



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

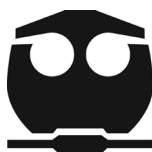
ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN A
pH 1.2 DE DOS PRODUCTOS COMERCIALES
CONTENIENDO DEXAMETASONA
CUANTIFICADOS POR HPLC

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

LUZ MARÍA GARCÍA RAMÍREZ



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Jurado asignado:

Presidente	Inés Fuentes Noriega
Vocal	Helgi Helen Jung Cook
Secretario	Sofía Margarita Rodríguez Alvarado
1er. Suplente	María de Lourdes Mayet Cruz
2º. Suplente	Luis Jesús García Aguirre

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 112 y 113 edificio E, Facultad de Química, UNAM.

Nombre completo y firma del asesor del tema

Dra. Inés Fuentes Noriega

Nombre completo y firma del sustentante

Luz María García Ramírez

Agradecimientos

Proyecto PAPIME No PE205805

Facultad Química PAIP 6390-05

Agradecimientos

A Dios y a la Virgen María por acompañarme y ayudarme a lo largo de mi vida.

A mis padres Tereso y Mónica por estar junto a mí.

A Felipe por su amor y comprensión.

A mis hermanos Gaby y Toño, a mis amigos incondicionales Perla, Jose y Pilar por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A la Dra Inés Fuentes por permitirme realizar mi tesis en su laboratorio y apoyarme durante todo este proceso tan importante.

A mis compañeros de la carrera y del laboratorio de biofarmacia, fue un placer trabajar con ustedes.

Índice

Índice

1.0	Introducción	1
1.1	Objetivos.....	2
2.0	Antecedentes.....	3
2.1	Disolución	4
2.1.1	Definición.....	5
2.1.2	Velocidad de Disolución	6
2.1.3	Perfiles de Disolución	8
2.1.3.1	Manejo de datos y evaluación del Perfil de Disolución	10
2.2	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	12
2.2.1	Correlación In Vitro/In Vivo(IVIC por sus siglas en inglés)	13
2.2.2	Bioexención	13
2.3	Cromatografía.....	15
2.3.1	HPLC	16
2.4	Validación de un Método Analítico.....	19
2.5	Monografía de la Dexametasona	22
3.0	Parte Experimental.....	28
3.1	Material.....	29
3.1.1	Sustancia de referencia.....	29
3.1.2	Reactivos.....	29
3.1.3	Equipo utilizado	29
3.2	Medicamentos estudiados.....	30
3.3	Pruebas de control de calidad.....	30
3.3.1	Peso promedio	30
3.3.2	Valoración.....	30
3.4	Preparación del medio de disolución.....	32
3.5	Validación del Método Analítico.....	33
3.5.1	Validación del Sistema	33
3.5.1.1	Linealidad	33
3.5.1.2	Precisión.....	34
3.5.2	Validación del Método	35

Índice

3.5.2.1	Linealidad	35
3.5.2.2	Precisión.....	36
3.5.2.2.1	Repetibilidad.....	36
3.5.2.2.2	Reproducibilidad.....	37
3.5.2.3	Exactitud.....	37
3.5.2.4	Especificidad	37
3.5.3	Estabilidad de la muestra	38
3.5.4	Influencia del filtro.....	38
3.6	Perfiles de disolución.....	39
4.0	Resultados y análisis de resultados	42
4.1	Pruebas de control de calidad.....	43
4.1.1	Peso promedio	43
4.1.2	Valoración.....	43
4.2	Validación del Método Analítico.....	43
4.2.1	Validación del Sistema	43
4.2.1.1	Linealidad	43
4.2.1.2	Precisión.....	45
4.2.2	Validación del Método	45
4.2.2.1	Linealidad	45
4.2.2.2	Precisión.....	47
4.2.2.2.1	Repetibilidad.....	47
4.2.2.2.2	Reproducibilidad.....	48
4.2.2.3	Exactitud.....	49
4.2.2.4	Especificidad	50
4.2.3	Estabilidad de la muestra	53
4.2.4	Influencia del filtro.....	53
4.3	Perfiles de disolución.....	54
5.0	Conclusiones	57
6.0	Bibliografía.....	59

Índice de figuras

Figura 1. Proceso de Disolución.....	6
Figura 2. Aparato I USP.....	9
Figura 3. Cromatógrafo de Líquidos de Alta resolución.....	18
Figura 4. Sistema Desgasificador.....	32
Figura 5. Linealidad del sistema de Dexametasona en medio HCl 0.1N, pH = 1.2.....	44
Figura 6. Comparación de la linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de Dexa-Grin lote 61066 y Alin Lote ZFG601.....	47
Figura 7. Barrido espectrofotométrico de Dexametasona y de los dos productos validados.....	51
Figura 8. Cromatograma de Estándar de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N.....	51
Figura 9. Cromatograma de tabletas de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N del producto Dexa-grin lote 61066.....	52
Figura 10. Cromatograma de tabletas de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N del producto Alin lote ZFG601.....	52
Figura 11. Perfil de disolución comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos lotes diferentes del producto comercial Dexagrín.....	55
Figura 12. Perfil de disolución comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos lotes diferentes del producto comercial Alin.....	56
Figura 13. Perfil de disolución promedio comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de los dos productos comerciales.....	56

Índice de tablas

Tabla 1. Solubilidad de la Dexametasona.....	22
Tabla 2. Tratamiento y dosis vía oral de Dexametasona para Adultos.....	26
Tabla 3. Tratamiento y dosis vía oral de Dexametasona para niños y Adultos.....	27
Tabla 4. Medicamentos a estudiar y sus respectivos lotes.....	30
Tabla 5. Preparación de la curva de calibración.....	34
Tabla 6. Resultados de Peso promedio de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos productos comerciales.....	43
Tabla 7. Resultados de la valoración de dos productos comerciales que contienen tabletas de Dexametasona 0.5 mg.....	43

Índice

Tabla 8.	Linealidad del sistema de Dexametasona en medio HCl 0.1 N, pH1.2	44
Tabla 9.	Precisión del sistema de la Dexametasona en medio HCl 0.1 N, pH1.2	45
Tabla 10.	Linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote 61066	46
Tabla 11.	Linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.....	46
Tabla 12.	Repetibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexagrin lote61066	47
Tabla 13.	Repetibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.....	48
Tabla 14.	Reproducibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote61066	48
Tabla 15.	Reproducibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.....	49
Tabla 16.	Exactitud del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote61066	49
Tabla 17.	Exactitud del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.....	50
Tabla 18.	Longitudes de onda de un barrido espectrofotométrico de los diferentes productos que contienen Dexametasona.....	50
Tabla 19.	Estabilidad de la Dexametasona a 37 °C a diferentes tiempos de muestreo	53
Tabla 20.	Influencia del filtro de teflón a dos concentraciones diferentes de Dexametasona	54
Tabla 21.	Resultados de los perfiles de Disolución de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, obteniéndose el %Disuelto del producto comercial de Dexa-Grin de los diferentes lotes	54
Tabla 22.	Resultados de los perfiles de Disolución de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, obteniéndose el %Disuelto del producto comercial de Alin de los diferentes lotes.....	55

1.0

Introducción

La dexametasona es un glucocorticoide sintético que se emplea frecuentemente como antiinflamatorio y antialérgico.

La OMS (Organización Mundial de la Salud) considera a este fármaco de alta solubilidad pero en permeabilidad aun no esta exactamente establecido por lo cual dentro de la clasificación biofarmaceutica puede ser clase I o III. La guía de la FDA “Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence Studios for Inmediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutis Classification System” propone su bioexención, esto es exentar a un nuevo medicamento genérico de clase I o III de pruebas de bioequivalencia si su comportamiento a tres pH diferentes en la prueba *in Vitro* de Disolución muestra una velocidad rápida, es decir, un % de disolución arriba de 85% antes de los 15 minutos.

Se realizó por lo tanto el estudio de Perfil de Disolución bajo las siguientes condiciones: Disolutor aparato I (USP) a 100 rpm, 37 °C y en medio de disolución HCl 0.1N simulando el fluido gástrico del estómago.

1.1 Objetivos.

- ▶ Desarrollar un método analítico para cuantificar la Dexametasona por HPLC en HCl 0.1N.
- ▶ Validar el método analítico para cuantificar la Dexametasona.
- ▶ Realizar Perfiles de Disolución y comparar dos productos comerciales (tabletas). Conteniendo 0.5mg de Dexametasona en medio HCl 0.1N a pH 1.2.

2.0

Antecedentes

2.1 Disolución.

En 1897 Noyes y Whitney realizaron los primeros experimentos de disolución utilizando vasos de vidrio que contenían agua, giraban a una velocidad y una temperatura constante; publicaron el artículo "The rate of solution of solid substances in their own solutions". Durante la primera mitad del siglo XX se hicieron propuestas acerca de las metodologías de disolución entre las cuales se encuentra el método de Filleborn donde simula condiciones del estómago como son el pH y presencia de comida.¹

Fue hasta 1970 cuando la United States Pharmacopeia (USP) y el Nacional Formulary introducen el aparato 1 USP y en 1978 el aparato 2 USP para la disolución. Destacando también que la primera guía de Disolución para formas sólidas fue publicada en 1981 por Section for Official Laboratories and Medicines control Services and the Section of Industrial Pharmacists of the FIP (Federation International Pharmaceutical).

A partir de 1980 la disolución llegó a ser esencial para el desarrollo y evaluación de formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata. En esa época se hicieron ciertas consideraciones para simular in Vitro las condiciones in vivo como son: pH cercano a 1 para el estómago, pH's entre 4-5 para el duodeno y gradualmente incrementa el pH a alcalino por el tracto intestinal restante.

Entre los años 1980-2000 se consideró que la disolución era una herramienta que podía pronosticar la absorción del principio activo. Ya que para su absorción se necesita que esté soluble y sea permeable en las diferentes regiones del cuerpo humano. De aquí se originó el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.¹

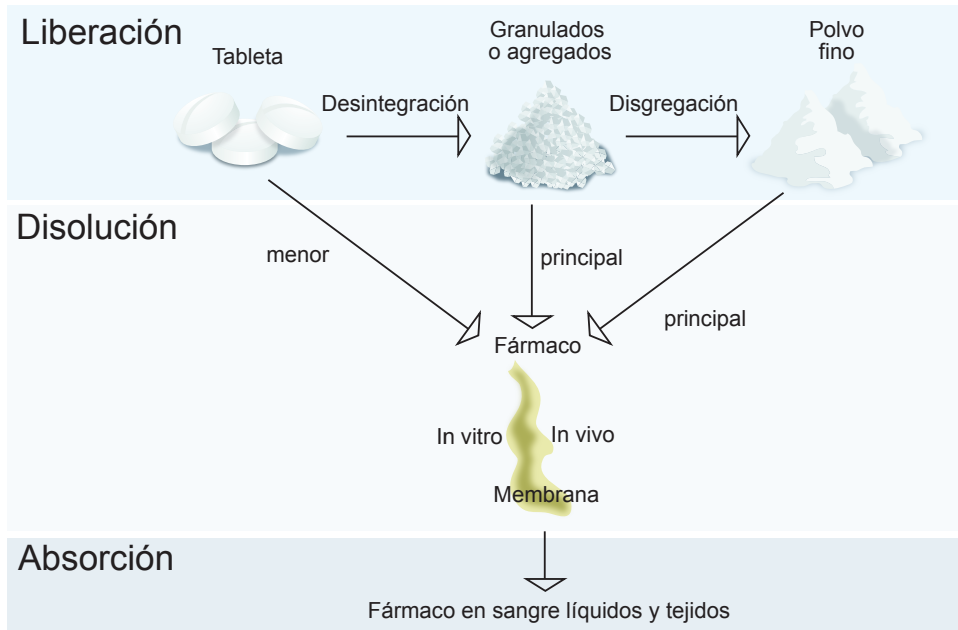
2.1.1 Definición.

Se define disolución como un proceso por el cual un sólido interacciona con un solvente para dar una solución en la cual existe una transferencia de masa. ²

La disolución por lo tanto proporciona información acerca de las características de un fármaco y estas sirven para analizarlo desde su síntesis definiendo adecuadamente las propiedades fisicoquímicas para desarrollar la mejor forma farmacéutica, utilizar los excipientes correctos en su formulación y la evaluación de este producto en su proceso de elaboración. También se utiliza para control de calidad, por ejemplo si hay diferencias entre los datos de la prueba de disolución en dos lotes diferentes indica que algo está fallando ya sea la materia prima, la formulación no es la correcta o el proceso se está realizando inadecuadamente. Finalmente en un medicamento es importante el proceso de disolución porque controla la velocidad de absorción y la cantidad del fármaco disponible en el cuerpo.^{3,4,5}

El proceso de disolución consta de varios pasos importantes que son la liberación, la disolución y la absorción del fármaco. ^{2,6}

Figura 1. Proceso de Disolución.



2.1.2 Velocidad de disolución.

La velocidad de disolución es la cantidad de sustancia que se disuelve por unidad de tiempo bajo condiciones controladas de interfase sólido/líquido, temperatura y composición del solvente.

Los factores que afectan la velocidad de disolución se dividen en:

1. Las propiedades fisicoquímicas del fármaco.
 - ▶ Solubilidad
 - ▶ Tamaño de partícula
 - ▶ Estado cristalino o amorfo
 - ▶ pKa
 - ▶ Porosidad

- ▶ Densidad
- 2. La formulación.
 - ▶ Diluyentes y desintegrantes
 - ▶ Fijadores y agentes de granulación
 - ▶ Lubricantes
 - ▶ Factores de procesamiento
 - ▶ Fuerza de compresión
- 3. El medio de disolución.
 - ▶ Temperatura
 - ▶ pH
 - ▶ Tensión superficial
 - ▶ Viscosidad
 - ▶ Fuerza iónica
- 4. El equipo utilizado para su evaluación.⁷
 - ▶ Tipo de aparato
 - ▶ Volumen del disolvente
 - ▶ Capacidad
 - ▶ Velocidad de agitación
 - ▶ Vibraciones del equipo
 - ▶ Eje que sostiene las canastillas o las paletas
 - ▶ Recipiente
 - ▶ Muestreo
 - ▶ Control de temperatura
- 5. Factores del tracto gastrointestinal.⁷
 - ▶ Presencia o ausencia de alimentos
 - ▶ pH

- ▶ Fuerza iónica
- ▶ Enzimas

2.1.3 Perfiles de disolución.

El Perfil de disolución es la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a diferentes tiempos, en condiciones experimentales controladas a partir de la forma farmacéutica, gráficamente se observa una curva sigmoideal.³

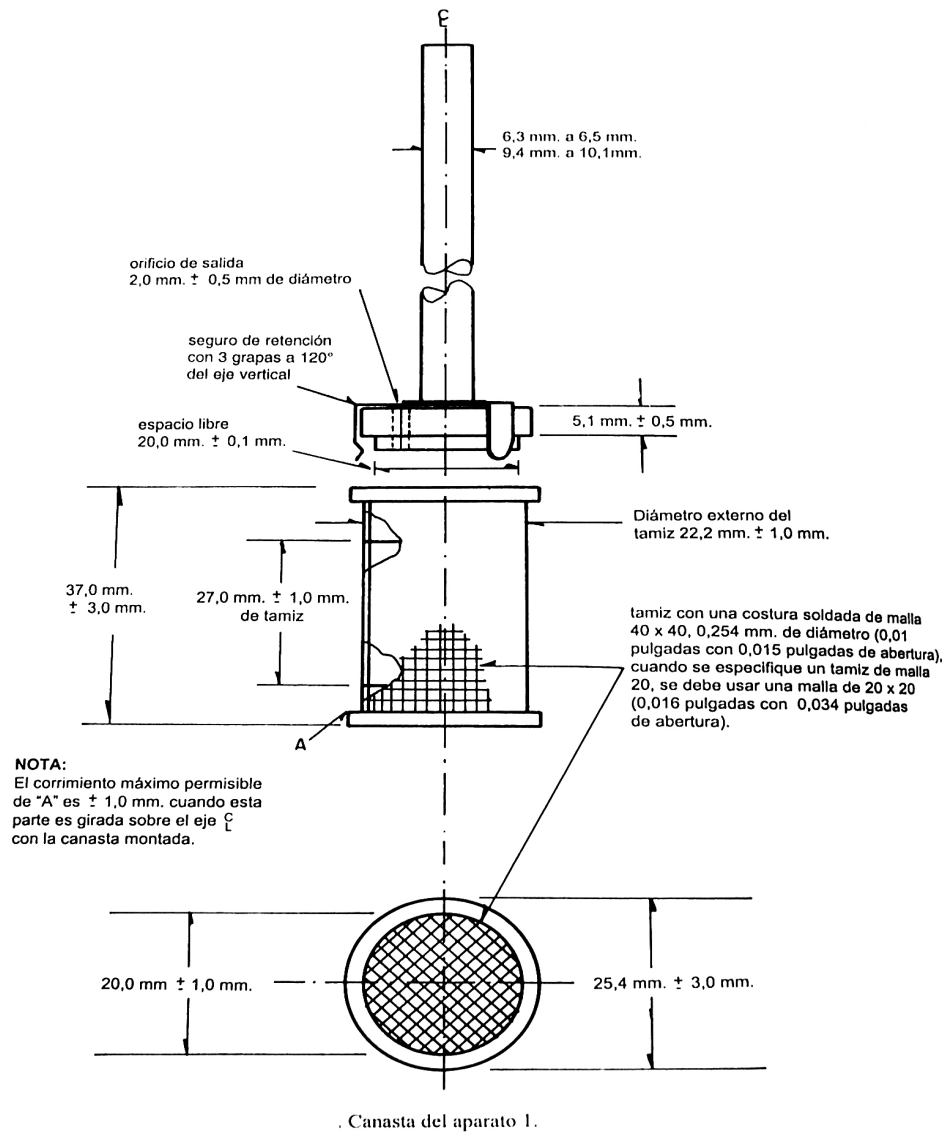
Es la prueba de disolución más utilizada para la caracterización de los fármacos y pruebas de control de calidad.

Esta prueba se realiza según lo especificado en la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos), si este método que maneja la misma se modifica o es nuevo debe estar previamente validado.

Antes de realizar los perfiles de disoluciones se debe revisar que el equipo cumpla con las especificaciones que se marcan en el Método General de Análisis 0291 de la FEUM⁸ y que cumpla con los criterios de calibración. Los equipos que se manejan son Aparato 1 (canastas) a 100 r.p.m. o el Aparato II (paletas) a 50 r.p.m. en ambos se emplea un volumen de 900 mL con los diferentes medios de disolución según la monografía de la FEUM correspondiente. Para una posible bioexención la FDA maneja tres medios de disolución que son:⁹

1. Solución de HCl 0.1 N a pH 1.2.
2. Solución amortiguadora a pH 4.5.
3. Solución amortiguadora a pH 6.8.

Figura 2. Aparato I USP.¹²



La prueba de Perfil de disolución se lleva acabo según la NOM-177-SSA1-1998:¹⁰

1. Se toman 12 unidades tanto para el medicamento de prueba como para el medicamento de referencia, bajo las mismas condiciones.
2. Si el medicamento tiene más de un principio activo se debe realizar la prueba para cada uno de ellos.
3. Se deben tomar mínimo cinco tiempos de muestreo, excepto el cero. Dos puntos estarán en la meseta de la curva y los otros tres distribuidos en la fase ascendente y de inflexión.
4. La toma de muestra debe hacerse exactamente conforme a los tiempos establecidos con una variación máxima de 15 segundos.
5. El volumen extraído puede ser o no reemplazado, el volumen total extraído no debe ser mayor al 10%. Se debe tomar en cuenta estos detalles para los cálculos posteriores.
6. Se analiza la muestra mediante el método previamente validado.

2.1.3.1 Manejo de datos y evaluación del perfil de disolución.^{10,11}

Se realizan curvas de calibración para poder interpolar los resultados obtenidos en los tiempos de muestreo, posteriormente se obtiene el porcentaje disuelto a cada tiempo de muestreo con respecto a la dosis nominal. Se obtienen los porcentajes disueltos promedio y el coeficiente de variación. Se grafican los porcentajes disueltos para cada medio de disolución con respecto al tiempo. La comparación de los perfiles de disolución se determina al calcular la diferencia de un perfil de disolución de un medicamento de prueba con respecto al de referencia, realizados exactamente bajo las mismas condiciones de prueba, a través del factor

Antecedentes

de similitud f_2 si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual al 10% para los tiempos subsecuentes. Se considera que son similares si el factor de similitud f_2 esta entre 50 y 100.

$$f_2 = 50 * \text{Log} \{ [1 + (1/n)_n^{T=1} (RT-PT)^2]^{-0.5} * 100 \}$$

Donde:

n= numero de tiempos de muestreo.

Rt= porcentaje disuelto al tiempo t del medicamento de referencia.

Pt= porcentaje disuelto al tiempo t del medicamento de prueba.

2.2 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico es una estructura que divide al fármaco tomando como base su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal.¹³

La clasificación es la siguiente:

Clase I	Alta solubilidad - Alta permeabilidad
Clase II	Baja solubilidad - Alta permeabilidad
Clase III	Alta solubilidad - Baja permeabilidad
Clase IV	Baja solubilidad - Baja permeabilidad

Solubilidad

Un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis más alta es soluble en 250 mL o menos en medios acuosos en el rango de pH de 1-7.5 a una temperatura de 37 ± 1 °C.⁹

Permeabilidad

La permeabilidad se evalúa por estudios farmacocinéticos como balance de masa o métodos de permeabilidad intestinal como son perfusión intestinal en humanos, modelos animales o en líneas celulares. En todos los casos se mide la fracción absorbida.⁹

La FDA⁹ maneja otro parámetro a evaluar que es la disolución, esta se clasifica en rápida y muy rápida disolución, se considera que es de rápida disolución cuando no menos del 85% de la cantidad marcada en el marbete se disuelve en 30 minutos usando el aparato I a 100 r.p.m. o el aparato II a 50 r.p.m. en un volumen de 900 mL en tres medios que son HCl 0.1N simulando el fluido gástrico sin enzimas, a pH 4.5 y pH 6.8 simulando el fluido intestinal sin enzimas. Además puede ser de muy

rápida disolución que se disuelve no menos del 85% en 15 minutos bajo las mismas características antes mencionadas.^{14,19}

2.2.1 Correlación in vitro/in vivo (IVIVC por su siglas en inglés)

Se define como un modelo matemático que describe la relación entre las propiedades in vitro y la respuesta in vivo.^{15,21}

Su utilidad radica en que un estudio in vitro como es la disolución puede sustituir un estudio de bioequivalencia bajo ciertos criterios, permitiendo reducir el costo y el tiempo para desarrollar un nuevo producto, además de ser una herramienta útil para justificar la bioexención de ciertos productos farmacéuticos.¹⁶

2.2.2 Bioexención.

Para definir este se requiere presentar algunas definiciones como son:

1. Biodisponibilidad: Es la velocidad y la cantidad de fármaco con relación a la dosis administrada que es absorbida y se encuentra disponible en el sitio de acción. Por lo tanto en un estudio de biodisponibilidad se evalúan las características cuantitativas y cinéticas de un medicamento administrado a un organismo.
2. Bioequivalencia: Es un estudio de biodisponibilidad comparando dos productos o formas farmacéuticas que contienen la misma cantidad de fármaco.²²
3. Bioexención se define como la exención de pruebas de biodisponibilidad o bioequivalencia a ciertos productos farmacéuticos que cumplan con las siguientes características:¹⁷

- ▶ Que contengan fármacos de clase I.
- ▶ Que se disuelvan no menos del 85% en 30 minutos en tres diferentes soluciones amortiguadoras a pH 1.2, 4.5 y 6.8, en el aparato I a 100 r.p.m. o paletas a 50 r.p.m. a 37 °C en un volumen de 900 mL.
- ▶ Que no contengan excipientes que influyan en la absorción del fármaco.
- ▶ Que no contengan fármacos con un estrecho margen terapéutico.
- ▶ Que no sean productos diseñados para ser absorbidos en la cavidad oral.

Se han realizado estudios para probar que aquellos medicamentos de Clase III podrían bioexentarse también basándose en que el paso limitante es la absorción del fármaco y no la disolución, si se demuestra experimentalmente que es de muy rápida disolución se considera que funciona en el organismo como una solución y esta no requiere estudios de bioequivalencia por lo cual podría ser también objeto de bioexención, además de cumplir con los demás requisitos.^{18,20}

2.3 Cromatografía.

La cromatografía es una técnica analítica de separación y purificación.

El término cromatografía deriva de los vocablos chroma que significa color porque los primeros compuestos a separar eran compuestos naturales coloreados como la clorofila y graphein que significa escribir.²⁴

En esta técnica existen dos fases: una móvil y una estacionaria, la primera se encarga de desplazar la muestra esta puede ser un líquido o un gas, y la segunda se fija a una columna o una superficie sólida. Los solutos que se unen más a la fase estacionaria se mueven lentamente en el flujo de la fase móvil, mientras que los que se unen débilmente a la fase estacionaria pasan rápidamente en el flujo de la fase móvil, por lo tanto el reparto de los solutos entre ambas fases es la causa de separación de estos mismos.

Definiciones importantes en cromatografía:^{8,23,24}

- ▶ Tiempo de retención: es el tiempo desde que se inyecta la muestra hasta el tiempo en que el soluto es eluido en la columna cromatográfica.
- ▶ Elución: proceso por el cual un líquido o un gas pasa por una columna cromatográfica.
- ▶ Factor de capacidad: es el cociente del tiempo en que pasa el soluto en la fase estacionaria y el tiempo que pasa en la fase móvil.
- ▶ Plato teórico: es un segmento de columna en el que se realiza un equilibrio del soluto entre las fases móvil y estacionaria.
- ▶ Resolución: diferencia entre los tiempos de retención de dos picos contiguos dividida entre su ancho.

- ▶ Volumen de retención: volumen de solvente que se requiere para eluir un soluto de una columna cromatográfica.
- ▶ Cromatograma: gráfica en la que se representa la respuesta del detector en función del tiempo de elución.

2.3.1 HPLC.²³

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) es una técnica analítica muy utilizada debido a su gran sensibilidad, sus determinaciones cuantitativas exactas y su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, como fármacos, aminoácidos, carbohidratos, plaguicidas.

Como su nombre lo indica es de alta resolución debido a que requiere una presión elevada para forzar el paso de la fase móvil a través de la fase estacionaria y posteriormente por el detector mostrando un pico simétrico con un tiempo de retención característico.

Este sistema se compone de un suministro de fase móvil, una bomba, una válvula de inyección, una columna de alta presión, un detector y un ordenador para controlar y obtener los resultados.⁸

- ▶ Bomba: da la presión suficiente para que la fase móvil pase por la columna, esta debe dar una presión constante, ser reproducible y precisa. Hay dos tipos las bombas de flujo constante y bombas de presión constante.
- ▶ Válvulas de inyección: Entre las cuales tenemos una jeringa de inyección que atraviesa un septo y soporta la presión del sistema esta es manual y la precisión depende de la persona que lo maneje, existe otro que son inyectoros con asas intercambiables de volumen fijo y

por último encontramos los inyectores automáticos con los cuales con un mantenimiento correcto al equipo nos garantiza que va a ser reproducible y eliminar el error en la medición, también tiene la capacidad de inyectar diferentes volúmenes.

- ▶ Columna: Las columnas son fabricadas de acero o plástico de una longitud de 5-30 cm y de un diámetro interior de 1.5 mm, estas son muy sensibles a contaminantes y cambios de presión bruscos por lo cual se puede proteger a la columna con una precolumna del mismo material. La fase estacionaria más utilizada en las columna son partículas microporosas esféricas de sílice muy pura, que son permeables al disolvente, y que tienen una amplia área superficial.
- ▶ Existen varios tipos de detectores:
 - ▷ Ultravioleta. Es el más utilizado porque muchos solutos absorben dicha radiación. Se utilizan lámparas de deuterio o mercurio. Estos detectores son satisfactorios para la elusión en gradiente con solventes que no absorben.
 - ▷ Electroquímico. Sólo de analitos detecta los cambios que se oxidan o se reducen. Mide la corriente cuando un soluto emerge de la columna y pasa sobre un electrodo que se mantiene a un potencial fijo con respecto de un electrodo de referencia.
 - ▷ Índice de refracción. Detectan cuando circula un soluto con índice de refracción distinto del propio disolvente, el haz se desvía del centro de la fotocelda y la señal de salida del detector cambia.
 - ▷ Fluorescencia. Estos detectores son sensibles a la fluorescencia por lo cual se usan mucho en muestras biológicas.

Antecedentes

- ▷ Conductividad eléctrica. miden la diferencia conductividad del soluto y de la fase móvil.
- ▷ Radioactividad. Miden las emisiones con contador alfa, beta o gamma de los solutos.

Figura 3. Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución.



2.4 Validación de un método analítico.

La validación es obtener evidencia documentada por la cual se demuestra experimentalmente que el procedimiento utilizado cumple con los requisitos especificados y a su vez es constante y reproducible.^{25,26}

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993²⁷ define validación como la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y los atributos de calidad establecidos.

De acuerdo a la NOM-177-SSA1-1998¹⁰ los parámetros mínimos necesarios para validar un método analítico son:

Sistema

- ▶ Linealidad. Se debe demostrar con al menos 5 puntos por duplicado. El coeficiente de regresión mayor o igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.
- ▶ Precisión. De los datos anteriores se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor al 2%.

Método

- ▶ Linealidad. Esta se hace por triplicado. El coeficiente de regresión debe ser mayor o igual que 0.99 y el error relativo a la regresión no mayor al 3%.
- ▶ Exactitud. El promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal en no más del 3% en cada punto.
- ▶ Precisión.
 - ▷ Repetibilidad. El coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.

- ▷ Reproducibilidad. Evaluar el efecto de los eventos aleatorios en la precisión del método analítico, tales como los días, los analistas o los equipos. Debe analizarse una muestra homogénea del producto, al menos por triplicado para probar cada condición. El coeficiente de variación global no debe ser mayor que el 3%.
- ▶ Estabilidad de la muestra. Determinar las condiciones de temperatura y tiempo entre otros, en las que el compuesto permanezca estable.
- ▶ Selectividad. Se debe demostrar la selectividad del método para el fármaco ante otros componentes de la muestra, cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.

Definición de los parámetros anteriores por la NOM-177-SSA1-1998.¹⁰

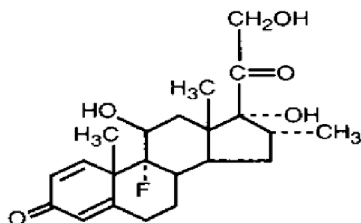
- ▶ Linealidad: es la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto de la muestra.
- ▶ Exactitud: es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.
- ▶ Estabilidad de la muestra: es la propiedad del compuesto por analizar, de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis.
- ▶ Precisión: es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto.
- ▶ Repetibilidad: es la precisión de un método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.

Antecedentes

- ▶ **Reproducibilidad:** es la precisión de un método analítico que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis, tales como días, equipo, columnas o analistas.
- ▶ **Selectividad:** es la capacidad de un método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra.

2.5 Monografía de la Dexametasona.

Estructura



Fórmula condensada: $C_{22}H_{29}FO_5$

Nombre químico: (11 β , 16 α)-pregna-1,4-diene-3,20-diona,9-fluoro-11,17,21-trihidoxi-16-metil.

Propiedades fisicoquímicas:^{2,28}

- ▶ Peso molecular: 392.45 g/mol.
- ▶ Descripción: Polvo cristalino, inodoro y de color blanco.
- ▶ Punto de fusión: 263 °C.
- ▶ Solubilidad:

Tabla 1. Solubilidad de la Dexametasona.

Solvente	Solubilidad
Agua destilada a 37°C	11.6 mg/100mL
Agua destilada a 25°C	8.4 mg/100mL
Etanol	1 en 42
Cloroformo	1 en 65
Acetona	Soluble
Metanol	Poco soluble

- ▶ Coeficiente de partición: log P en n-octanol/agua 1.75^{29,30}
- ▶ pKa: 1.72²⁹

- ▶ En el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico: La OMS dice que es de alta solubilidad, pero aun no esta definido si es de alta o baja permeabilidad. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico I/III. ^{30,31}

Información Médica. ^{32,33,34}

Farmacodinamia.

La dexametasona es un glucocorticoide sintético que actúa como antiinflamatorio e inmunosupresor principalmente. Los glucocorticoides pasan fácilmente las membranas de las células por su alta liposolubilidad y se unen a unos receptores citoplasmáticos específicos. Una vez formado el complejo receptor-glucocorticoide en el citoplasma, penetra en el núcleo donde regula la expresión de los genes que responden específicamente a él. Así modula la transcripción, existe una modulación positiva si el glucocorticoide fomenta la síntesis de una determinada proteína o negativa si la inhibe induciendo una serie de respuestas que modifican la transcripción y, por tanto, la síntesis de proteínas. Estas respuestas son la inhibición de la infiltración leucocitaria en el lugar de la inflamación, la interferencia con los mediadores de la inflamación y la supresión de las respuestas inmunológicas. Algunas de las respuestas de los glucocorticoides son la reducción del edema y una supresión general de la respuesta inmunológica. Los glucocorticoides inhalados disminuyen la síntesis de la IgE, aumentan el número de receptores β adrenérgicos en los leucocitos y disminuyen la síntesis del ácido araquidónico. En consecuencia, son eficaces en el tratamiento del asma bronquial crónico y las reacciones alérgicas. Se une a las proteínas plasmáticas en un 68%.

Farmacocinética

La dexametasona se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal

después de una dosis oral. Las concentraciones plasmáticas máximas se obtienen al cabo de 1-2 horas. Después de la administración tópica, el grado de absorción del producto depende de la integridad de la misma. Aumenta en las zonas lesionados y es particularmente intensa en los lugares en los que el estrato córneo es más delgado.

En la circulación sistémica, la dexametasona se une débilmente a las proteínas plasmáticas (66-77%), siendo activa la porción no fijada a las proteínas. El fármaco se distribuye rápidamente en los riñones, intestinos, hígado, piel y músculos. Los corticoides cruzan la barrera placentaria y se excretan en la leche materna. La dexametasona se metaboliza en el hígado originando productos inactivos que son eliminados en la orina. Su biodisponibilidad es de 90%, tiempo de vida media plasmática: 300 minutos, tiempo de vida media biológica: 36-54 hs, volumen de distribución: 70 litros. ³⁵

Indicaciones terapéuticas.

Reducción de edema cerebral. Hiperplasia adrenal, insuficiencia suprarrenal. Reacciones alérgicas severas. Tratamiento coadyuvante de enfermedades reumatológicas: artritis reumatoide. Tratamiento paliativo en: mielosis y linfadenosis leucémicas agudas y crónicas. Enfermedades autoinmunes. Rechazo de órganos transplantados. Anemia hemolítica púrpura. Enfermedades inflamatorias que no responden a terapia convencional. Ciertas infecciones.

Contraindicaciones:

Contraindicado en infecciones fúngicas sistémicas. El retiro abrupto de su administración causa síndrome de supresión de esteroides, por lo que debe retirarse su administración poco a poco. Disminuye la eficacia del

sistema inmunológico. Debe evitarse la administración epidural en pacientes con septicemia, infección local en el sitio de punción o con coagulopatías. Puede inducir disritmias, hipertensión arterial y falla cardíaca congestiva, convulsiones, psicosis y cráneo hipertensivo, pancreatitis, úlcera péptica con perforación y hemorragia. Retrasa la cicatrización de piel y mucosas. Debilidad muscular, miopatías, osteoporosis y necrosis aséptica; amenorrea, supresión del crecimiento, hiperglicemia y balance nitrogenado negativo.

Interacciones

Los inductores de los enzimas microsomales hepáticos (barbitúricos, fenitoina y rifampicina) pueden aumentar el metabolismo de los glucocorticoides. Su efecto puede ser potenciado por estrógenos, anticonceptivos orales y ketoconazol. Inhibe el efecto de los anticoagulantes, anticolinesterásicos, isoniacida y salicilatos. Potencia los efectos de la ciclosporina. Puede interactuar con los relajantes musculares no despolarizantes inhibiendo o potenciando su acción. Potencia el riesgo de ulceración gastrointestinal.

Reacciones secundarias y adversas:

Las reacciones adversas provocadas por el tratamiento con dexametasona se dividen en dos tipos: las glucocorticoides y las mineralocorticoides. Las acciones glucocorticoides representan la capacidad de inhibir al sistema inmune, la acción sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, las acciones musculoesqueléticas y antiinflamatorias. Las acciones mineralocorticoides están representadas por la capacidad de retener sodio y agua. La administración prolongada determina atrofia adrenocortical y depleción proteica generalizada. La supresión del eje hipotálamo-hipófiso-

adrenal depende de dosis, frecuencia y duración de la administración. Los efectos secundarios pueden afectar a todo el organismo: Supresión adrenocortical, síndrome de Cushing con aspecto característico, hiperglucemia, trastornos menstruales, susceptibilidad para las infecciones y disminución de los síntomas infecciosos. Hipertensión arterial, retención de líquidos, tromboflebitis y tromboembolismo. Euforia, insomnio, depresión y otros trastornos psíquicos, aumento de la presión endocraneana y convulsiones (en niños).

Dosis y vía de administración oral

Tabla 2. Tratamiento y dosis oral de Dexametasona para Adultos.^{33,35}

Tratamiento	Dosis oral
Diagnóstico de la supresión del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA): Prueba para el diagnóstico del síndrome de Cushing:	0.5 mg cada 6 horas durante 48 horas. Recoger la orina de 24 horas para la determinación de la excreción de 17-hydroxycorticosteroides. Alternativamente, 1 mg a las 11:00 p.m., determinación del cortisol plasmático el día siguiente a las 8:00 a.m
Prueba para distinguir el síndrome de Cushing secundario a un exceso de ACTH pituitario del síndrome de Cushing debido a otras causas:	2 mg cada 6 horas durante 48 horas. Recoger la orina de 24 horas para la determinación de la excreción de 17-hydroxycorticosteroides
Prueba para confirmar el diagnóstico de una depresión melancólica	1 mg a las 11:00 p.m. Determinación del cortisol plasmático a las 4:00 p.m. y 11:00 p.m. del día siguiente
Tratamiento de condiciones alérgicas:	Iniciar el tratamiento con 4 a 8 mg i.m. el día 1. Después pasar a un tratamiento oral con 3 mg administrados en 2 dosis divididas los días 2 y 3; las dosis se deben reducir progresivamente a 1.5 mg el día 4 en dos dosis divididas y a 0.75 mg los días 5 y 6
Tratamiento adjuvante de la tuberculosis:	0.024—0.34 mg/kg/día divididos en 2 a 4 administraciones
Tratamiento de hipercalcemia debida a sarcoidosis o cáncer, miastenia grave y otras condiciones:	Inicialmente, 0.75—9 mg por vía oral al día en 2 a 4 administraciones
Tratamiento del síndrome nefrótico:	Inicialmente, 0.75—9 mg por vía oral al día en 2 a 4 administraciones

Tratamiento	Dosis oral
Tratamiento de exacerbaciones de esclerosis múltiple	16 mg/día en 4 dosis durante 5 días
Tratamiento de la colitis ulcerosa y de la enfermedad de Crohn:	Inicialmente 0.75 a 9 mg/día en 2 a 4 dosis divididas
Tratamiento de desórdenes oftálmicos (conjuntivitis alérgica, úlcera córnea marginal alérgica etc.):	Entre 0.024—0.34 mg/kg al día administrados en 2 a 4 dosis
Tratamiento adyuvante de la infertilidad (conjuntamente con clomifeno):	Mujeres adultas: 0.5 mg/día administrados los días 3 a 12 de un ciclo en combinación con clomifeno

Tabla 3. Tratamiento y dosis oral de Dexametasona para niños y Adultos.

Tratamiento	Dosis orales	
	Niños	Adultos
Anomalías de la función adrenocortical, tales como insuficiencia adrenocortical, hiperplasia adrenal congénita, enfermedad de Addison o síndrome adrenogenital	Entre 0.03 y 0.3 mg/kg/día divididos en 2 a 4 dosis.	Inicialmente dosis de 0.75—9 mg/día, divididos en 2-4 dosis.
Tratamiento de dermatosis severa (dermatitis exfoliativa, psoriasis, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson	0.024—0.34 mg/kg/día divididos en 2—4 dosis.	Inicialmente, 0.75—9 mg al día divididos en 2 a 4 administraciones.
Tratamiento de desórdenes reumáticos: (espondilitis anquilosante, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis, artritis reumática, etc.)	0.024—0.34 mg/kg/día divididos en 2—4 dosis.	Inicialmente, 0.75—9 mg al día divididos en 2 a 4 administraciones.
Tratamiento de desórdenes hematológicos (trombocitopenia, anemia hemolítica autoinmune, eritroblastopenia, a trombocitopenia asociada a púrpura idiopática trombocitopénica	0.024—0.34 mg/kg/día divididos en 2—4 dosis.	0.75—9 mg al día divididos en 2 a 4 administraciones.
Administración en niños prematuros y neonatos para el tratamiento de la displasia broncopulmonar	Se sugieren dosis entre 0.5-0.6 mg/kg por vía oral, en dosis divididas cada 12 horas durante 3 a 7 días, con reducción de la dosis cada 3 días hasta alcanzar la dosis de 0.1 mg/kg/día	

Presentaciones

Caja con 50 tabletas 0.5 mg marca Dexa-grin.

Caja con 20 tabletas 0.5 mg marca Alin.

3.0

Parte experimental

3.1 Material

3.1.1 Sustancia de referencia.

Sustancia de referencia de Dexametasona Base, lote MP-511373, pureza 99.82%, estándar secundario.

3.1.2 Reactivos.

- ▶ Ácido clorhídrico concentrado, J.K. Baker, Lote V45C13.
- ▶ Metanol, TecnoLab grado HPLC, Lote MET 267 04/11/07 4L GR 4BT3.
- ▶ Acetonitrilo(ACN), TecnoLab grado HPLC, Lote ACN254 02/19/07 4L GR 4BT3.
- ▶ Perlas de hidróxido de sodio, JT Baker Lote No.1310-73-2.
- ▶ Agua HPLC.
- ▶ Agua destilada.

3.1.3 Equipo utilizado.

- ▶ Cromatógrafo de líquidos de alta resolución, Shimadzu LC-10AT, con detector UV-VIS. SCL 10A.
- ▶ Espectrofotómetro Shimadzu Mod. UV-1601, serie 60121R.
- ▶ Balanza analítica Sartorius analytic Mod. A21OP, serie 40040065.
- ▶ Potenciómetro Corning pH meter model 7, Termo Orión.
- ▶ Disolutor TDT-08L Marca: Pharma ALLIANCE GROUP.
- ▶ Desionizador Millipore.
- ▶ Sonicador Transsonic T70014.
- ▶ Termómetro.
- ▶ Cronómetro.

- ▶ Baño maría Lab-line Aquabath™
- ▶ Columna: μ Bondapak™ C18 Waters, 3.9 x 300 mm.
- ▶ Filtro de Teflón.
- ▶ Micro pipeta Eppendor.

3.2 Medicamentos estudiados

Se seleccionaron dos lotes diferentes del medicamento en estudio, uno de farmacia de similares y un producto genérico.

Tabla 4. Medicamentos a estudiar y sus respectivos lotes.

Producto	Marca comercial	Lote 1	Lote 2
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg	Dexa-Grin (Similares)	61066	5K064
	Alin(genérico)	ZFG601	ZEL601

3.3 Pruebas de control de calidad.

3.3.1 Peso promedio

Se realizó pesando con precisión 20 tabletas de cada uno de los productos estudiados de manera individual y se calculó la masa promedio.

3.3.2 Valoración.

Se llevó a cabo la valoración por Cromatografía de Líquidos de alta resolución.

Preparación de la referencia: Pesar el equivalente a 0.01 g de Dexametasona y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL disolver y llevar a volumen con metanol/agua 1:1. Tomar una alícuota de 1.0 mL y colocarlo en un matraz de

Parte experimental

10 mL y aforar con metanol/agua 1:1. Tomar de este último 5.0 mL y llevarlo a un matraz aforado de 10 mL y aforar con metanol/agua 1:1. Concentración final de 50 µg/mL.

Preparación de la muestra: De cada uno de los productos a estudiar se pesaron 10 tabletas, previamente obtenido el peso promedio, se trituró hasta obtener un polvo fino y homogéneo, se peso el equivalente a 0.5 mg de Dexametasona y se llevo a un matraz aforado de 10 mL, llevando a volumen con metanol/agua 1:1. Concentración final 50 µg/mL.

Condiciones cromatográficas:

- ▶ Cromatografo: Shimatzu
- ▶ Columna: µBondapack C18 Waters, 3.9 x 300 mm.
- ▶ Fase móvil: ACN/Agua 3:5.
- ▶ Flujo: 1 mL/min.
- ▶ Longitud de onda: 254 nm.
- ▶ Volumen de inyección: 100 µL.

Tanto la referencia como la muestra se inyectan 5 veces y se obtiene el promedio de la altura (H) y con la siguiente ecuación se obtiene la cantidad de muestra (CM):

$$CM = [CR] * FD * (H_{\text{Muestra}} / H_{\text{Referencia}})$$

CR = Concentración de la referencia

FD = Factor de dilución de la muestra

Considerando que la cantidad indicada en el marbete es el equivalente al 100% y se utiliza la siguiente ecuación:

$$\%Muestra = ([CM] / [CMM]) * 100$$

CMM = Cantidad marcada en el marbete

La valoración para cada producto debe de contener no menos del 90

por ciento y no más del 110 por ciento de la cantidad del principio activo indicada en el marbete, FEUM 8va edición.

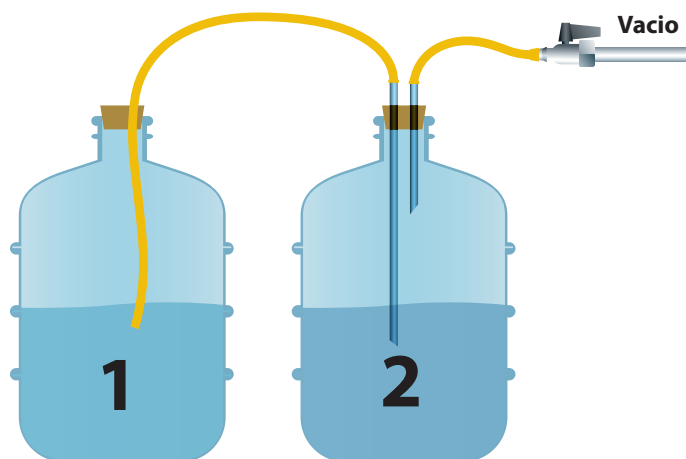
3.4 Preparación del medio de disolución.

Se tomaron 8.5 mL de ácido clorhídrico concentrado y se depositó en un matraz volumétrico de 1000 mL, se llevó al aforo con agua destilada, teniendo una concentración final de HCl 0.1 N.

Para los perfiles de disolución se desgasificó el medio de la forma siguiente :

Se colocó el medio de disolución HCl 0.1 N en el recipiente No.1 como se observa en la figura 4 y se conecta al vacío, se abre la llave de vacío y se espera a que todo el medio de disolución pase al recipiente No.2 . Se cierra posteriormente la llave de vacío y se invierten las conexiones de los recipientes y se repite la operación 3 veces para eliminar completamente el aire.

Figura 4. Sistema Desgasificador.



3.5 Validación del método analítico.

Se desarrolló el método analítico a pH 1.2 por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución por lo cual se realizó la validación tanto del sistema como para el método.

3.5.1 Validación del Sistema

3.5.1.1 Linealidad

Se evaluó la linealidad del sistema en una preparación por duplicado de una curva de calibración en el intervalo de 0.3-1.0 $\mu\text{g/mL}$ de acuerdo al siguiente procedimiento.

Preparación de la solución patrón de Dexametasona de 10 $\mu\text{g/mL}$.

Pesar el equivalente a 0.01 g de Dexametasona y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL disolver y llevar a volumen con Metanol. Tomar una alícuota de 1.0 mL y colocarlo en un matraz de 10 mL y aforar con el medio de disolución. Tomar de este último 1.0 mL y llevarlo a un matraz aforado de 10 mL y aforar con el medio de disolución. Concentración final de 10 $\mu\text{g/mL}$.

Preparación de la curva de calibración. Para obtener las concentraciones requeridas en la curva se tomaron las alícuotas de la solución patrón de 10 $\mu\text{g/mL}$ como se muestra en la siguiente tabla, y se llevaron al aforo con HCl 0.1 N.

Tabla 5. Preparación de la curva de calibración.

Matraz	Dexametasona 10 µg/mL (mL)	Aforo (mL)	Concentración final(µg/ml)	%
1	1	10	1	181
2	0.7	10	0.7	127
3	0.55	10	0.55	100
4	0.4	10	0.4	73
5	0.3	10	0.3	55

Una vez obtenidas las muestras, se inyectaron al cromatógrafo bajo las siguientes condiciones:

- ▶ Cromatografo: Shimatzu.
- ▶ Columna: µ Bondapack C18 Waters, 3.9 x 300 mm.
- ▶ Fase móvil: ACN/Agua 3:5.
- ▶ Flujo: 1.2 mL/min.
- ▶ Longitud de onda: 254 nm.
- ▶ Volumen de inyección: 100 µL

Con los valores obtenidos se graficó la concentración vs. altura (H) y se cumple con la linealidad de sistema si el coeficiente de regresión es mayor o igual que 0.99 y el error relativo debido a la regresión no es mayor que el 2%.

3.5.1.2 Precisión.

La precisión del sistema se obtiene a partir de los datos de linealidad del sistema en la cual se debe mostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor al 2%.

3.5.2 Validación del método.

Para la validación del método se tomó un lote de cada medicamento a probar que es para el producto Dexa-grin lote 61066 y para Alin lote ZFG60 y se llevaron a cabo las siguientes pruebas.

3.5.2.1 Linealidad

La linealidad del método se obtuvo a partir de 3 curvas de calibración en un intervalo de 0.2 – 1 $\mu\text{g/mL}$, preparando una solución patrón y haciendo sus respectivas diluciones, para cada marca del medicamento (Alin y Dexa-Grin)

Preparación de la solución patrón: Se pesaron 30 tabletas del producto a probar, se calculó el peso promedio y se trituraron hasta obtener un polvo fino. Se pesó el equivalente a 10 mg de Dexametasona y se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con Metanol. Se filtra esta solución y se tomó 2.5 mL y se llevó a un matraz volumétrico de 25 mL. Obteniéndose una concentración final de 10 $\mu\text{g/mL}$ de la cual se realizan las respectivas diluciones como en la tabla 5 de linealidad del sistema, anexando la concentración de 0.2 $\mu\text{g/mL}$ tomando una alícuota de 0.2 mL de la solución patrón. Se realizan por triplicado las curvas.

Las muestras se analizaron de acuerdo a las condiciones cromatográficas descritas en la sección 3.5.1.1

Con los resultados obtenidos se elaboró la gráfica de Concentración vs altura, y se realizaron los siguientes cálculos:

$$\text{Error relativo debido a la regresión \%} = S_{y/x} \times 100$$
$$\bar{y}$$

$$S_{y/x} = \left[\frac{\Sigma y^2 - (\text{pendiente} \cdot \Sigma yx) - (\text{ordenada} \cdot \Sigma y)}{N-2} \right]^{1/2}$$

$S_{y/x}$ = desviación estándar de la regresión

\bar{y} = promedio de la respuesta

x = concentración

y = respuesta

N-2 = grados de libertad

El método es lineal si el coeficiente de regresión es mayor o igual que 0.99 y el error relativo a la regresión no es mayor al 3%.

3.5.2.2 Precisión

3.5.2.2.1 Repetibilidad

Se determinó por medio del coeficiente de variación de las tres curvas obtenidas para linealidad del método realizadas en el punto anterior. El cual el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.

3.5.2.2 Reproducibilidad

Se prepararon por duplicado curvas de calibración en días distintos el siguiente procedimiento previamente descrito.

El método es reproducible si el coeficiente de variación global (considerando los dos días de análisis) no es mayor que el 3%.

3.5.2.3 Exactitud

Se obtuvo a partir de los datos de linealidad del método calculándose la desviación estándar relativa (DEA) a partir de la siguiente ecuación.

$$\%DEA = ([CT] - [CE]) / [CT] * 100$$

CT = Concentración teórica

CE = Concentración experimental

Para considerar el método exacto el % DEA no debe ser mayor al 3%.

3.5.2.4 Especificidad

Se evaluó obteniendo el espectro de absorción de 200-400 nm de la solución de referencia de Dexametasona y las soluciones de cada medicamento.

Preparación de la solución de referencia: Pesar el equivalente a 0.01 g de Dexametasona y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL disolver y llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 0.5 mL y colocarlo en un matraz de 10 mL y aforar con HCl 0.1 N. Tomar de este último 1.0 mL y llevarlo a un matraz aforado de 10 mL y aforar con HCl 0.1 N. Concentración final de 5 µg/mL.

Preparación de la muestra de cada medicamento: Pesar el equivalente a 0.5 mg de Dexametasona de cada medicamento y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL y llevar a volumen con metanol. Filtrar y tomar 1 mL y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL, llevar a volumen con HCl 0.1 N. Concentración final 5 µg/mL cada uno.

El método es específico si no existe diferencia entre los espectros de absorción obtenidos.

3.5.3 Estabilidad de la muestra

Este se evaluó a partir de una solución que contenía 0.55 µg/ml de Dexametasona en HCl 0.1 N. Esta solución se hizo por triplicado y se colocó en un baño de agua a 37 °C ± 0.5 °C, y se tomaron muestras a los 0, 15, 30, 45 y 90 minutos, leyéndose posteriormente en el cromatógrafo con las condiciones del 3.5.1.1.

Con los resultados de altura se calculó la desviación estándar relativa (DEA) a partir de la siguiente ecuación:

$$\%DEA = ([t_0] - [t_t]) / [t_0] * 100$$

t_0 = tiempo cero

t_t = tiempo t

El valor de % DEA debe ser menor al 3% .

3.5.4 Influencia del filtro.

La evaluación se realizó preparando dos soluciones de referencia una concentración alta de 0.7 µg/mL y una concentración al 100 % que es de 0.55 µg/mL de Dexametasona. Estas concentraciones se prepararon de acuerdo a lo descrito en la sección 3.5.1.

Se utilizaron filtros de teflón de 0.45 µg/mL de adaptación directa. Se tomó una alícuota sin filtrar de ambas soluciones y subsecuentemente se tomaron 6 alícuotas de las soluciones con filtros adaptados.

$$\% \text{Retenido} = ([M_{sf}] - [M_f] / [M_{sf}]) * 100$$

M_{sf} = Muestra sin filtrar

M_f = Muestra filtrada

El coeficiente de variación de la altura (H) entre la solución filtrada y la no filtrada no debe ser mayor al 2%.

3.6 Perfiles de disolución

El estudio de perfiles de disolución se realizó en HCl 0.1 N a pH 1.2. De acuerdo a la F.E.U.M. la Q no debe ser menor del 70% a los 30 minutos.

Condiciones del disolutor:

- ▶ Aparato utilizado: No. 1 canastillas a 100 r.p.m.
- ▶ Medio de disolución: HCl 0.1 N.
- ▶ Volumen del medio de disolución: 900 mL.
- ▶ Temperatura del medio: 37°C ± 0.5 °C.
- ▶ Tiempos de muestreo: 3, 5, 15, 30 y 45 min.
- ▶ Volumen de la alícuota tomada: 3 mL.

Procedimiento:

Se desgasifico el medio de disolución y se colocaron 900 mL en cada vaso del disolutor, estos se calentaron hasta obtener una temperatura de 37 °C ± 0.5°C. Se colocó una tableta del medicamento en cada una de las canastillas y empezó la agitación. Se tomó la alícuota marcada en los tiempos 3, 5, 15,30 y 45 min, estos filtrados inmediatamente. Las muestras se inyectaron en el cromatógrafo obteniéndose las alturas correspondientes de los picos.

Condiciones cromatógraficas

- ▶ Cromatógrafo: Shimatzu
- ▶ Columna: μ Bondapack.
- ▶ Fase móvil: ACN/Agua 2:5.
- ▶ Flujo: 1.2 mL
- ▶ Longitud de onda: 254 nm.
- ▶ Tiempo de análisis: 7 min.
- ▶ Volumen de inyección 100 μ L.

Cálculos a seguir:

- ▶ Una vez obtenida la altura H se interpolaron los datos en una curva de calibración preparada el mismo día en el medio de disolución y se calculó la concentración del principio activo en la alícuota tomada.
- ▶ Se obtuvieron la cantidad en miligramos del principio activo multiplicando la concentración por el volumen del vaso de disolución respectivamente.
- ▶ Se determinó posteriormente el por ciento disuelto con respecto a la dosis nominal del principio activo.
- ▶ Se graficó el %Disuelto vs. tiempo.
- ▶ Se calculó el f_2 (factor de similitud). Requisito: el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual al 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes.
Se calcula con la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 \text{ Log } \{ [1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (Rt - Pt)^2]^{-0.5} * 100 \}$$

n = número de tiempos de muestreo.

Rt = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

Parte experimental

P_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

Un factor de similitud entre 50 y 100 indica perfiles de disolución similares.

De acuerdo a la FDA⁹ no es necesario calcular la f_2 si el producto se disuelve el 85% o más de lo marcado en el marbete en ≤ 15 minutos usando los tres medios de disolución.

4.0

Resultados y análisis de resultados

Resultados y análisis de resultados

4.1 Pruebas de control de calidad.

4.1.1 Peso promedio.

Tabla 6. Resultados de Peso promedio de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos productos comerciales.

Peso promedio (g)		
Dexa-Gin	Lote 61066	0.1782
	Lote 5K064	0.1818
Alin	Lote ZFG601	0.0794
	Lote ZEL601	0.0793

4.1.2 Valoración.

Resultados de la valoración.

Tabla 7. Resultados de la valoración de las tabletas en estudio conteniendo Dexametasona 0.5 mg.

Productos comerciales	% Principio activo	
Dexa-Gin	Lote 61066	101.61
	Lote 5K064	100.78
Alin	Lote ZFG601	92.52
	Lote ZEL601	104.28

Como se puede observar en la tabla 7 los productos se cumplen con lo especificado en la monografía de tabletas de Dexametasona de la FEUM 8^a edición ya que el contenido está en el intervalo de 90-110% del valor indicado en el marbete.

4.2 Validación del método analítico.

4.2.1 Validación del Sistema

4.2.1.1 Linealidad

Los resultados de linealidad del sistema se muestran en la representación gráfica se muestra en la figura 5. En ellas se puede observar que el

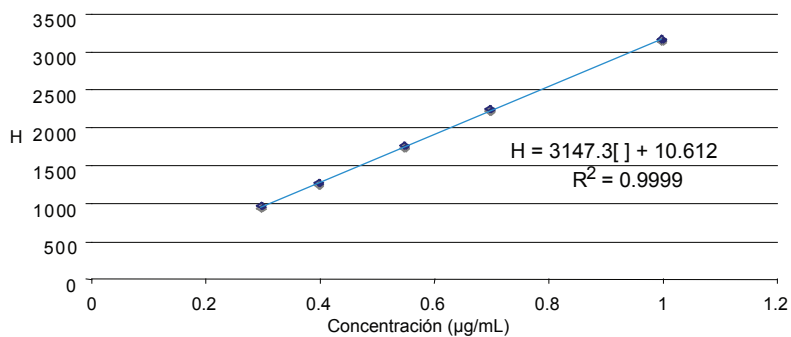
Resultados y análisis de resultados

sistema cumple con la linealidad puesto que el coeficiente de regresión fue mayor a 0.99 y el error relativo fue menor al 2%.

Tabla 8. Linealidad del sistema para la cuantificación de Dexametasona HCl 0.1N, pH 1.2.

Linealidad del sistema		
Concentración (µg/mL)	Altura	
	Curva 1	Curva 2
0.3	952	965
0.4	1260	1251
0.55	1738	1754
0.7	2255	2198
1.0	3151	3151
m	3162.1	3132.4
b	5.5497	15.674
r	0.9996	0.9998
%Error relativo	1.28	0.85

Figura 5. Linealidad del sistema de Dexametasona en medio HCl 0.1 N, pH = 1.2



Resultados y análisis de resultados

4.2.1.2 Precisión

- Precisión del sistema.

Los resultados de precisión del sistema obtenidos de los datos de linealidad se muestran en la tabla 9. Dado que el coeficiente de variación del factor de respuesta fue menor al 2% se demuestra que el sistema es preciso.

Tabla 9. Precisión del sistema de la Dexametasona en medio HCl 0.1N, pH 1.2.

Concentración (µg/mL)	H		Promedio(H)	D.E.	Factor respuesta H/ (µg/mL)	
	Curva 1	Curva 2			Curva 1	Curva 2
0,3	952	965	958.5	9.19	3173.33	3216.66
0,4	1260	1251	1255.5	6.36	3150	3127.5
0,55	1738	1754	1746	11.31	3160	3189.09
0,7	2255	2198	2226.5	40.30	3221.42	3140
1	3151	3151	3151	0	3151	3151
					Promedio global	3166.95
					D.E. global	32.28
					%C.V.	1.01

4.2.2 Validación del método

4.2.2.1 Linealidad.

Los resultados de linealidad del método para tabletas de Dexametasona 0.5 mg para los productos Dexa-Grin lote 61066 y Alin lote ZFG601 se muestran en las tablas 10 y 11. En ellas se puedan observar que los resultados para ambos productos el método es lineal en el rango de concentración de 0.2-1.0 µg/mL ya que el coeficiente de regresión fue mayor de 0.99. Además el error relativo debido a la regresión no fue mayo del 3% para cada una de las curvas.

Resultados y análisis de resultados

Tabla 10. Linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote 61066.

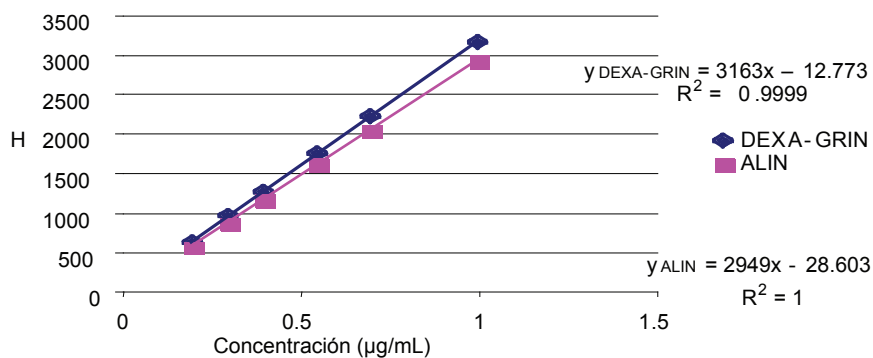
Linealidad del método			
Concentración (µg/mL)	Altura (H)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0.2	593	621	615
0.3	940	951	955
0.4	1230	1261	1247
0.55	1717	1733	1753
0.7	2192	2205	2205
1	3166	3128	3148
m	3200.9	3158.9	3129
b	-40.823	-4.585	7.088
r	0.9999	0.9998	0.9999
%error relativo debido a la regresión.	0.78	0.54	0.89

Tabla 11. Linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.

Linealidad del método			
Concentración (µg/mL)	Altura (H)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0.2	545	555	572
0.3	855	835	872
0.4	1157	1124	1177
0.55	1584	1605	1618
0.7	2007	2047	2048
1	2920	2909	2923
m	2947.4	2965.3	2934.2
b	-36.054	-44.286	-5.4694
r	0.9998	0.9998	0.9999
%error relativo debido a la regresión	0.93	1.13	0.56

Resultados y análisis de resultados

Figura 6. Comparación de la linealidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de Dexa-Grin lote 61066 y Alin lote ZFG601.



4.2.2.2 Precisión

4.2.2.2.1 Repetibilidad

La repetibilidad del método para tabletas de Dexametasona 0.5 mg para los productos Dexa-Grin lote 61066 y Alin lote ZFG601 se presenta en las tablas 12 y 13. En ellas se observa que el coeficiente de variación para cada punto de la curva no fue mayor al 3% en ninguno de los lotes. Por lo que el método es repetible.

Tabla 12. Repetibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexagrin lote61066.

Precisión del método						
Concentración (µg/mL)	Altura(H)				D.E.	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio		
0.2	593	621	615	609.66	14.74	2.41
0.3	940	951	955	948.66	7.76	0.81
0.4	1230	1261	1247	1246	15.52	1.24
0.55	1717	1733	1753	1734.33	18.03	1.03
0.7	2192	2205	2205	2200.66	7.50	0.34
1	3166	3128	3148	3147.33	19.00	0.60

Resultados y análisis de resultados

Tabla 13. Repetibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.

Precisión del método						
Concentración (µg/mL)	Altura(H)				D.E.	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio		
0.2	545	555	572	557.33	13.65	2.44
0.3	855	835	872	854	18.52	2.16
0.4	1157	1124	1177	1152.66	26.76	2.32
0.55	1584	1605	1618	1602.33	17.15	1.07
0.7	2007	2047	2048	2034	23.38	1.14
1	2920	2909	2923	2917.33	7.37	0.25

4.2.2.2. Reproducibilidad

Los resultados de reproducibilidad del método se presentan en las tablas 14 y 15. Se encontró que la reproducibilidad del método se llevó a cabo en días distintos pero con el mismo analista. Como observamos en las tablas 14 y 15 el coeficiente de variación es menor del 3% para cada concentración de los dos lotes a validar. Por lo que el método es reproducible a el rango de concentración para los dos medicamentos evaluados.

Tabla 14. Reproducibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote61066.

Reproducibilidad del método(Dexa-Grin lote 61066)									
Concentración (µg/mL)	Día 1			Día 2			Promedio	DE	%CV
	Altura (H)			Altura(H)					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
0.2	593	621	615	580	615	605	604.83	15.65	2.58
0.3	940	951	955	922	925	927	936.66	14.12	1.50
0.4	1230	1261	1247	1189	1233	1220	1230	24.65	2.00
0.55	1717	1733	1753	1657	1691	1726	1712.83	34.07	1.98
0.7	2192	2205	2205	2099	2125	2171	2166.16	44.52	2.05
1.0	3166	3128	3148	3091	3107	3106	3124.33	28.48	0.91

Resultados y análisis de resultados

Tabla 15. Reproducibilidad del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.

Reproducibilidad del método(Alin lote ZFG601)									
Concentración (µg/mL)	Día 1			Día 2			Promedio	D.E.	%CV
	Altura (H)			Altura(H)					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
0.2	545	555	572	542	546	575	555.83	14.38	2.58
0.3	855	835	872	854	823	858	849.5	17.55	2.06
0.4	1157	1124	1177	1146	1091	1141	1139.33	29.49	2.58
0.55	1584	1605	1618	1585	1606	1594	1598.66	13.35	0.83
0.7	2007	2047	2048	2009	2016	2032	2026.5	18.49	0.91
1	2920	2909	2923	2866	2889	2961	2911.33	32.36	1.11

4.2.2.3 Exactitud.

Los resultados de la tablas 16 y 17 muestran que en cada punto el %DEA es menor al 3% para los dos medicamentos validados por lo tanto el método es exacto en el rango de concentraciones estudiado.

Tabla 16. Exactitud del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Dexa-Grin lote 61066.

Exactitud del método (Dexa-Grin lote 61066)		
Concentración Teórica (µg/mL)	Concentración Experimental promedio (µg/mL)	%DEA
0.2	0.19	1.63
0.3	0.30	1.30
0.4	0.39	0.51
0.55	0.55	0.42
0.7	0.69	0.02
1	0.99	0.09

Resultados y análisis de resultados

Tabla 17. Exactitud del método de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, producto Alin lote ZFG601.

Exactitud del método (Alin lote ZFG601)		
Concentración Teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración Experimental promedio ($\mu\text{g/mL}$)	%DEA
0.2	0.19	0.65
0.3	0.29	0.23
0.4	0.40	0.14
0.55	0.55	0.55
0.7	0.69	0.08
1	0.99	0.10

4.2.2.4 Especificidad

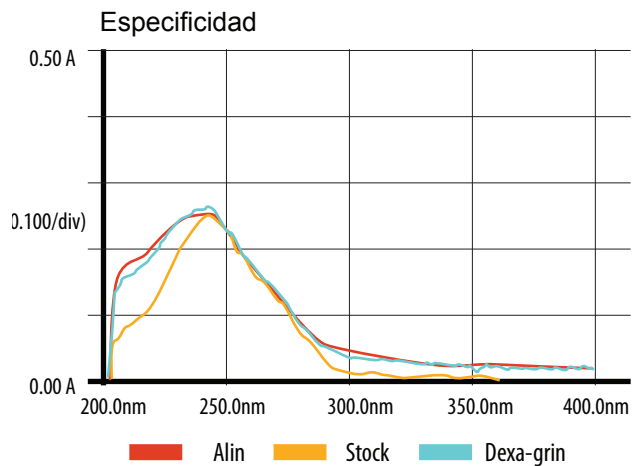
Los resultados de especificidad de tabletas de Dexametasona 0.5 mg para los productos Dexa-Grin lote 61066 y Alin lote ZFG601 se muestran en las tablas 18 y figuras 7, 8, 9 y 10. En ellas se demuestra que el método es específico para los productos que contienen Dexametasona.

Tabla 18. Longitudes de onda de un barrido espectrofotométrico de los diferentes productos que contienen Dexametasona.

Producto	λ máxima (nm)	λ mínima (nm)
Referencia	242.4	347
Dexa-Grin lote 61066	240	349
Alin lote ZFG601.	239	343

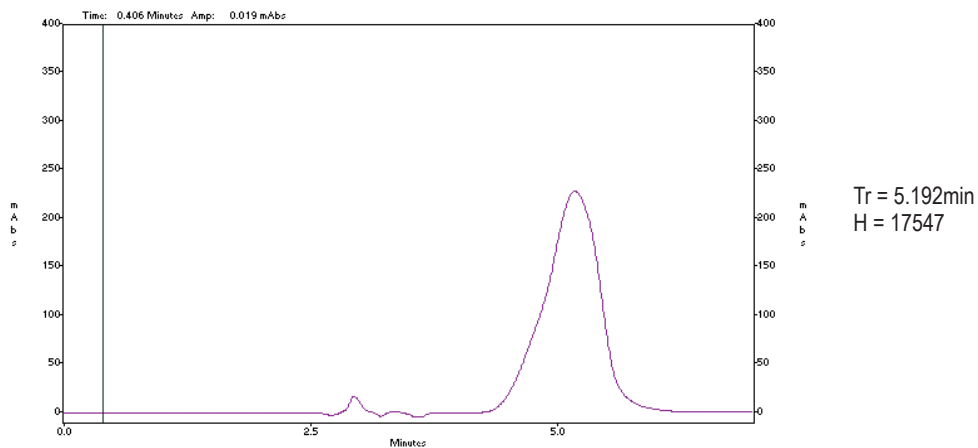
Resultados y análisis de resultados

Figura 7. Barrido espectrofotométrico de Dexametasona y de los dos productos validados.



Resultados de Cromatogramas de los diferentes productos.

Figura 8. Cromatograma de Estándar de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N.



Resultados y análisis de resultados

Figura 9. Cromatograma de tabletas de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N del producto Dexa-grin lote 61066 .

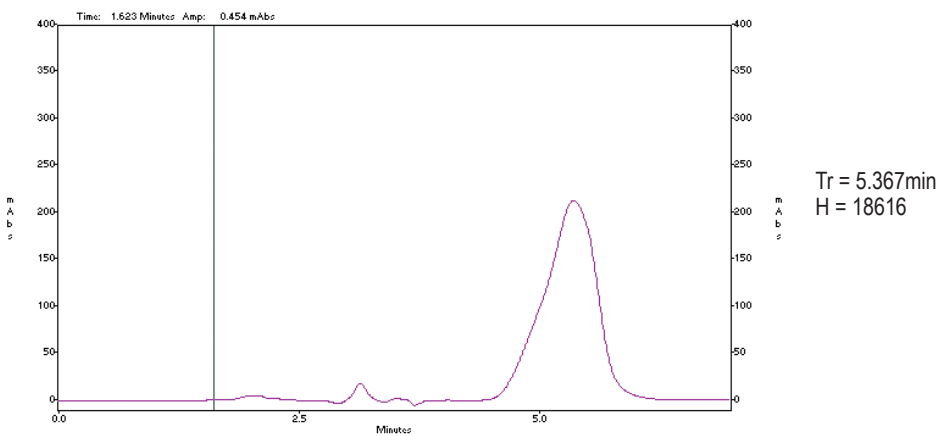
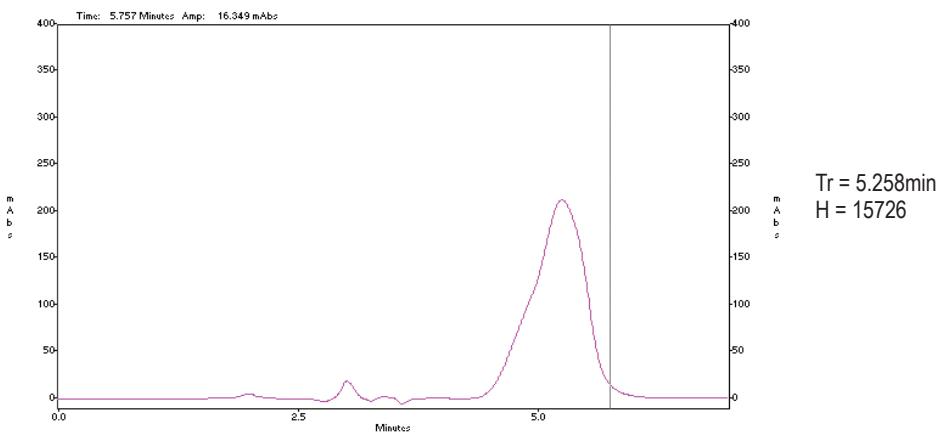


Figura 10. Cromatograma de tabletas de Dexametasona 5 µg/mL en HCl 0.1N del producto Alin lote ZFG601.



Resultados y análisis de resultados

4.2.3 Estabilidad de la muestra.

De los resultados de la tabla 19 se demuestra que la muestra es estable en las condiciones del estudio de Perfil de Disolución a 37 °C pues en ninguna de ellas el valor del %DEA fue mayor al 1%. Las muestras son estables durante 90 minutos a 37 °C que es el tiempo y la temperatura de estudio.

Tabla 19. Estabilidad de la Dexametasona a 37 °C a diferentes tiempos de muestreo.

Estabilidad de la muestra.					
Tiempo de muestreo (minutos)	Altura (H)			Promedio	%DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
0	1932	1921	1920	1924.33	-----
15	1925	1911	1916	1917.33	0.36
30	1915	1912	1944	1923.66	0.03
45	1915	1930	1924	1923	0.06
90	1953	1930	1940	1941	0.86

4.2.4 Influencia del filtro

En los resultados de la tabla 20 se observa que las dos concentraciones que (0.55 µg/mL y otra de 0.7 µg/mL) están dentro del rango de validación, no existe diferencia significativa al usar el filtro de teflón ya que el % retenido es menor al 1%, por lo cual el filtro no tiene influencia sobre el principio activo a evaluar.

Resultados y análisis de resultados

Tabla 20. Influencia del filtro de teflón a dos concentraciones diferentes de Dexametasona.

Influencia del filtro		
	Baja	Alta
Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	0.55	0.7
Muestras	H	
Sin filtrar	1761	2173
Filtradas	1	2175
	2	2192
	3	2204
	4	2181
	5	2202
	6	2167
Promedio	1754.66	2186.83
%CV	0.98	0.68
%Retenido	0.36	0.64

4.3 Perfiles de disolución

Los resultados de disolución se presentan en las tablas 21 y 22 así como en las figuras 11 y 12. En ellas se observa que los productos son de muy rápida disolución ya que el % disuelto a los 15 minutos fue mayor del 85%.

Tabla 21. Resultados de los perfiles de Disolución de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, obteniéndose el %Disuelto del producto comercial de Dexa-Grin de los diferentes lotes.

Perfil de disolución en medio HCl 0.1N, pH 1.2 Producto Dexa-grin				
Tiempo(min)	Lote 61066		Lote 5K064	
	%Disuelto	%C.V.	%Disuelto	%C.V.
0	0	0	0	0
3	53.44	14.14	90.63	1.98
5	85.86	4.19	102.09	1.55
15	108.22	3.88	106.07	1.42
30	110.01	2.27	106.72	1.72
45	109.19	2.59	106.96	1.65

Resultados y análisis de resultados

Figura 11. Perfil de disolución comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos lotes diferentes del producto comercial Dexa-Grin.

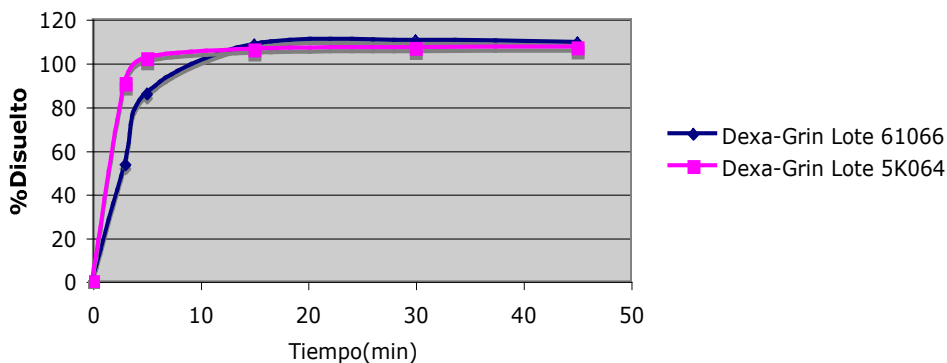


Tabla 22. Resultados de los perfiles de Disolución de tabletas de Dexametasona 0.5 mg, obteniéndose el %Disuelto del producto comercial de Alin de los diferentes lotes

Perfil de disolución en medio HCl 0.1 N, pH 1.2 Producto Alin				
Tiempo (Min)	Lote ZFG601		Lote ZEL601	
	%Disuelto	%C.V.	%Disuelto	%C.V.
0	0	0	0	0
3	42.34	13.92	86.97	7.16
5	75.61	8.03	105.55	3.65
15	88.12	6.68	106.14	3.39
30	93.83	5.56	106.42	5.30
45	97.05	6.91	105.98	3.60

Resultados y análisis de resultados

Figura 12. Perfil de disolución comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de dos lotes diferentes del producto comercial Alin.

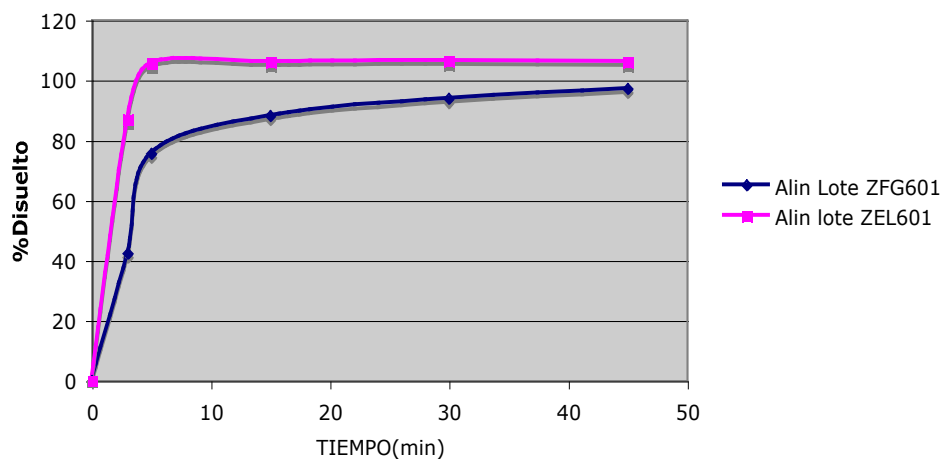
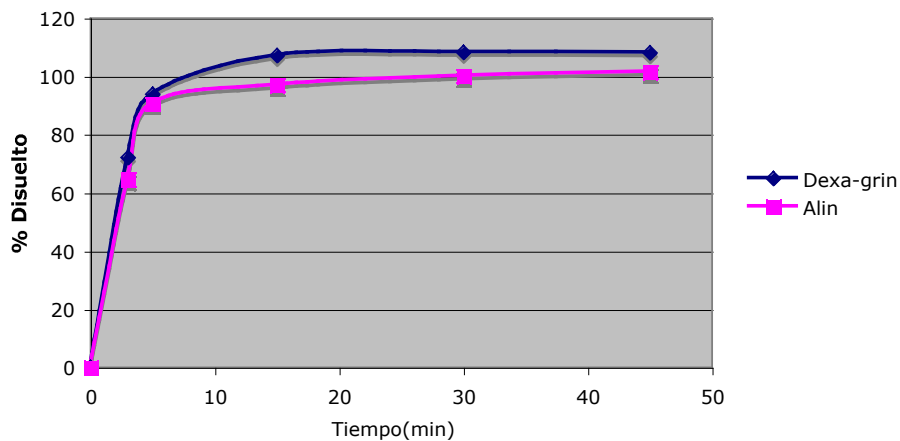


Figura 13. Perfil de disolución promedio comparativo de tabletas de Dexametasona 0.5 mg de los dos productos comerciales.



5.0

Conclusiones

Conclusiones

El sistema y el método analítico para la cuantificación de la Dexametasona en HCl 0.1N cumplió con los criterios de validación incluidos en la NOM-177-SSA1 por lo que es confiable para ser utilizado en pruebas de perfil de disolución.

Los perfiles de disolución de los productos bajo estudio fueron similares ya que en ambos casos la disolución fue mayor al 85% a los 15 minutos.

6.0

Bibliografía

1. Arístides Dokoumetzidis, Panos Macheras. A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *Internacional Journal of Pharmaceutics* , 2006, 321:1-11.
2. Alfonso Remington. *Farmacología*. 19ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
3. James Swarbrick, J. Boylan. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Ed. Marcel Dekker Inc. New York 2002.
4. Christina Graffner. Regulatory aspects of drug dissolution from a European perspective. *Eur. J. Pharm. Sci.* ,2006, 29:288-293.
5. Herbert A. Lieberman. *Pharmaceutical Dosage Forms vol 3*. 1982. Editorial Marcel Dekker, Inc. New York.
6. M. Aiache. *Biofarmacia*. 1983. Editorial El Manual Moderno. México D. F.
7. Malcolm Rowland. *Clinical Pharmacokinetics: concepts and applications*. Department of pharmacy. 1980. Lea & Febiger.
8. *Farmacopea de los Estados Unidos de América FEUM*. 8ª edición. Secretaria de Salud. México 2005.
9. FDA, Guidance for Industry, Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms based on a Biopharmaceutics Classification System (Agosto 2000)
10. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable . Requisitos que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
11. FDA, Guidance for Industry. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms (Agosto 1997).

12. The United States Pharmacopeial Convention. USP. NF 2006.
13. World Health Organization 2005. Proposal to Waive in vivo bioequivalence requirements for the WHO model list of essential medicines immediate release, solid oral dosage forms.
14. Gordon L. Amidon et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutical Drug Classification: The correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharm Res.* 1995, 12:413-420.
15. Venkata Ramana, S. Uppoor. Regulatory perspectives on in Vitro(dissolution)/in vivo (bioavailability) correlation. *J. Controlled Release*, 2001, 72:127-132.
16. Donald L. Wise. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. 2000. Marcel Dekker Inc. New York.
17. World Health Organization 2005. Multisource(generis) pharmaceutical products: Guidelines on registration requirements to establish interchangeability.
18. Blume, H.H., Schug, B.S. The biopharmaceutics classification system (BCS): class III drugs-better candidates for BA/BE waiver? *Eur. J. Pharm. Sci.*, 1999, 9: 117–121.
19. E. Gupta, D. M. Barends et al.. Review of global regulations concerning biowaivers for immediate release solid oral dosage forms. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2006, 29:315-324.
20. H. Kortejärvi, A. Urtti, M. Yliperttula. Pharmacokinetic simulation of biowaiver criteria: The effects of gastric emptying, dissolution, absorción and elimination rates. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2006, 30:155-166.

21. FDA, Guidance for Industry. Extenden Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In Vivo Correlations (Septiembre 1997)
22. FDA, Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products- General Considerations. (Marzo 2003)
23. Harris Daniel. Análisis Químico Cuantitativo. 1992. Grupo Editorial Iberoamericana.
24. Skoog. Principios de Análisis Instrumental. 5ª edición. 2001. Mc Graw Hill/Interamericana de España.
25. FDA, Guidance for Industry. Analytical Procedures and Methods Validation (Agosto 2000).
26. FDA, Guidance for Industry. Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology (Noviembre 1996).
27. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
28. Klaus Florey. Analytical Profiles of drug substances. 1984. Academia Press Inc.
29. Stephen G. Machatha, S Yalkowsky. Comparison of the octanol/water partition coefficients calculated by Clog P® , AClogP and Kow Win® to experimentally determined values. Int. J.Pharmaceutics, 2005, 294:185-192.

30. Lindenberg, M., Kopp, S., Dressman, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 2004, 58:265–278.
31. Kasim NA, Whitehouse M., Ramachandran C., Bermejom, Lennernäs H., Hussain AS, Junginger HE, Stavchansky S.A., Midha KK, Shah VP, Amidon GL. Molecular properties of WHO Essential drugs and provisional Biopharmaceutical Classification. *Molecular Pharmaceutics*, 2004, 1:85-96.
32. Martindale. Guía completa de consulta farmacoterapéutica. 2ª edición.
33. PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, 51 edición, México 2005.
34. Goodman and Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 9ª edición , vol 1 y 2, 1996. Mc Graw Hill Interamericana editores.
35. Vademécum Farmacéutico. Décima edición. 1992.