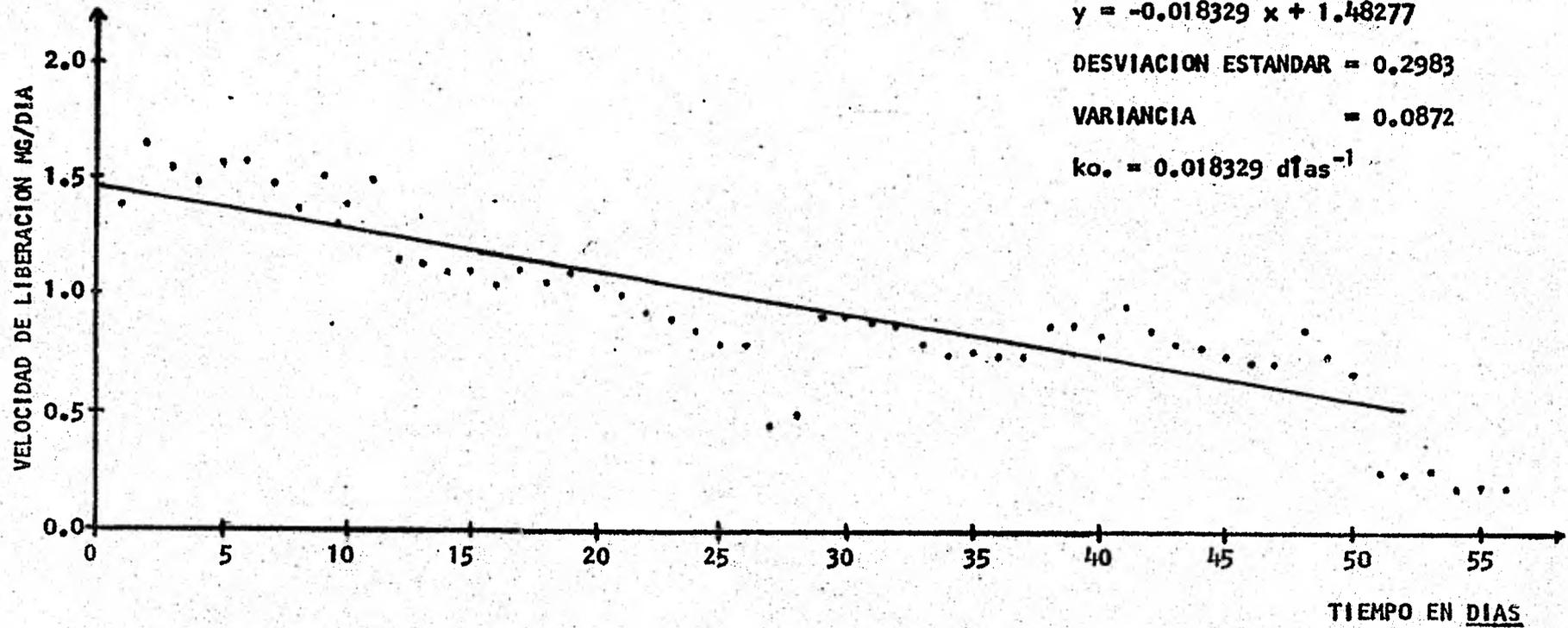
$$A_s = 0.395$$

$$\frac{0.438}{0.395} \times 0.007 \times 1666.6667 = \underline{12.9367 \text{ mg de progesterona}} \text{ en el residuo de la "T"}$$

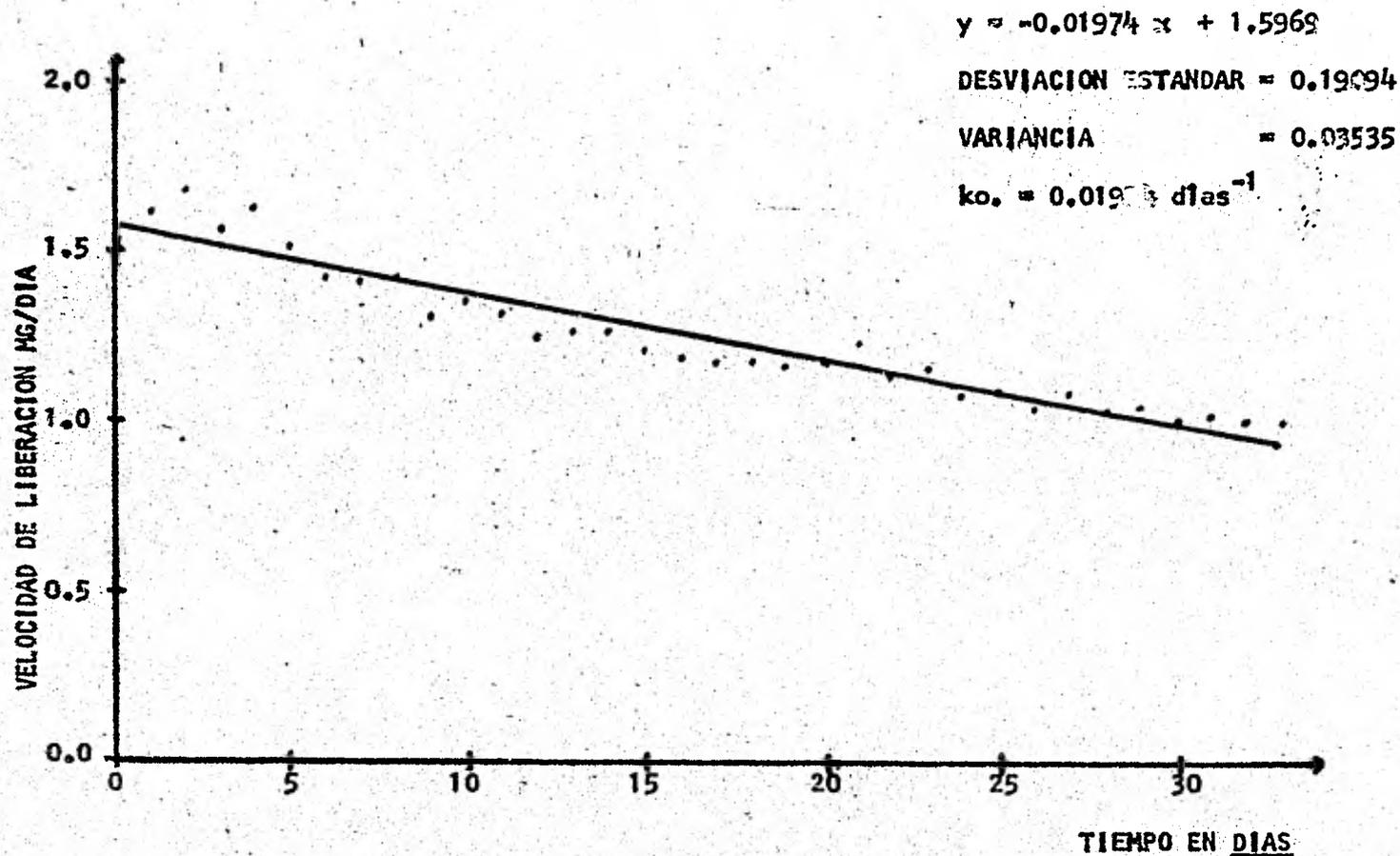
Por lo tanto, la progesterona total en el dispositivo es:

$$36.5745 \text{ mg liberados en 31 días} + 12.9367 \text{ mg del residuo} = \underline{49.5112 \text{ mg}} \text{ de progesterona presentes en el cuarto dispositivo.}$$

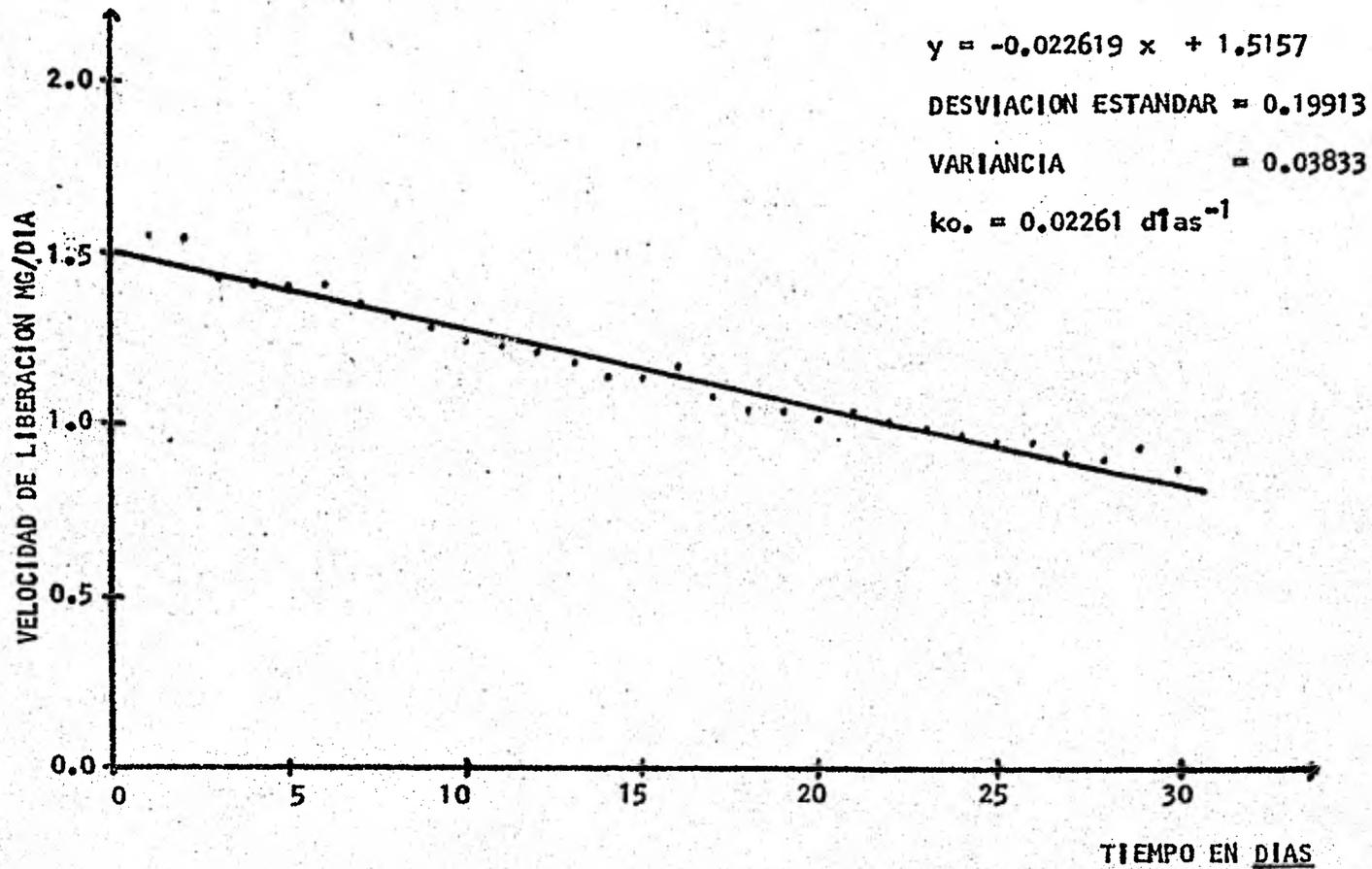
PRIMER EXPERIMENTO DE LIBERACION DE PROGESTERONA DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO.



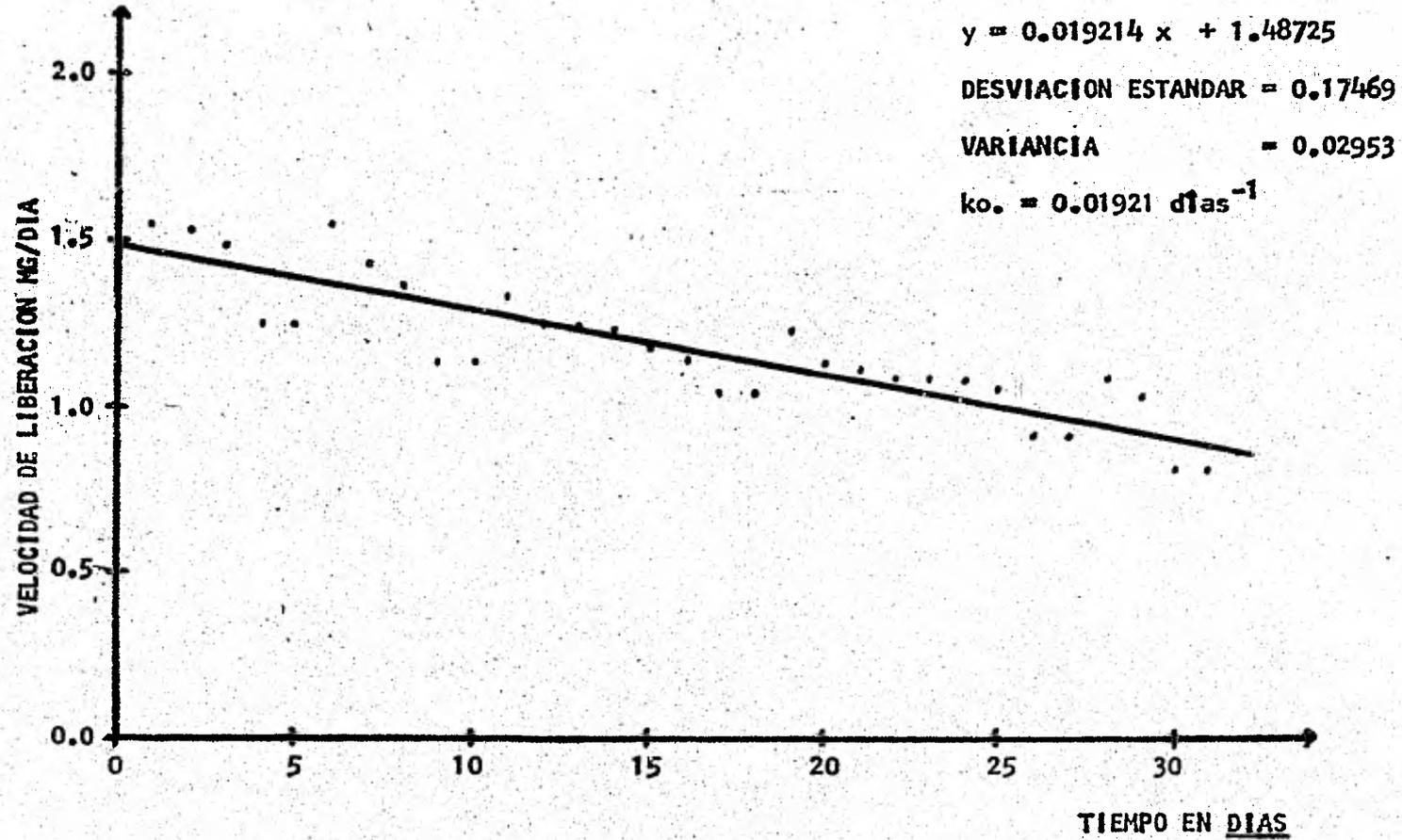
SEGUNDO EXPERIMENTO DE LIBERACION DE PROGESTERONA DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO.



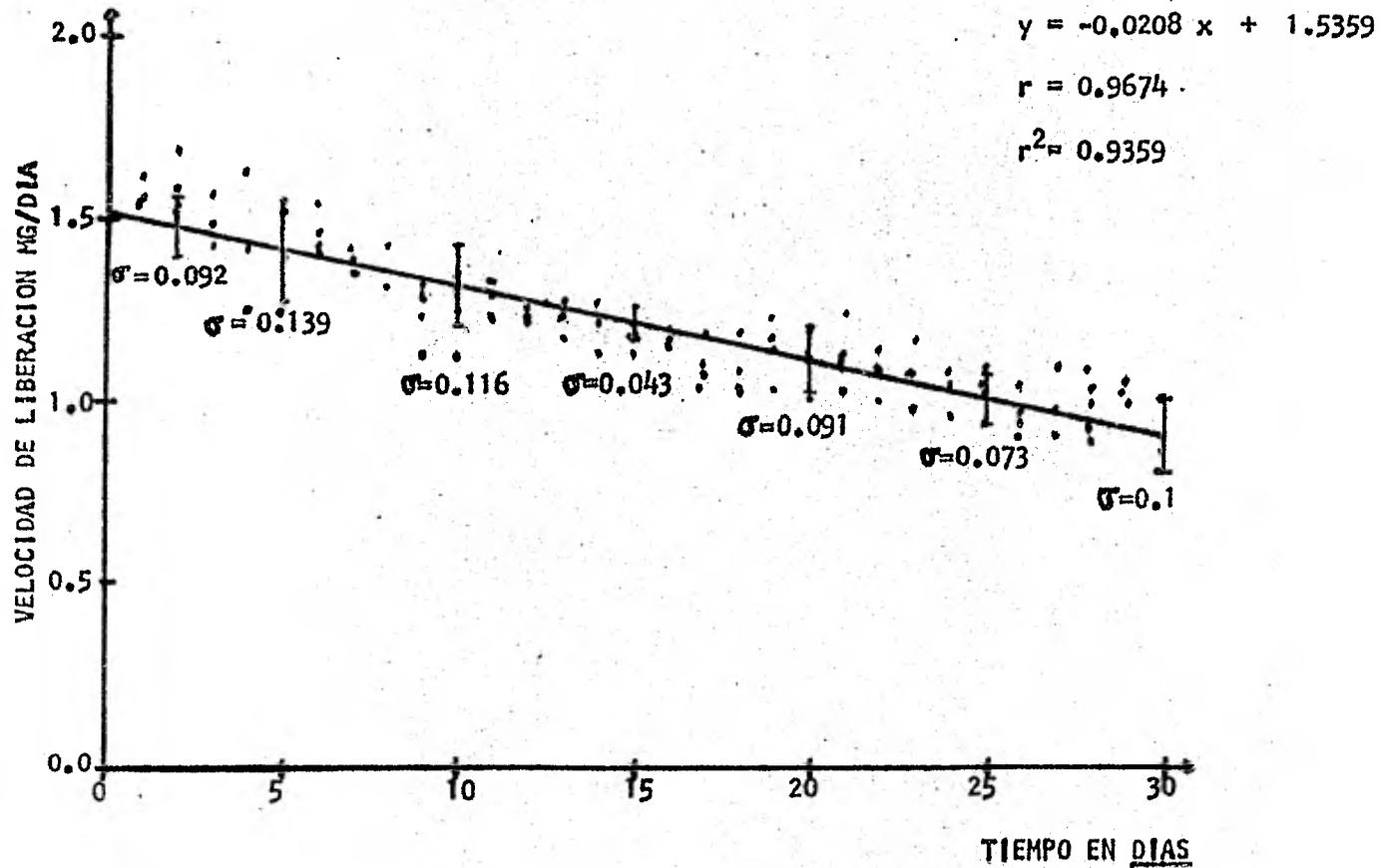
TERCER EXPERIMENTO DE LIBERACION DE PROGESTERONA DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO.



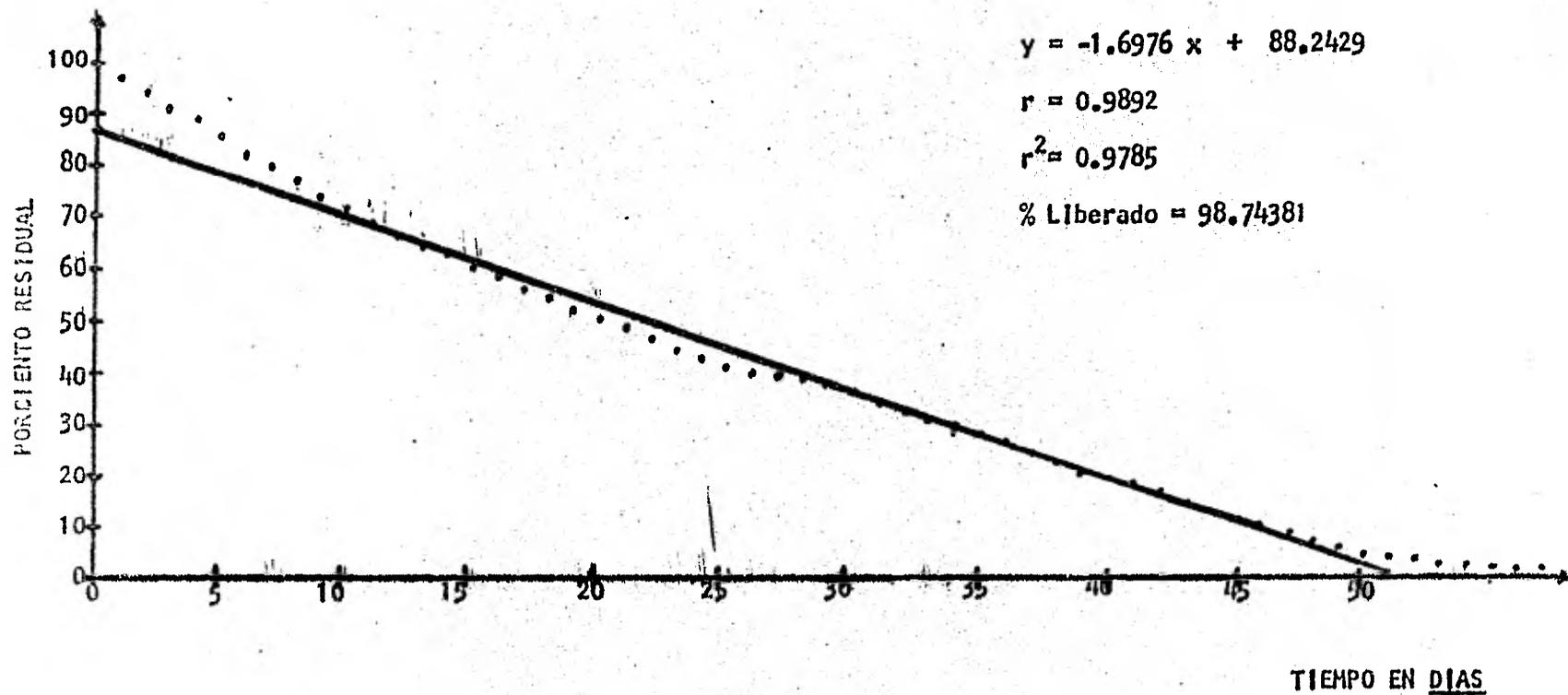
CUARTO EXPERIMENTO DE LIBERACION DE PROGESTERONA DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO.



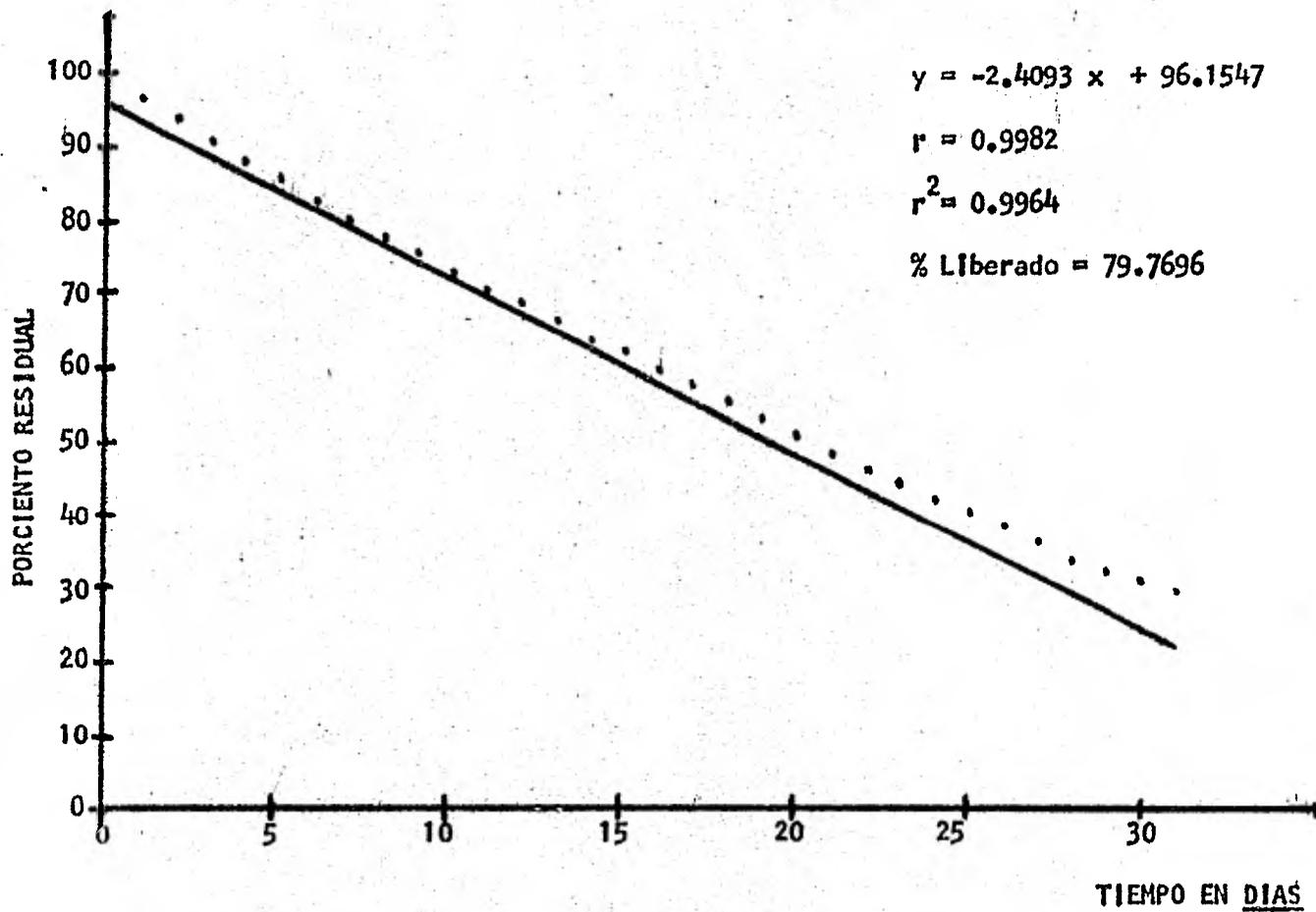
CURVA PROMEDIO Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS ULTIMOS TRES EXPERIMENTOS DE LIBERACION DE PROGESTERONA_
DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO.



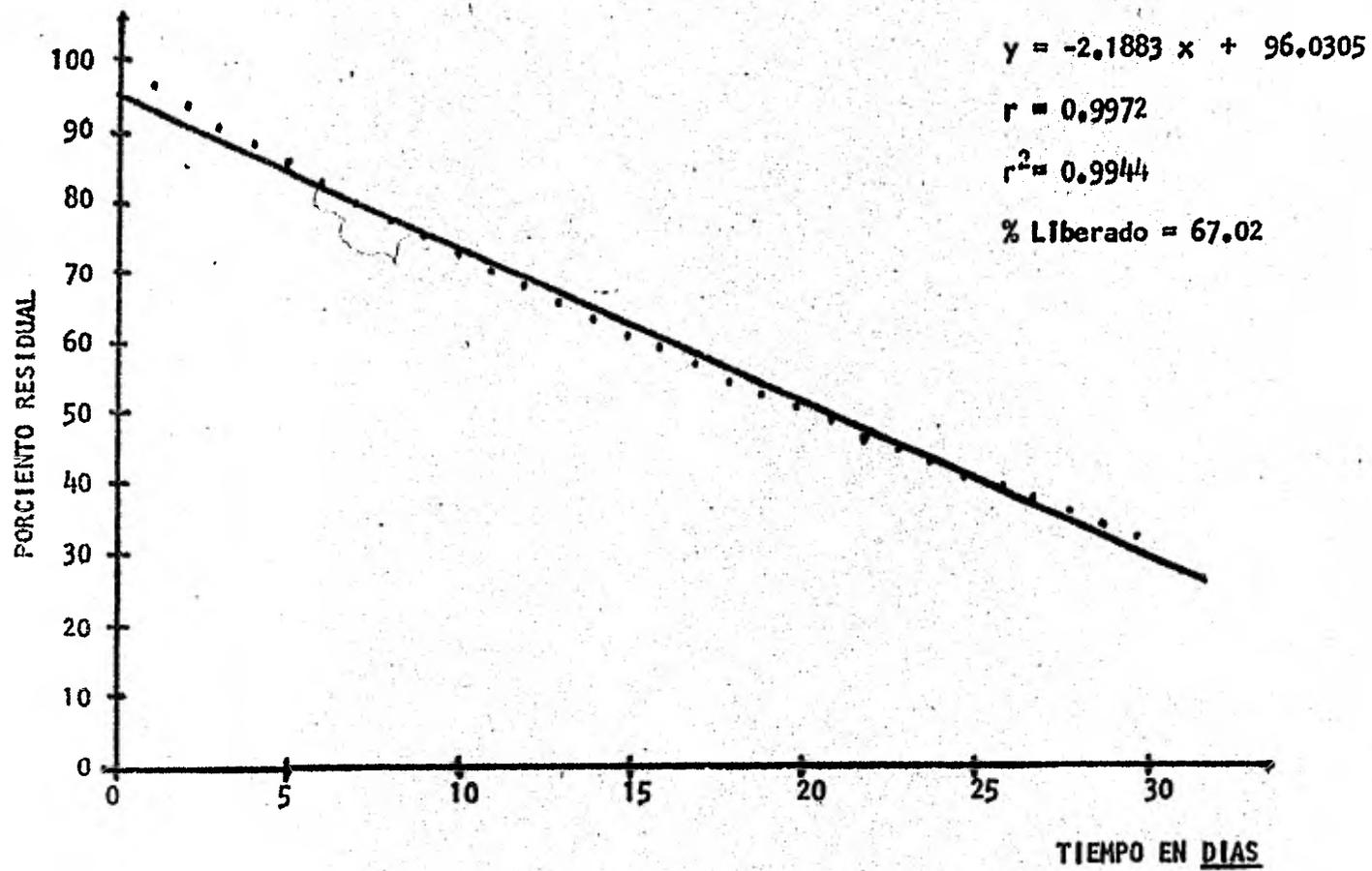
GRAFICA DEL PORCENTAJE RESIDUAL DE PROGESTERONA EN EL DISPOSITIVO DEL PRIMER EXPERIMENTO.



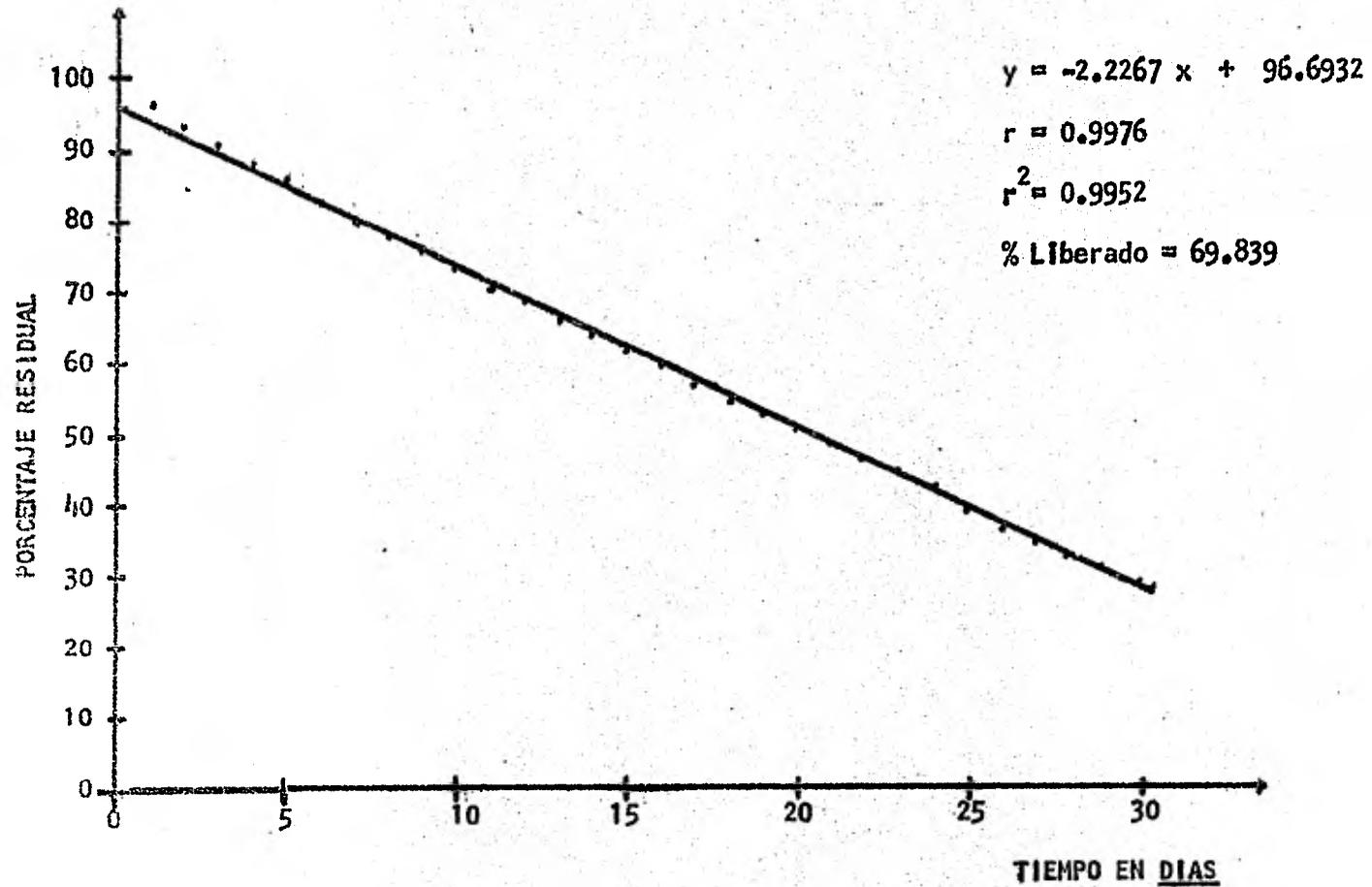
GRAFICA DEL PORCENTAJE RESIDUAL DE PROGESTERONA EN EL DISPOSITIVO DEL SEGUNDO EXPERIMENTO.



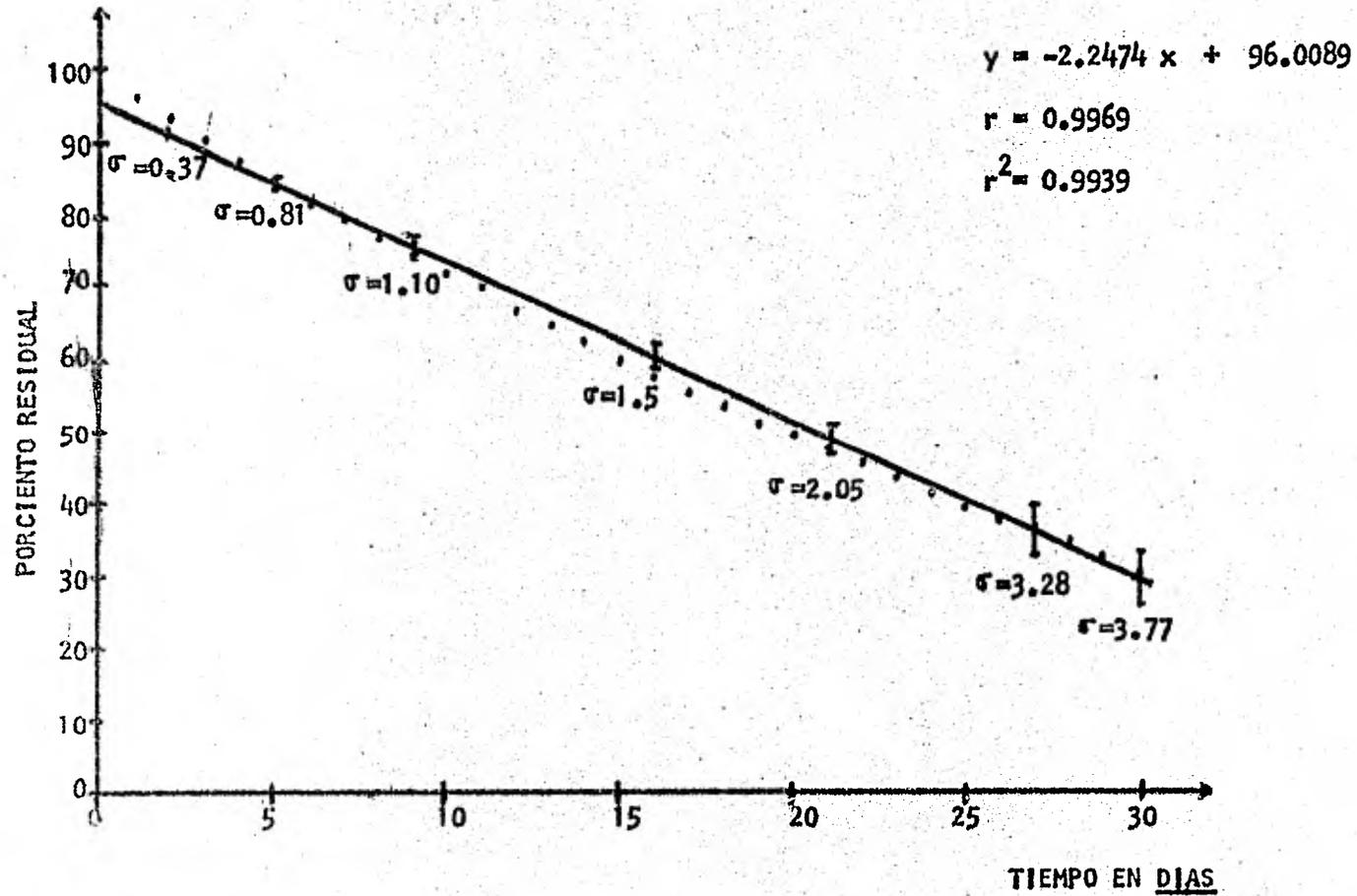
GRAFICA DEL PORCENTAJE RESIDUAL DE PROGESTERONA EN EL DISPOSITIVO DEL TERCER EXPERIMENTO.



GRAFICA DEL PORCENTAJE RESIDUAL DE PROGESTERONA EN EL DISPOSITIVO DEL CUARTO EXPERIMENTO.



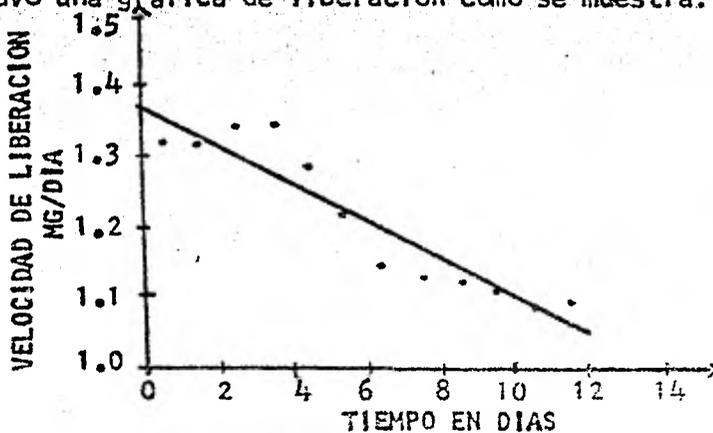
CURVA DE PORCENTAJE RESIDUAL PROMEDIO DE LOS CUATRO EXPERIMENTOS Y DESVIACIONES ESTANDAR.



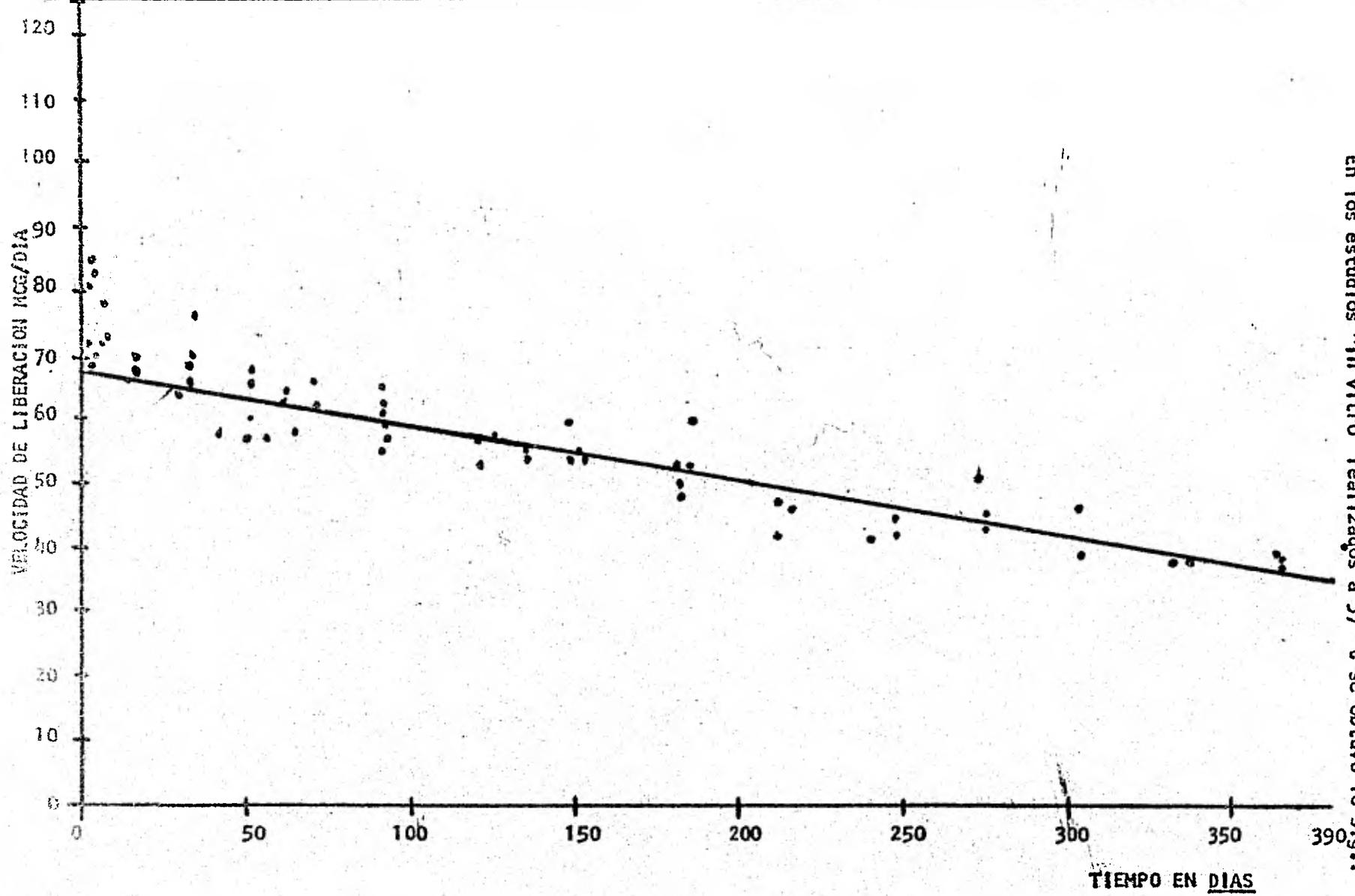
DISCUSION DE RESULTADOS.

Desde hace varios años, Alza Corporation Inc., elaboró un sistema intrauterino de acción prolongada o sostenida liberador de progesterona que tenía una duración de un año, conteniendo una cantidad total de 32 mg de progesterona liberándose diariamente una cantidad constante de 65 mcg. Muchos investigadores como Pharris, Martínez Manautou, Aznar Ramos, etc., estudiaron la liberación y la efectividad de este sistema, (3, 16, 17, 18, 23) realizando estudios in vitro e in vivo, con los que obtenían una liberación constante de 65 mcg/día de progesterona "in vivo", mientras que "in vitro" se obtenían resultados que mostraban que el comportamiento del sistema intrauterino de progesterona de un año, se comportaba como en una reacción de orden cero, es decir, que "in vitro" a una temperatura de 60 °C y con 11 días de experimentación, obtenían una liberación de progesterona lineal, ajustable a una recta por el método de mínimos cuadrados y en esos doce días de experimentación se llegaba a hacer la extrapolación de liberación a un año del sistema.

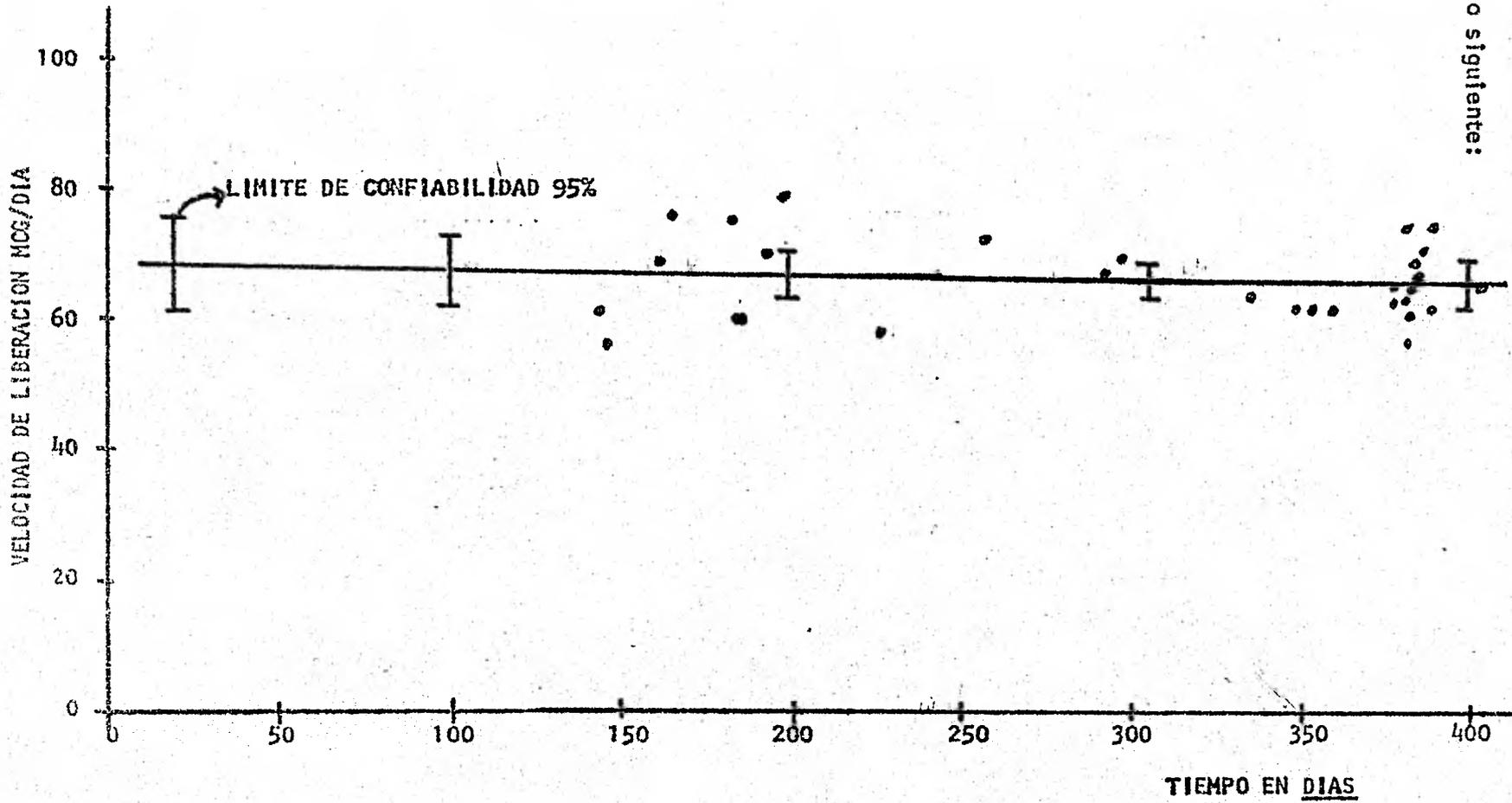
En las pruebas realizadas con estos sistemas, se realizó la extrapolación de que en doce días de experimentación a 60 °C, la progesterona era igual a la cantidad de progesterona liberada "in vivo" a 37 °C, y se obtuvo una gráfica de liberación como se muestra:



(1)



En los estudios "in vitro" realizados a 37 °C se obtuvo lo siguiente:



tuvo lo siguiente:
 mientras que la misma prueba, pero realizada "in vivo", a 37 °C, se ob-

Esta prueba "in vivo" se realizó en un determinado número de mujeres a las cuales se les colocó el dispositivo intrauterino y se les retiró pasado un determinado tiempo, para poder analizar la progesterona residual en cada dispositivo de la manera siguiente: después de limpiar los dispositivos con agua y de secarlos, se cortaron ambos lados del sistema y las secciones fueron colocadas en 50 ml de metanol, se agitó por unos minutos y se dejaron toda la noche para que se llevara a cabo una extracción completa. Posteriormente, ésta solución se diluyó en una proporción de 1:50 y se analizó con un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 241 nm.

La velocidad de liberación promedio se calculó posteriormente con la siguiente fórmula:

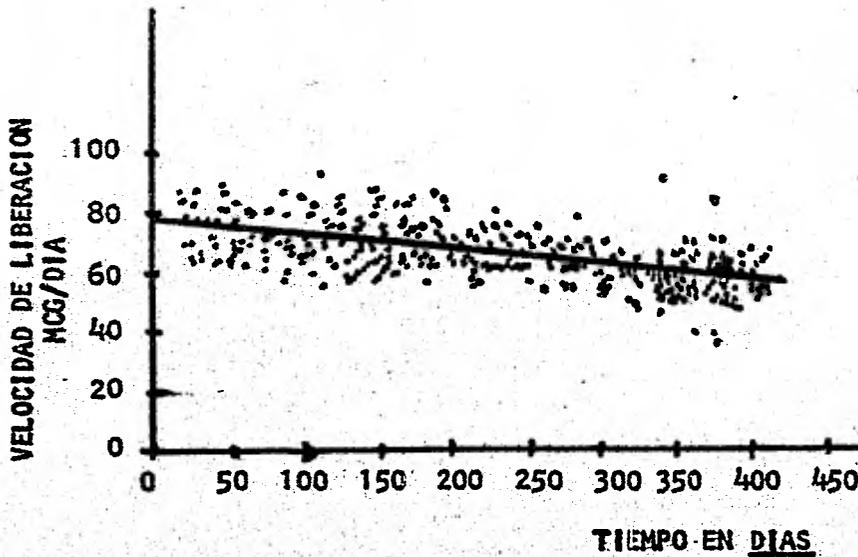
$$\bar{J} = \frac{M_0 - M_t}{\Delta t} \text{ mcg/día}$$

donde:

M_0 es la cantidad promedio de progesterona en los sistemas manufacturados (36 ± 4.5 mg en los lotes utilizados).

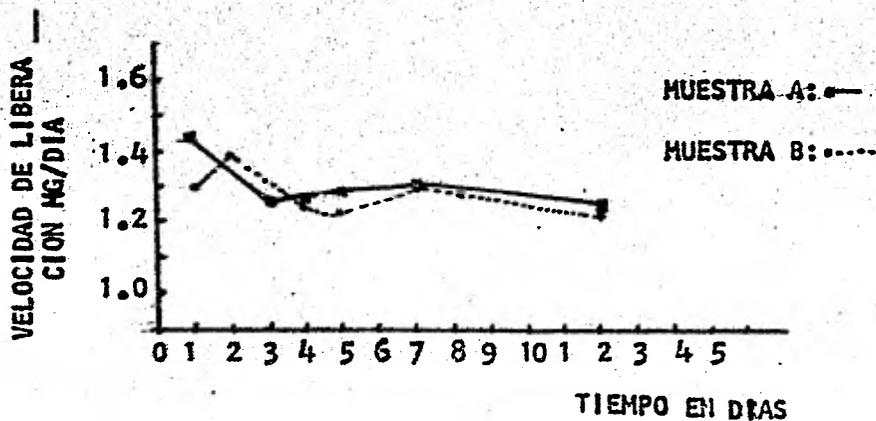
M_t es la progesterona residual en el dispositivo después de que fué regresado a la clínica el cual estuvo "in útero" por un periodo de Δt días.

En las anteriores gráficas podemos notar que la liberación de progesterona está dentro de ciertos límites en el experimento "in vivo", de una manera constante, mientras que la prueba "in vitro", la velocidad de liberación disminuye conforme pasa el tiempo de una manera lineal, como lo podemos confirmar en la siguiente gráfica:

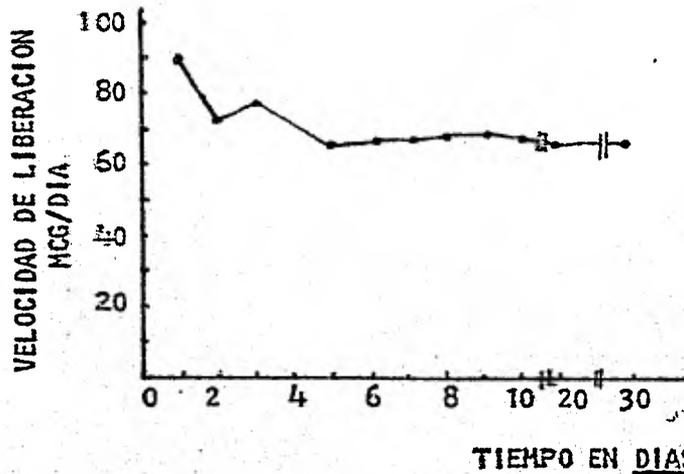


LIBERACION "IN VIVO" DE UN DISPOSITIVO INTRAUTERINO LIBERADOR DE PROGESTERONA POR UN AÑO. (3)

Por otra parte, Kazuhiko, Masahiro y Takaichi realizaron pruebas de liberación de progesterona in vitro (14), con sistemas intrauterinos de un año y con métodos de agitación muy semejantes a los utilizados durante el presente trabajo; estos investigadores realizaron sus experimentos a 37 °C y 60 °C, obteniendo los siguientes resultados:



VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA A 60 °C REALIZADA POR MEDIO DE AGITACION HORIZONTAL. (14)



VELOCIDAD DE LIBERACION DE PROGESTERONA DE TRES SISTEMAS ANTICONCEPTIVOS INTRAUTERINOS A 37 °C ESTUDIADOS POR MEDIO DE AGITACION HORIZONTAL.

Los resultados obtenidos por medio de la agitación horizontal, son muy semejantes a los resultados obtenidos por el método de agitación magnética, el cual también lo llevaron a cabo los investigadores Kazuhiko y col. (14).

Por otra parte, comparando las gráficas de los experimentos realizados por la Corporación Alza a 37 °C y 60 °C, se observa que el índice de progesterona varió un poco, ya que en el experimento a 60 °C se observaron burbujas de aire, las cuales golpearon la superficie de liberación de progesterona, originando estas variaciones, lo cual no se observó en el experimento a 37 °C.

En todas las gráficas, se observa que, en el primer día de liberación, hay una mayor cantidad de progesterona que se libera con respecto a los demás días, tal fenómeno se le conoce como efecto de estallido. - Esto ocurre porque la hormona es liberada al comienzo del experimento - de un golpe, y hasta que no se establezca un gradiente de concentración

constante con el tiempo, hasta entonces no se liberará una cantidad de progesterona constante (14).

Como podemos ver, los estudios realizados son semejantes al que se realizó con el dispositivo con duración de tres años y los datos obtenidos son semejantes en su comportamiento al dispositivo de un año, sobre todo el estudio realizado con los diferentes sistemas de agitación (14), ya que si se comparan las gráficas de las páginas anteriores con las gráficas obtenidas en el presente trabajo, se notará una gran semejanza.

En los estudios realizados "in vitro", vemos que el sistema no se comporta como un sistema de acción sostenida, es decir, no libera una cantidad "X" de progesterona en determinado tiempo y la mantiene durante todo el tiempo que dura el gradiente de concentración constante, sino que una vez que se produce el efecto de estallido, la concentración de progesterona va descendiendo gradualmente hasta terminar la reserva de la hormona, y esto es debido a las variables del experimento, ya que con esas variables (60 °C y agitación), estamos acelerando la liberación de progesterona. En cambio, "in útero", el sistema sí mantiene una liberación de progesterona constante durante los tres años que dura la reserva de progesterona, ya que eso es esencial para que se produzca el efecto anticonceptivo de una manera eficaz.

En el primer experimento realizado, se dejó liberar toda la progesterona que contenía el dispositivo, para conocer el tiempo requerido en liberarse los 52 mg de progesterona y para conocer el tiempo en que se liberaban los 33 mg, mismos que se liberan en tres años "in situ". Como podemos ver, la cantidad liberada en un día en un sistema de tres años, es mucho menor que la cantidad liberada en un sistema de un año, en don

de se liberaban 65 mcg diarios; en el dispositivo de tres años, sólo se liberan 30 mcg diarios y la acción anticonceptiva sigue siendo eficaz, ya que esa cantidad, por pequeña que sea, es mucho menor a la progesterona producida por el organismo de una mujer en un día, y porque según estudios realizados, son suficientes 10 mcg de progesterona para obtener una acción anticonceptiva eficaz (3).

Se observó entonces, que para liberar en las condiciones de experimentación los 33 mg de progesterona, que "in vivo" se liberarían en tres años, en el experimento sólo se requirieron 29 días, y tomando esto como base, los siguientes experimentos sólo se llevaron a cabo durante un mes y de ahí se extrapoló a lo que sucedería "in vivo", y qué cantidad se liberaría durante el primero, segundo y tercer años de uso del sistema.

El resto de la progesterona dentro del dispositivo solo sirve para que la difusión del principio activo sea garantizada en tiempo y cantidad, y que el sistema siempre obre por un mecanismo de difusión simple, que pasa de un medio de mayor concentración a uno de menor concentración, sin liberar o utilizar energía.

En el primer experimento tuvimos mucha variación en los resultados, ya que en un principio, las muestras se leían en el espectrofotómetro diariamente, con un estándar nuevo cada día, y las principales variables que influyeron fueron: el voltaje, la temperatura y por supuesto los posibles errores humanos cometidos al realizar las diluciones, por lo que en los siguientes experimentos, las muestras fueron leídas hasta terminar cada experimento, teniendo un solo estándar de referencia, con una sola temperatura ambiental y con un solo voltaje, guardando las --

muestras en el refrigerador bien tapadas y protegidas de la luz, para asegurarnos de que nada las contaminara o que el principio activo se degradara con el paso del tiempo, cosa muy poco probable, ya que la progesterona es mucho muy estable debido a su estructura química y sólo hay que cuidar que no le dé la luz; ésta estabilidad la comprobamos al leer las muestras un mes después de iniciado el experimento. Con estas precauciones, se eliminó casi por completo la variación de resultados que se obtuvo en el primer experimento, por lo que los resultados fueron mucho más fidedignos.

Después se llevaron a cabo otros tres experimentos, en los cuales se observó que el dispositivo siempre se comportó del mismo modo, descendiendo gradualmente la concentración liberada de progesterona hasta que terminara el tiempo de experimentación.

En el último experimento hubo cierta variación en la velocidad de liberación de la progesterona, debido a cinco errores humanos cometidos durante el transcurso del experimento, y que interpretamos de la siguiente manera:

en la gráfica se observa que después de uno de los errores, se nota un descenso en la velocidad de liberación de la progesterona, y al siguiente día hay un aumento, por lo que podemos decir que al dejar un dispositivo liberándose dos días seguidos en la misma solución, en ésta ya había una cantidad más alta de hormona y entonces la liberación de la progesterona por la membrana se hizo más lenta, y se liberaba una menor cantidad en la solución, y después, al cambiar esa solución de dos días, la difusión era mayor y por eso la cantidad liberada de progesterona después aumenta, para posteriormente seguir la misma ten

dencia que se tenía antes de ese error.

Sin embargo, el comportamiento de los experimentos es similar y podemos calcular un promedio de los tres experimentos que son los que menos variaciones tuvieron, y cuyos resultados de desviación estándar ya se han dado a conocer.

Uno de los principales objetivos de este trabajo fue el de calcular y extrapolar la cantidad de progesterona liberada en cada uno de los tres años de duración del sistema, por lo que podemos suponer que, si en tres años se deben liberar sólo 33 mg de progesterona, en un año de uso se habrán liberado 11 mg de progesterona y después del segundo, se habrán liberado 22 mg de progesterona. Tomando como base estos datos y calculando la cantidad de progesterona liberada hasta cumplir con las cantidades ya especificadas, podemos hacer la extrapolación de la siguiente manera:

DIA	CANTIDAD LIBERADA EN EL PRIMER EXPERIMENTO
7o.	10.7135 mg de progesterona
16o.	21.8360 "
29o.	33.2961 "

DIA	CANTIDAD LIBERADA EN EL SEGUNDO EXPERIMENTO
7o.	10.9910 mg de progesterona
15o.	21.5393 "
25o.	33.2857 "

DIA	CANTIDAD LIBERADA EN EL TERCER EXPERIMENTO	
8o.	11.5092	mg de progesterona
17o.	22.2509	"
28o.	33.1449	"

DIA	CANTIDAD LIBERADA EN EL CUARTO EXPERIMENTO	
8o.	11.4424	mg de progesterona
17o.	22.1506	"
27o.	33.8223	"

Como se puede ver, las cantidades liberadas requeridas, concuerdan en los cuatro experimentos y en los días requeridos para que se liberen esas cantidades, por lo que con estos datos podemos hacer un promedio - obteniendo los siguientes resultados:

PROMEDIO DE LIBERACION DE LOS CUATRO EXPERIMENTOS (60 °C).

DIA	CANTIDAD LIBERADA DE PROGESTERONA (PROMEDIO)	
7.5	11.1640	mg
16.25	21.9467	mg
27.25	33.1372	mg

Estos datos los podemos especificar así:

VELOCIDAD DE LIBERACION (MG/DIA)	DIA	CANTIDAD LIBERADA DE PROGESTERONA (PROMEDIO)
1.40005 mg/día	8o.	11.164025 mg
1.07670 "	16o.	21.946717 mg
0.95890 "	27o.	33.137260 mg

Estos datos concuerdan con las cantidades liberadas in vivo después de tres años:

LIBERACION A 37 °C.

VELOCIDAD DE LIBERACION POR DIA: 30 MCG.

DIAS	AÑOS	CANTIDAD LIBERADA
365	1o.	11.0 mg (10.95 mg)
730	2o.	22.0 mg (21.90 mg)
1095	3o.	33.0 mg (32.85 mg)

También se realizaron gráficas de los porcentajes residuales de progesterona que iba quedando en el dispositivo, lo cual nos da una linealidad mucho mayor que las gráficas de velocidad de liberación, confirmando con esto, el comportamiento del sistema intrauterino, de que a las condiciones dadas la progesterona se libera gradualmente y de manera lineal, y también nos sirve para calcular la cantidad de progesterona que se liberó en los días de experimentación, para determinar la cantidad exacta de hormona que había dentro del dispositivo, es decir, de 52 mg \pm 5%. Todos estos datos ya se han reportado en los resultados y se ha visto que la calidad del producto es buena, ya que todos los dispositivos utilizados, contenían la cantidad de progesterona requeridos para obtener una acción farmacológica eficaz.

CONCLUSIONES.

Podemos concluir finalmente, que el objetivo del presente trabajo se cumplió, ya que buscábamos un método analítico fácil y confiable para checar la liberación de la progesterona de un sistema de tres años - para así poder conocer la cantidad liberada en cada uno de los años y - ver si correspondía con la liberación "in vivo", esto, con el fin de - que el análisis se llevara a cabo en un tiempo razonable como un con - trol de calidad de este producto y que asegurara la calidad y efectivi - dad del mismo antes del embarque del producto.

Concluimos, en base a los resultados obtenidos, que el tiempo de - experimentación requerido a las condiciones dadas, es decir, a 300 revo - luciones por minuto, 60 °C y 23.91 horas de agitación al día, es de 27 - días para que se libere la cantidad de progesterona que "in vivo" tarda - ría tres años en ser liberada a 37 °C.

Para lograr datos confiables y reales es necesario cuidar muy bien de todas y cada una de las variables que afectan el experimento como - son:

- temperatura a 60 °C \pm 1 °C, ya que se nota una enorme variación en - los resultados al no tener la temperatura correcta dentro de la solu - ción experimental.
- velocidad de agitación, puesto que la liberación de la progesterona - será más lenta si no se tiene checado el agitador, y también si no se calibra antes de iniciar el experimento con un estroboscopio, por lo - que se corre el riesgo de que no esté calibrado y varíe la velocidad - de agitación, dando una gran variabilidad en los datos.
- el tiempo de agitación por día es importantísimo, ya que se debe fi -

jar una hora y un tiempo determinado de agitación diaria, ya que con unos minutos de más o de menos, la cantidad liberada variará y nos dará errores en el experimento, como sucedió con el último.

- pureza de los reactivos utilizados en el experimento como son el metanol y agua destilada hervida, ya que pueden agolparse burbujas de aire en la superficie de liberación, que aunque son pequeñas, si son indeseables, cosa que sucedió durante la experimentación, razón por la cual se recomienda para experimentos futuros, hervir el agua destilada antes de usarla para expulsar el aire y después enfriarla a 60°C , ya que a esa temperatura se usará durante la experiencia.
- factores como son la variación del voltaje en el aparato de lectura, ya que en el primer experimento, las variaciones observadas en la respectiva gráfica, son debidas a este factor, razón por la cual en los siguientes experimentos realizamos todas las lecturas de todas las muestras una vez que el tiempo de experimentación hubiese concluido. Si se pudiera adaptar un regulador de voltaje al aparato o teniendo un aparato en el que no influyeran las variaciones del voltaje, los datos resultarían mucho más fidedignos.
- un estricto control de calidad de los dispositivos, para asegurar que la cantidad de progesterona es realmente de $52\text{ mg} \pm 5\%$, ya que de ello depende el éxito del dispositivo.

Estas son en sí las principales variables que se deben controlar para asegurar el éxito del método analítico que se desarrolló en el presente trabajo para fines de control de calidad en la Industria Farmacéutica, y se recomienda para futuros experimentos realizar un mayor número de pruebas, para determinar también el límite de variabilidad, el cual no se determinó aquí, por solo ser cuatro experimentos. (deben ser 7).

RESUMEN.

Se ha desarrollado un nuevo sistema anticonceptivo intrauterino -- liberador de progesterona que tiene una duración de tres años. La velocidad de liberación "in vivo" de este sistema es de 30 mcg/día de progesterona, la cual es más que suficiente para llevar a cabo su acción anticonceptiva eficaz.

En el presente trabajo se determinó la velocidad de liberación "in vitro" teniendo dos variables principales: velocidad de agitación y temperatura, con el fin de extrapolar estos resultados de una manera confiable a las velocidades de liberación "in vivo", sin tener que recurrir a un sistema experimental sofisticado y cuyos resultados fueran similares para poder ser utilizado en la industria.

El sistema de agitación utilizado fue un lighting con una velocidad de agitación de 300 rev/min; un matraz erlenmeyer que contiene el dispositivo intrauterino fijo con un alambre de acero sumergido en agua destilada precalentada a 60 °C.

El tiempo de experimentación necesario para que la progesterona se libere en el lapso de tres años "in vivo" fué de 27 días, extrapolarlo de la siguiente manera:

DIA	VELOCIDAD DE LIBERACION MG/DIA	CANTIDAD LIBERADA ACUMULADA
8o.	1.40005	11.164025 mg de progesterona
16o.	1.07670	21.946717 "
27o.	0.95890	33.137260 "

Estos resultados corresponden al 1o., 2o. y 3er. año de liberación "in vivo" respectivamente.

BIBLIOGRAFIA.

1. ALZA CORPORATION; Funcionabilidad del Sistema Progestasert, 65 mcg/-
día por un Año; Alza Corporation; Pag. 1002-1130. Inglés
2. AZNAR RAMOS, R., PHARRIS, B.B. Y MARTINEZ MANAUTOU, J.; Un Año de Ex-
periencia con Diferentes Velocidades de Liberación de Progesterona -
Liberada del Sistema de CIntracepción; Fertil Steril.; 25; Pag. 308;
(1974). Español
3. AZNAR RAMOS, R., LOZANO, M., MARTINEZ MANAUTOU, J.; Anticoncepción -
Con Sistemas de Liberación Intrauterina de Progesterona; Ginec. - -
Obset.; 37; No. 220; Pag. 69-81; (1975). Español
4. BARRIE H.; Congenital Malformation Associated with Intrauterine Con-
traceptive Device; British Medical Journal; 1; Pag. 488-490; (1976).
Inglés
5. BENSON H., PhD, GORDON L., PhD, MITCHELL C. y PLACE V., MD.; Educa-
ción del Paciente y Contracepción Intrauterina: Un Estudio de Dos Lo-
tes de Inserciones; A.J.P.H.; 67; No. 5; Pag. 446-449; (1977). Inglés
6. BEVAN A. J., Fundamentos de Farmacología, Capítulo 48, Anticoncepti-
vos Orales, Pag. 376-383, 2a. Edición, Editorial Harla, México, 1978.
7. CONNELL, E.B.; The Uterine Therapeutic System: A New Approach to Fema-
le Contraception; Contem. Ob/gyn.; 6; Pag. 49- 55; (1975). Inglés
8. DEVELOPEMENT OF THE UTERINE THERAPEUTIC SYSTEM; Contem. Ob/Gyn.; 3;
No. 5. Inglés
9. EDMONSON A.H., MD., REYNOLDS T. B. MD., HENDERSON B., MD.; Regre-
sion of Liver Cell Adenomas Associated with Oral Contraceptives; A-
nnals of Internal Medicine; 86; No. 2; (1977). Inglés
10. GOODMAN S. L. MD., The Pharmacological Basis of Therapeutics, Capítu

lo 68, Estrogens and Progestins, Pag. 1423-1447, 5a. Edición, MacMillan Publishing Co., Inc., USA, (1975).

11. GREENBLATT R.MD., ASCH RICHARD MD., MAHESH B.V. PhD, BRYNERR J. MD. Implantation of Pure Crystalline Pellets of Estradiol for Conception Control; Am. J. Obs/Gyn.; 127; No. 5; Pag. 520-524; (1977).

Inglés

12. GREENBLATT B. R. MD., BRYNER R.J. MD.; Estradiol Pellets Implantation Management of Menopause; The Journal of Reproductive Medicine for the Obstetrician and Gynecologist; 18; No. 6; Pag. 307-315; -- (1977).

Inglés

13. GYOSO G.; Progesterone Releasing Intrauterine Contraceptive Device; Am. J. of Obs/Gyn.; 124; Pag. 214-215; (1976).

Inglés

14. KAZUHIKO JUNI, MASAHIRO N. Y TAKAICHI A.; Velocidades de Liberación del Sistema Intrauterino Liberador de Progesterona; Yakuzaigaku; -- Pag. 129-134; (1976).

Japonés

15. LOEWIT K, MD.; In Vitro Immobilization of Human Spermatozoa with Hydroxypropylmethylcelulosa; 15; No. 2; Pag.233-237; (1977).

Inglés

16. MARTINEZ MANAUTOU J.; Low Dose Progestational Steroids; Excerpta Medica/American Elsevier; Pag. 18-24 y 970-973; No.273; (1972)

Inglés

17. MARTINEZ MANAUTOU J. Y AZNAR RAMOS, R.; Low Dose Progestational Steroids; Australian and New Zeland Journal of Obs/Gyn; Pag. 14-18; -- (1972).

Inglés

18. MARTINEZ MANAUTOU J., CORREU AZCONA, S., AZNAR RAMOS R.; Experiencia en México con el Sistema Hormonal Intrauterino Progestasert -- (Tres Años de Estudio); Revista Mexicana de Ginecología y Obstetricia; (1979).

Español

19. MICHELS A.S., PHARRIS BRUCE B.; Controlled Intrauterine Drug Administration: A Novel Approach to Safe and Effective Contraception; World Health Organization Conference; Pag. 18-20; (1972). Inglés
20. MONOGRAFIA CLINICA; Resumen de los Estudios Realizados con Progesta sert, Sistema Anticonceptivo Hormonal Intrauterino; Pag.1-35 Español
21. NEBEL A. W., MD., CURRIE L. J. , MD., LASSITER E. R. ; Clinical Experience with the Copper- 7 Intrauterine Contraceptive Device; American Journal of Obs/Gyn.; 126; No. 5; Pag. 586-589; (1976). Inglés
22. PHARMACOPEIAL CONVENTION, INC.; Fifth Supplement to USP XIX and NF XIV; Drugs Substances and Dosage Forms, Progesterone; Pag.155-156; The United States Pharmacopeial Convention; Rockville;(1979).
23. PHARRIS B. Y ERICKSON, R.; Bases para la Investigación de un Anticonceptivo Intrauterino; Sociedad Mexicana de Gin/Gyn;(1975) Español
24. RICHARDSON K. MD.; Membrane Controlled Drug Delivery; American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology; (1974). Inglés
25. ROSADO A., HICKS J.J., AZNAR RAMOS R. y MERCADO E.; Intrauterine -- Contraception with the Progesterone - T Device; Contraception; 9; - Pag. 39-51; (1974). Inglés
26. RYDER B. N.; Contraceptive Failure in the United States; Familiar - Plannification Perspective;5; No. 3; Pag. 133-142; (1973). Inglés
27. RUIZ VELASCO, V. e ILLANES AMURRIO S.; Experience with the Use of - Active and Inert Intrauterine Devices and their Action on the Uterus; Endometrium and Vaginal Cytology; Journal of Steroids Biochemist; 6; Pag. 377-378; (1974). Inglés
28. SIN AUTOR; Un Microgramo de Prevención; Coronet; Mayo; (1973). Inglés
29. STUBBLEFIELD G. P., MD.; Vaginal Silastic Device Containing 0.25% -

- 15 (S)-15 Methyl Prostaglandin F₂ Alfa Methyl Ester for Early Second Trimester Abortion; Dept. de Gyn/Obs. de Harvard; 15; No.2; -- Pag. 175-181; (1977). Inglés.
30. TRYBAL R.; Mass Transfer Operations, Capítulo 2; Difusión Molecular en Fluidos; Pag. 17; 2a. Edición; Ed. MacGraw-Hill; Tokio,(1970).
31. TSENG L. y GURPIDE E.; Effects of Progestins on Estradiol Receptor Levels in Human Endometrium; Journal of Clinic Endocrinology; 41; - Pag.402-404; (1975). Inglés
32. ZAFFARONI A.; Contraception by Intrauterine Release of Steroids; J. Steroid; 6; Pag. 883; (1975). Inglés