



---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE UN PRODUCTO  
FARMACÉUTICO CONTENIENDO  
LOSARTÁN/SIMVASTATINA/HIDROCLOROTIAZIDA EN MEDIO  
FaSSIF.**

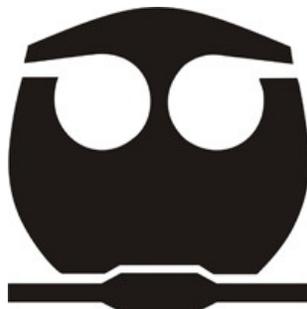
**TESIS MANCOMUNADA  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA**

**P R E S E N T A N**

**NORMA LUCERO ARIAS JIMÉNEZ**

**MARÍA ENRRIQUETA SEVILLA PÉREZ**



MÉXICO, D.F.

2010



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:**                    **Profesor: Dra. Inés Fuentes Noriega**

**VOCAL:**                           **Profesor: Dra. Helgi Helen Jung Cook**

**SECRETARIO:**               **Profesor: M.C. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado**

**1er. SUPLENTE:**               **Profesor: M.C. Lauro del Rivero Ramírez**

**2° SUPLENTE:**               **Profesor: MC. María Lourdes Mayet Cruz**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 112 Y 113, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, CONJUNTO E,  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

---

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dra. Helgi Helen Jung Cook**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

**M EN C. MARÍA DE LOURDES MAYET CRUZ**

**SUSTENTANTES:**

---

**Norma Lucero Arias Jiménez**

---

**María Enriqueta Sevilla Pérez**

# Agradecimientos

---

## Agradecimientos Norma Lucero

Agradezco a Dios, por haberme permitido lograr una más de mis metas, y por darme la familia que tengo.

A mis padres, gracias, por apoyarme en todos los momentos de mi vida y hacer todo lo posible para que yo lograré esta meta tan importante para mí. Mamá, gracias por animarme siempre que ya no podía y Papá gracias estar ahí cuando te necesitaba.

A mis hermanos, Bety, Kike y Hugo, por creer en mí, y siempre ayudarme y apoyarme para llegar hasta aquí. A todos mis sobrinos, los que saben que los quiero mucho. A Elvira, con la que sé siempre puedo contar. Y a toda mi familia, la cual siempre ha confiado en mí.

A la persona que amo, Ernesto, gracias por todo tu apoyo y comprensión, por estar presente en momentos importantes en mi vida y sobre todo por el amor que me demuestras día con día.

A Enriqueta, porque confiar en mí y permitirme compartir este trabajo con ella, ya que fue muy valiosa la experiencia.

A la Dra. Helgi, por la paciencia y dedicación para que esto fuera posible, también a la Dra. Inés y a la M.C. Margarita, por las correcciones que ayudaron a mejorar el presente trabajo.

Gracias a la facultad de Química por darme tantos conocimientos, y permitirme conocer gran profesores que admiro, en especial a Norma castellanos y Perla Castañeda, por su gran ayuda en momentos importantes.

Gracias a todas mis amistades, como mi gran y especial amiga Cindy, con la cual he compartido maravillosos momentos y me ha apoyado en los malos. A mis amistades de la facultad: Bety, Rebe, Ceci, Alexis, Eli, Bris, Carol, Rox, Vera... y bueno si sigo la lista es algo larga, pero en especial a un gran amigo el cual siempre recordaré: Iván. A todos los que me apoyaron a largo del camino: Gaby, Nan, Blanca, Lore y Angi. A los que conocí en el lab. 112-113. Y porque no, a mis nuevas amistades: Thalía, Víctor, Jonathan y Leonel, que aunque a pesar del poco tiempo de conocernos, sé que puedo contar con ellos. Gracias a todos por su amistad, cariño y apoyo.

“Por mi raza hablará el espíritu”

**Agradecimientos Enriqueta**

## Agradecimientos

---

*Gracias:*

*Principalmente a mi Padre y a mi Madre por su ánimo, amor, paciencia y apoyo incondicional, ustedes siempre serán lo más importante en mi vida.*

*A la Dra. Helgi por haberme permitido ser parte de este proyecto y gracias por el tiempo dedicado, por la experiencia y enseñanza que compartió. Ya que sus consejos siempre nos llevaron a una mejora continua.*

*A Norma Lucero por compartir sus conocimientos lo que hizo que el trabajo tuviera un bien para ambas.*

*A la Dra. Inés y a la Maestra Margarita por el tiempo dedicado a la revisión del trabajo y por sus correcciones que hicieron aun mejor el trabajo.*

*A mis amigos: Bety, Eduardo, Fabiola, Mariel y Sergio por estar presentes en esta etapa de mi vida y hacerla especial, quiero agradecerles por compartir momentos inolvidables que en su momento fueron tristes o alegres pero siempre estuvieron presentes y se que todavía nos queda mucho por compartir.*

*A Eduardo gracias por tus consejos y regaños, recuerda siempre serás el número uno.*

*A Armando Cano por ser parte de mi vida y hacerla especial, gracias por compartir tus sueños y tu tiempo conmigo.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y ser una profesionista más egresada de la Máxima Casa de Estudios.*

## Agradecimientos

---

A Landstainer Scientific, el cual nos brindo los materiales necesarios y la materia prima para el presente proyecto.

---

# *índice*

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
Índice de tablas.....	VII
Índice de figuras.....	IX
Abreviaturas.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. OBJETIVOS.....	4
3. GENERALIDADES.....	5
3.1. Hipertensión.....	6
3.2. Hidroclorotiazida	
3.2.1. Propiedades fisicoquímicas.....	9
3.2.2. Mecanismo de acción.....	10
3.2.3. Farmacocinética .....	11
3.2.4. Presentaciones comerciales.....	12
3.2.5. Reacciones adversas.....	13
3.2.6. Métodos analíticos para cuantificar por CLAR.....	14
3.3. Simvastatina	
3.3.1. Propiedades fisicoquímicas.....	15
3.3.2. Mecanismo de acción.....	16
3.3.3. Farmacocinética.....	17
3.3.4. Presentaciones comerciales.....	18
3.3.5. Reacciones adversas.....	19
3.3.6. Métodos analíticos para cuantificar por CLAR.....	20

3.4. Losartán	
3.4.1. Propiedades fisicoquímicas.....	21
3.4.2. Mecanismo de acción.....	22
3.4.3. Farmacocinética.....	23
3.4.4. Presentaciones comerciales.....	24
3.4.5. Reacciones adversas.....	24
3.4.6. Métodos analíticos para cuantificar por CLAR.....	25
3.5. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).....	26
3.5.1. Componentes.....	26
3.5.1.1. Fase estacionaria.....	27
3.5.1.2. Fase móvil.....	29
3.5.1.3. Sistema de bombeo.....	30
3.5.1.4. Sistema de inyección.....	30
3.5.1.5. Detectores.....	31
3.5.2. Interpretación de los cromatogramas.....	32
3.5.3. Parámetros cromatográficos.....	33
3.6. Disolución	
3.6.1. Importancia.....	36
3.6.2. Factores que afectan el proceso de disolución.....	37
3.6.3. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS).....	39
3.6.4. Consideraciones importantes del tracto gastrointestinal.....	42
3.6.4.1. Composición luminal.....	42
3.6.4.1.1. pH.....	42
3.6.4.1.2. Lípidos y el ambiente intestinal posprandial....	43
3.6.4.1.3. Tensoactivos.....	44
3.6.4.1.4. Enzimas.....	44
3.6.4.1.5. Volumen.....	45

3.6.4.2. Hidrodinámica del tracto gastrointestinal.....	46
3.6.4.2.1. Patrones de mezclado en el intestino.....	46
3.6.5. Medios Biorrelevantes.....	46
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. Reactivos, material y equipo.....	51
4.1.1. Reactivos.....	51
4.1.2. Material.....	51
4.1.3. Equipo.....	52
4.2. Productos estudiados.....	53
4.3. Preparación de soluciones.....	54
4.3.1. Solución amortiguadora de fosfatos.....	54
4.3.2. Fase móvil.....	54
4.3.3. Preparación del medio de disolución biorrelevante FaSSIF.....	54
4.4. Método analítico para cuantificar Hidroclorotiazida/Simvastatina/Losartán en medio FaSSIF.....	55
4.4.1. Preparación de la curva patrón.....	55
4.4.2. Condiciones cromatográficas.....	56
4.5. Validación	
4.5.1. Validación del sistema.....	56
4.5.1.1. Linealidad del sistema.....	56
4.5.1.2. Precisión.....	56
4.5.2. Validación del método analítico.....	57
4.5.2.1. Linealidad del método.....	57
4.5.2.2. Precisión y Exactitud.....	58
4.5.2.3. Estabilidad.....	58

4.5.2.4. Selectividad.....	59
4.5.2.5. Influencia del filtro.....	59
4.6. Estudio de perfiles de disolución.....	61
4.6.1. Condiciones de la prueba .....	61
<b>5. RESULTADOS Y ANÁLISIS</b>	
5.1. Desarrollo del método analítico.....	65
5.1.1. Condiciones cromatográficas.....	65
5.2. Validación del método analítico.....	67
5.2.1. Validación del sistema.....	67
5.2.1.1. Linealidad.....	67
5.2.1.2. Precisión.....	71
5.2.2. Validación del método analítico en medio FaSSIF.....	72
5.2.2.1. Linealidad.....	72
5.2.2.2. Precisión y Exactitud.....	74
5.2.2.2.1. Repetibilidad .....	74
5.2.2.2.2. Reproducibilidad.....	75
5.2.2.3. Influencia del filtro.....	77
5.2.2.4. Selectividad.....	78
5.2.2.5. Estabilidad.....	80
5.3. Perfiles de Disolución	
5.3.1. Perfiles de disolución de los productos piloto.....	81
5.3.1.1. Perfil de disolución de cápsulas con microesferas de Hidroclorotiazida/Losartán/simvastatina (12.5, 50, 20 mg). Producto Piloto 1 (PP1).....	81
5.3.1.2. Perfil de disolución de cápsulas con microesferas de Hidroclorotiazida/Losartán/simvastatina (12.5, 50, 10 mg). Producto Piloto 2 (PP2).....	82

5.3.2. Perfiles de disolución de los productos comerciales.....	84
5.3.2.1. Perfil de disolución del producto HYZAAR.....	84
5.3.2.2. Perfil de disolución del producto ZOCOR.....	85
5.3.3. Comparación de los perfiles de disolución.....	85
6. CONCLUSIONES.....	87
7. BIBLIOGRAFIA.....	89

Índice de tablas

<b>No. de Tabla</b>	<b>Página</b>
Tabla 1. Fármacos utilizados para el tratamiento de la hipertensión .....	8
Tabla 2. Datos de solubilidad y longitudes de onda con diferentes solventes .....	10
Tabla 3. Presentaciones comerciales de hidroclorotiazida.....	12
Tabla 4. Métodos para cuantificar Hidroclorotiazida en diferentes formas farmacéuticas .	14
Tabla 5. Presentaciones comerciales de simvastatina.....	18
Tabla 6. Métodos para cuantificar simvastatina en tabletas y plasma .....	20
Tabla 7. Presentaciones comerciales de Losartán en una presentación farmacéutica.....	24
Tabla 8. Métodos de cuantificación de Losartán en tabletas.....	25
Tabla 9. Fases móviles usadas para HPLC .....	29
Tabla 10. Parámetros fisiológicos y fisicoquímicos que influyen en la disolución de los fármacos en el tracto gastrointestinal .....	38
Tabla 11. pH en el intestino delgado en humanos sanos en estado preprandial y postprandial .....	43
Tabla 12. Composición y propiedades fisicoquímicas del medio FaSSIF .....	48
Tabla 13. Composición y propiedades fisicoquímicas del medio FeSSIF .....	49
Tabla 14. Contenido de los principios activos en los productos piloto .....	53
Tabla 15. Preparación de la curva patrón de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán en medio FaSSIF.....	55
Tabla 16. Criterios de aceptación de acuerdo a la NOM-177-SSA-1998 .....	60
Tabla 17. Relación concentración respuesta para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSIF.....	67
Tabla 18. Relación concentración respuesta para la cuantificación de Losartán en medio FaSSIF.....	68
Tabla 19. Relación log concentración vs log respuesta para la cuantificación de simvastatina en medio FaSSIF .....	69
Tabla 20. Resultados Error Relativo Debido a la regresión.....	70
Tabla 21. Precisión del sistema de Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina.....	71

Tabla 22. Linealidad del método para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSiF.....	72
Tabla 23. Linealidad del método para la cuantificación de Losartán en medio FaSSiF ....	73
Tabla 24. Linealidad del método para la cuantificación de Simvastatina en medio FaSSiF .....	73
Tabla 25. Resultados Error Relativo Debido a la regresión para el método por Cromatografía para la cuantificación de los fármacos en medio FaSSiF .....	73
Tabla 26. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Hidroclorotiazida .....	74
Tabla 27. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Losartán .....	74
Tabla 28. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Simvastatina .....	75
Tabla 29. Precisión del método: Reproducibilidad entre días .....	75
Tabla 30. Precisión del método: Reproducibilidad entre analistas .....	76
Tabla 31. Influencia del filtro para simvastatina.....	77
Tabla 32. Estabilidad en refrigeración de Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina .....	80
Tabla 33. Estabilidad Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina a temperatura ambiente de.....	80
Tabla 34. Porcentaje disuelto de Losartán a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF).....	81
Tabla 35. Porcentaje disuelto de Losartán a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF).....	83
Tabla 36. Porcentaje disuelto de Hidroclorotiazida y Losartán del producto Hyzzar a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF) .....	84

## Índice de figuras

No. de figura	Página
Figura 1. Estructura química de la hidroclorotiazida.....	9
Figura 2. Estructura química de la simvastatina .....	15
Figura 3. Estructura del $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina .....	16
Figura 4. Estructura química del Losartán.....	21
Figura 5. Componentes de CLAR: A) Contenedores de fase móvil, B) Sistema de bombeo, C) Sistema controlador de flujo; D) Filtro; E) Válvula de inyección; F) Columna; G) Comunicador equipo HPLC-Computadora; H) Detector; I) Software; J) Impresora .....	27
Figura 6. Cromatograma mostrando la separación de dos sustancias .....	32
Figura 7. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	39
Figura 8. Cromatograma típico del blanco de Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) .....	65
Figura 9. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [4.8/3.0/12 $\mu\text{g/mL}$ ] en Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid).....	66
Figura 10. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [48/30/120 $\mu\text{g/mL}$ ] en Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid).....	66
Figura 11. Linealidad del sistema para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSIF.....	68
Figura 12. Linealidad del sistema para la cuantificación de Losartán en medio FaSSIF ..	69
Figura 13. Relación log de concentración vs log de respuesta para simvastatina en medio FaSSIF.....	70
Figura 14. Cromatograma típico del blanco: Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) .....	78
Figura 15. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán, de estándares en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) .....	78
Figura 16. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán del producto piloto 1, en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) .....	79
Figura 17. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán del producto piloto 2, en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid) .....	79

Figura 18. Gráfico del porcentaje disuelto de Losartán con respecto al tiempo en medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF) .....	82
Figura 19. Gráfico del %disuelto de Losartán con respecto al tiempo en medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF) .....	83
Figura 20. Gráfico de porcentaje disuelto de Hidroclorotiazida y Losartán del producto Hyzzar a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF) .....	85

## Abreviaturas

µg	Microgramos
ACN	Acetonitrilo
A-II	Angiotensina II
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
b	ordenada al origen
BCS	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
CV	Coefficiente de variación
DEA	Desviación estándar absoluta
DMSO	Dimetilsulfóxido
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
ERR	Error relativo debido a la regresión
FaSSIF	Fasted state simulated intestinal fluid
FeSSIF	Fed state simulated intestinal fluid
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
h	Horas
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A
K	Factor de retención
Kg	Kilogramos
L	Litro
lb	Libras
LDL	Lipoproteínas de baja densidad

m	Pendiente
meq	Miliequivalentes
min	Minutos
mL	Mililitros
N	Platos teóricos
NOM	Norma Oficial Mexicana
pulg	Pulgadas
$r^2$	Coefficiente de determinación
RAAS	Renina-Angiotensina-Aldosterona
RAS	Renina-Angiotensina
rpm	Revoluciones por minuto
$R_r$	Retención realtiva
$R_s$	Resolución
SGF	Fluido que simula el estado de ayuno en el estomago
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
$\alpha$	Selectividad



# 1. Introducción

## Introducción

Actualmente, los cambios en la alimentación, así como el ritmo de vida acelerado, han provocado que algunos padecimientos que normalmente se presentaba en edades maduras o avanzadas se presenten a temprana edad. Uno de estos casos es la hipertensión, la cual es un problema de salud pública, que se presenta con gran frecuencia. Su importancia como factor de riesgo cardiovascular adquiere mayor trascendencia sanitaria cuando se asocia con otros padecimientos como la dislipidemia o la diabetes o la obesidad.

Existen en el mercado terapias que han comprobado una buena respuesta para el tratamiento de la hipertensión, entre ellos, la combinación de Losartán/Hidroclorotiazida, en dosis bajas, una vez al día es un tratamiento eficaz y se logra una disminución mayor de la presión arterial que cuando se lleva un tratamiento con monoterapia con Losartán.

Se ha demostrado que la combinación simvastatina/ losartán tiene efectos benéficos sobre la función endotelial y los marcadores inflamatorios. Ello se puede deber al efecto de la combinación para mejorar el perfil lipídico, la presión arterial, los valores de adiponectina y la sensibilidad a la insulina. Ello da lugar a que el tratamiento combinado de simvastatina/ losartán, puede reducir las complicaciones cardiovasculares en una proporción mayor que la monoterapia con uno de ellos. La combinación de losartán, hidroclorotiazida y simvastatina podría ser de importancia ya que no solo ayudaría a controlar la hipertensión, también tendría un beneficio sobre la hiperlipidemia.

En el presente trabajo, se evaluó el perfil de disolución de dos productos pilotos conteniendo una combinación de losartán, hidroclorotiazida y simvastatina, empleando para ello, un medio biorrelevante. También se desarrollo un método analítico de cromatografía para poder cuantificar los perfiles, donde se cumplió con las características necesarias para poder confiar en él.



# III. Objetivos

---

## **Objetivos:**

- Desarrollar y validar el método analítico para cuantificar simultáneamente Losartán/Hidroclorotiazida/Simvastatina, en el medio FaSSIF (Fasted state simulated intestinal fluid).
- Determinar el comportamiento en disolución de dos productos piloto conteniendo Hidroclorotiazida/Losartán/Simvastatina en el medio FaSSIF.
- Comparar los perfiles de disolución del producto piloto con los ya existentes en el mercado : Hyzaar (Hidroclorotiazida/Losartán, 12.5 y 50 mg) y Zocor (Simvastatina, 20 mg)



# III. Generalidades

### 3.1. HIPERTENSION<sup>(7,19)</sup>

La hipertensión arterial, es el estado en el que la presión del sistema arterial es normalmente elevada, es decir, un nivel de presión sistólica por encima de 140 mm Hg y una presión diastólica de más 90 mm Hg, de manera permanente. El origen de esta enfermedad es multifactorial y en algunos casos el origen es desconocido. En México en el año 2000, se detectó una prevalencia de hipertensión del 30% en la población cuyas edades oscilaban entre 20 y 69 años con un predominio mayor en varones que en mujeres (34 y 26% respectivamente).

La hipertensión arterial es un padecimiento crónico de etiología variada y que se caracteriza por el aumento sostenido de la presión arterial, ya sea sistólica, diastólica o de ambas. En el 90% de los casos la causa es desconocida por lo cual se le ha denominado hipertensión arterial esencial, con una fuerte influencia hereditaria. En 5 a 10% de los casos existe una causa directamente responsable de la elevación de las cifras tensionales y a esta forma de hipertensión se le denomina hipertensión arterial secundaria.

El sistema renina-angiotensina (RAS) o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) es un sistema hormonal que ayuda a regular a largo plazo la presión sanguínea y el volumen extracelular corporal. La renina es secretada por las células granulares del aparato yuxtaglomerular, localizado en el túbulo contorneado distal de las nefronas renales.<sup>1</sup> Esta enzima cataliza la conversión del angiotensinógeno (proteína secretada en el hígado) en angiotensina I que, por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA, secretada por las células endoteliales de los pulmones), se convierte en angiotensina II. Uno de los efectos de la A-II es la liberación de aldosterona.

El tratamiento de la hipertensión arterial incluye tanto medidas farmacológicas como no farmacológicas. Estas últimas consisten en implementar algunos cambios en el estilo de vida como son reducción de peso, dieta rica en potasio, calcio y pobre en sodio, ejercicio aeróbico, reducción en el consumo de alcohol.

Para el tratamiento farmacológico se cuenta con un extenso número de agentes antihipertensivo, los cuales se presentan en la tabla 1.

Tabla 1 . Fármacos utilizados para el tratamiento de la hipertensión

<p>1. Diuréticos</p> <p><b>Clortalidona</b></p> <p><b>Hidroclorotiazida</b></p>
<p>2. Inhibidores del sistema renina angiotensina. Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.</p> <p><b>Captoprilo</b></p> <p><b>Enalaprilo</b></p> <p><b>Ramiprilo</b></p> <p>Antagonista de los receptores de angiotensina</p> <p><b>Losartán</b></p> <p><b>Candesartán</b></p> <p><b>Valsartán</b></p>
<p>3. Bloqueadores de los canales de calcio</p> <p><b>Nifedipina</b></p> <p><b>Amlodipino</b></p>
<p>4. Inhibidores del sistema nervioso simpático. Antagonistas de receptores adrenérgicos alfa.</p> <p><b>Prazosina</b></p> <p>Antagonistas de receptores adrenérgicos beta.</p> <p><b>Metoprolol</b></p> <p>Inhibidores del tono simpático central.</p> <p><b>Metildopa</b></p> <p><b>Clonidina</b></p>
<p>5. Vasodilatadores directos.</p> <p><b>Hidrazalina</b></p> <p><b>Nitroprusiato de sodio</b></p>

### 3.2. HIDROCLOROTIAZIDA<sup>(13)</sup>

La hidroclorotiazida pertenece al grupo de los diuréticos tiazídicos, Su estructura química se presenta en la figura 1.

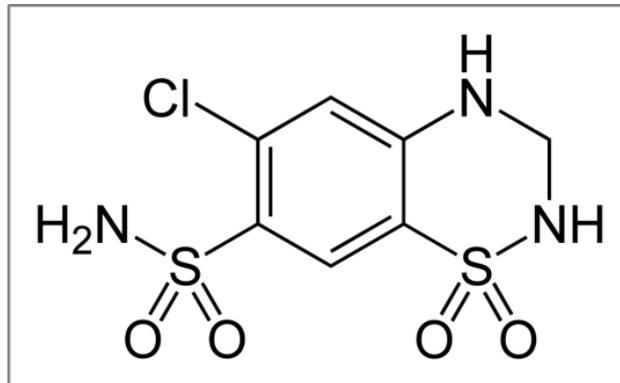


Figura 1. Estructura química de la hidroclorotiazida

#### 3.2.1. Propiedades Fisicoquímicas<sup>(10,12,16, 38)</sup>

- Nombre químico: 6-cloro-1,1-dioxo-3,4-dihidro-2*H*-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida
- Formula molecular: C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>
- Peso molecular: 297.73 g/mol
- pKa: La hidroclorotiazida es un compuesto básico, con dos valores de 7.9 y 9.2
- Clasificación biofarmacéutica: Clase IV
- Solubilidad: ligeramente soluble en agua; completamente soluble en una solución de hidróxido de sodio o dimetilformamida; poco soluble en metanol e insoluble en éter o cloroformo.
- Los valores de longitud de onda en diferentes disolventes, se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Datos de solubilidad y longitudes de onda con diferentes disolventes

Solvente	$\lambda_{\text{máx}}$ nm	log $\epsilon$
Etanol	225	4.576
	269	4.307
	316	3.505
Metanol	271	4.279
	317	3.471
Agua	270	4.286
	315	3.495
0.01 N HCl	270	4.290
	315	3.500
0.01 N NaOH	272	4.193
	323	3.435
0.1 N NaOH	221	4.448
	273	4.198
	319/320	3.456

### 3.2.2. Mecanismo de acción<sup>(6,40)</sup>

La hidroclorotiazida pertenece al grupo de las tiazidas estas tienen la característica de tener un efecto antihipertensivo potente y un efecto diurético moderado.

La hidroclorotiazida como agente diurético actúa solo en un segmento de la nefrona el cual es el túbulo contorneado distal, en esta región se va a inhibir la reabsorción del cloruro de sodio a través de bloquear el sistema co-transporte  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ , produciéndose un pérdida de agua, sodio, cloro y potasio. Así mismo se produce un aumento en la reabsorción de Calcio, esto se debe por la producción de un intercambio de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  en la membrana basolateral.

La hidroclorotiazida como agentes antihipertensivos actúa modulando la actividad de los canales de  $\text{K}^+$ , estos canales se encuentran regulados por el ATP de las arteriolas de resistencia produciéndose una hiperpolarización de la membrana teniendo como resultado la oposición a la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y a la contracción en el músculo liso y a nivel sistémico se reduce la resistencia vascular periférica.

### 3.2.3. Farmacocinética <sup>(6, 17, 21, 24, 28)</sup>

**Absorción.** La hidroclorotiazida administrada por vía oral presenta una absorción del 65-75% de la dosis. Después de una dosis única de 50 mg por vía oral (tabletas) el tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima es de  $1.9 \pm 0.5$  horas, alcanzando una concentración máxima de  $75 \pm 17$  ng/ml.

**Distribución.** La hidroclorotiazida presenta una unión a proteínas plasmáticas aproximadamente del 40%. Su volumen de distribución es de 58.1 litros. Su biodisponibilidad es de aproximadamente 70%.

**Metabolismo.** La hidroclorotiazida no se metaboliza.

**Eliminación.** Presenta una depuración renal de  $4.9 \pm 1.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ . Se excreta por vía renal en un 95%. Su vida media plasmática ( $t_{1/2}$ ) es de 2.5 horas.

La eliminación se lleva a cabo por el sistema secretor de ácidos orgánicos que se encuentra en el túbulo proximal donde compete con la secreción de ácido úrico, produciendo una disminución en la secreción de ácido úrico y por lo tanto un aumento de ácido úrico en sangre. Se excreta prácticamente por completo como fármaco inalterado por filtración glomerular y secreción tubular activa.

En pacientes con insuficiencia renal se reduce la excreción del fármaco y se aumenta la vida media. Presenta un efecto de diuresis dos horas después de que es administrado por vía oral. Cuando el paciente presenta un problema de insuficiencia renal moderada, el cual se muestra una pérdida de eficacia de las tiazidas.

El efecto de la tiazidas va a depender en algunas ocasiones en la producción renal de prostaglandinas, por lo que los efectos de las tiazidas se ven disminuidos por la administración de los AINE's (antiinflamatorios no esteroideos).

### 3.2.4. Presentaciones comerciales<sup>(28)</sup>

En la tabla 3 se muestran las presentaciones comercial de hidroclorotiazida.

**Tabla 3. Presentaciones comerciales de hidroclorotiazida**

Nombre comercial	Laboratorio	Combinado con	Forma Farmacéutica	Presentaciones disponibles
ROFUCAL	PROBIOMED	_____	Tabletas	25 mg
HYZAAR	MERCK SHARP & DOHME	Losartán	Comprimidos recubiertos	Losartán potásico 50 mg, 100 mg, 100 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg, 12.5 mg, 25 mg
ALMETEC-CO	SCHERING-PLOUGH	Olmesartán	Comprimidos	Olmesartán medoxomilo 20 mg, 40 mg, 40 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg, 12.5 mg, 25 mg
ATACAND PLUS	ASTRAZENECA	<i>Candesartán</i>	Tabletas	Candesartán cilexetilo 16 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg
BICONCOR	MERCK	Fumarato de bisoprolol	Tabletas recubiertas	Fumarato de bisoprolol 2.5 mg, 5.0 mg, 10 mg Hidroclorotiazida 6.25 mg, 6.25 mg, 6.25 mg
CO-DIOVAN	NOVARTIS	<i>Valsartán</i>	Tabletas	Valsartán 80 mg, 160 mg, 160 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg, 12.5 mg, 25 mg
DYNYEL	LABORATORIOS RAAM DE SAHUAYO	Ramipril	Tabletas	Ramipril 2.5mg y 5.0 mg Clorhidrato hidroclorotiazida 12.5 mg y 25 mg
SELOPRES ZOK	ASTRAZENECA	<i>Metoprolol</i>	Tabletas	Succinato de metoprolol 95 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg
TEVETENZ DOX	ITALMEX	<i>Eprosartán</i>	Tabletas recubiertas	Mesilato de eprosartán 600.0 mg Hidroclorotiazida 12.5 mg

### 3.2.5. Reacciones Adversas<sup>(6, 17, 21, 24, 28)</sup>

Se produce un efecto de hipopotasemia y caliuria esto es porque las tiazidas producen un aumento en la concentración de  $\text{Na}^+$  en el túbulo contorneado distal, y por lo tanto una disminución en la reabsorción de  $\text{K}^+$ , por lo que se ve alterado el intercambio de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , esto da por resultado reacciones adversas como son deshidratación, debilidad muscular y fatiga.

Debido que se produce una interferencia en la eliminación de ácido úrico en algunos pacientes les llega a causar gota.

Pueden producir hiperglucemia en pacientes diabéticos, esto debido a la alteración pancreática de la insulina, provocada por las tiazidas.

Las tiazidas pueden causar alcalosis metabólica esto se debe a que se produce un aumento de la reabsorción de  $\text{Na}^+$  al final del túbulo distal y en el conducto colector, produciéndose una estimulación en la secreción de  $\text{H}^+$ .

Produce un incremento del 5 a 15% de la concentración total de colesterol en sangre, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y triglicéridos totales por lo que se llega a presentar hiperlipidemia, por lo cual se debe administrar un antilipidémico, para controlarlo.

Como la tiazidas presentan el grupo sulfonamida pueden producir reacciones cruzadas con otros miembros de las tiazidas. Estas reacciones alérgicas son muy raras. Entre estas se encuentran: fotosensibilidad o dermatitis generalizada, anemia hemolítica, trombocitopenia y pancreatitis aguda necrotizante.

Un efecto adverso común que solo ocurre en el varón es la disfunción sexual.

### 3.2.6. Métodos Analíticos para cuantificar por CLAR

En la tabla 4 se presentan los métodos analíticos reportados para la cuantificación de hidroclorotiazida, tanto solo como en combinación con losartán, por cromatografía de líquidos de alta resolución en diferentes formas farmacéuticas.

**Tabla 4. Métodos para cuantificar Hidroclorotiazida en diferentes formas farmacéuticas**

Columna	Fase móvil	Velocidad de flujo	$\lambda_{max}$	Intervalo de concentración	Tr	Ref.
C-18 (25 cm X 4.6 mm)	50 mM de acetato de amonio en agua destilada : Solución amortiguadora de fosfatos: acetonitrilo (60:40, v/v) pH 5.5 y ajustarlo con ácido acético.	1 mL/min	260 nm	10-150 $\mu\text{g/mL}$	3 a 15 min	29
C-18 (25 cm X 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	Metanol : Agua (95:5)	1.2 mL/min	225 nm	2-20 $\mu\text{g/mL}$	4.40 min	15
Spherisorb, (4.6mmx250mm, 5 $\mu\text{m}$ )	Solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M : acetonitrilo : Tetrahydrofurano (85:10:5, v/v/v)	1 mL/min	225 nm	125-375 $\mu\text{g/mL}$	4.86 $\pm$ 0.004 min	34

Columna	Fase móvil	Velocidad de flujo	$\lambda_{max}$	Intervalo [ ] (HCTZ)	Intervalo [ ] (LP)	Tr (Hidroclorotiazida)	Tr (Losartán)	Ref.
C-18 (25 cm X 4.6 mm)	Fosfato de potasio dihidrogenado (10 mmol/L) pH 3.1 : Acetonitrilo : Metanol (65:33:2, v/v/v)	0.8 mL/min	226 nm	0.34-0.77 $\mu\text{g/mL}$	0.62-2.06 $\mu\text{g/mL}$	144 sec	252 sec	27
Columna: Ervasil fase reversa (125x4.0 mm)	Acetonitrilo: Solución amortiguadora de fosfatos (pH 4; 0.1 M) (35:65, v/v)	1 mL/min	230 nm	0.5-2.0 $\mu\text{g/mL}$	3.0-7.0 $\mu\text{g/mL}$	1.8 min	7.2 min	4
C-18 (5 $\mu\text{m}$ , 15 cm X 60 mm)	Fosfato de sodio dihidrogenado : Metanol : Acetonitrilo (8.2:1, v/v/v) pH 5.5 Ajustado con ácido fosfórico	1.0 mL/min	265 nm	2.0-30.0 $\mu\text{g/mL}$	10.0-30.0 $\mu\text{g/mL}$	3.45 min	6.10 min	5

### 3.3. SIMVASTATINA<sup>(12, 17)</sup>

Pertenece a la familia de las estatinas, la simvastatina es producida industrialmente por un proceso de fermentación de *Aspegillus terreus*, la simvastatina tiene un grupo lateral, estructura química que se caracteriza por tener un anillo hexahidronaftaleno, cuya estructura es parecida a la de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-conzima A (HMG-CoA), la estructura química de la simvastatina se muestra en la figura 2.

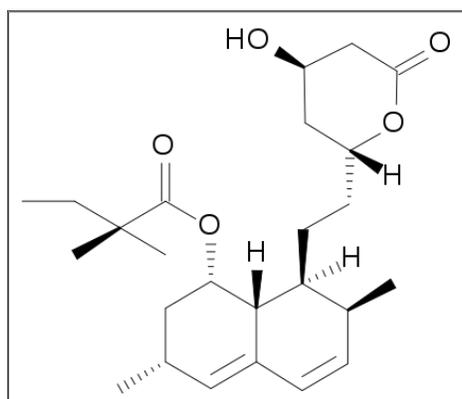


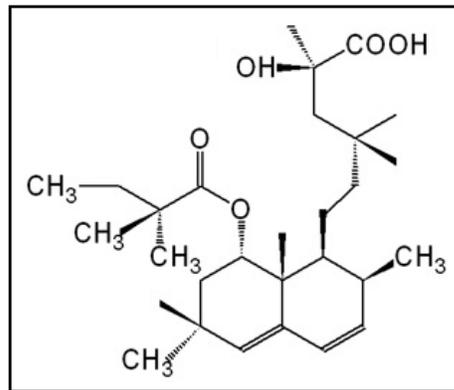
Figura 2. Estructura química de la simvastatina

#### 3.3.1. Propiedades Fisicoquímicas<sup>(16, 18, 38)</sup>

- Nombre químico: ácido 2,2-dimetil-,1,2,3,7,8,8<sup>a</sup>-hexahidro-3,7-dimeti-8-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1-naphtalenil butanóico
- Formula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>
- Peso molecular: 418.57 g/mol
- Solubilidad: Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en alcohol.
- λ Absorción UV(acetonitrilo): 231, 238 y 247 nm ( $A_{1\%}^{1\text{cm}} = 516, 604 \text{ y } 408$ )
- Constantes de disociación: no presenta constantes de disociación ácido/base.
- Clasificación biofarmacéutica: Clase II

**3.3.2. Mecanismo de acción**<sup>(6, 17, 20, 21)</sup>

La simvastatina es un profármaco inactivo tipo lactona, el cuál es hidrolizado en el tracto gastrointestinal, dando lugar a sus metabólicos activos, que son:  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina, el 6'-hidroxi, 6'-hidroximetil, y 6'-exometileno. El metabolito que hace que el fármaco tenga un efecto terapéutico es el  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina, que se muestra en la figura 3.



**Figura 3. Estructura del  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina**

El  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina es inhibidor competitivo de la HMG-CoA, por lo que hay una disminución en la conversión de HMG-CoA en mevalonato, por lo que la síntesis de colesterol se ve disminuida, esta inhibición hace que se reduzcan a nivel plasmático las lipoproteínas de baja densidad (LDL) ya que estas son las encargadas de transportar al colesterol plasmático. También hay una disminución de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de los triglicéridos a nivel plasmático produciéndose un aumento en los niveles de colesterol lipoproteínas de alta densidad (HDL) a nivel plasmático. Se produce una disminución de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) aproximadamente del 30 al 40%

Este fármaco reduce de manera considerable la concentración plasmática de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), en especial cuando se combina con otros.

### 3.3.3. Farmacocinética (6, 17, 20, 21, 28, 30)

**Absorción.** La simvastatina presenta una buena absorción en el tracto gastrointestinal, ya que se absorbe en un 85%. Los alimentos no afectan la absorción de este fármaco. Después de una dosis única de 50 mg por vía oral (tabletas) el tiempo para alcanzar la concentración máxima es de  $1.4 \pm 1.0$  horas y la concentración máxima es de  $46 \pm 20$  meq/ml.

**Distribución.** Tanto la simvastatina como el  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina presentan una gran afinidad a las proteínas plasmáticas (95 a 98%). Debido a que es un fármaco lipófilo, puede atravesar la barrera hematoencefálica.

#### **Metabolismo.**

La simvastatina sufre un intenso efecto de primer paso hepático, por lo que la biodisponibilidad es baja (<5%). Los principales metabolitos activos de la simvastatina presentes en el plasma humano son el  $\beta$ -hidroxiácido de simvastatina y los derivados 6'-hidroxi, 6'-hidroximetil, y 6'-exometileno. La simvastatina es un sustrato de CYP3A4, aunque no actúa como inhibidor del mismo. Sus niveles plasmáticos pueden verse modificados por otros fármacos sustrato del CYP3A4, mientras que el efecto no va en sentido inverso.

**Eliminación.** El tiempo de vida media es de 1 a 3 horas. El valor reportado de depuración renal es de  $7.6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$ . La eliminación de una dosis oral es del 60% en la heces y el 13% en la orina.

### 3.3.4. Presentaciones comerciales<sup>(28)</sup>

En la tabla 5 se muestran las presentaciones comerciales conteniendo simvastatina.

**Tabla 5. Presentaciones comerciales de simvastatina**

<b>Nombre comercial</b>	<b>Laboratorio</b>	<b>Combinada con</b>	<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Presentaciones disponibles</b>
ZOCOR	MERCK SHARP & DOHME	_____	Comprimidos recubiertos	10 y 20 mg
COLESKEN	LABORATORIOS KENDRICK	_____	Tabletas	10 y 20 mg
COTRITEV	TEVA	_____	Tabletas	10 ,20, 40 y 80 mg
NODOLIP	RAYERE	_____	Tabletas	10 y 20 mg
PULSARAT	LIOMONT	_____	Tabletas	10 ,20, 40 y 80 mg
SIMPLAQOR	SANDOZ	_____	Tabletas	10, 20, 40 y 80 mg
XINTILAN	LANDSTAINER-SCIENTIFIC	_____	Tabletas	10 y 20 mg
ZEID	SENOSIAN	_____	Capsulas	10 ,20 y 40 mg
ZORCED	COLLINS	_____	Tabletas	5, 10, 20, 40 y 80 mg
AMLIDUAL	SANDOZ	Amlodipino	Tabletas	Mesilato de amlodipino 5 mg Simvastatina 10 y 20 mg
VYTORIN	MERCK SHARP AND DOHME DE MÉXICO	Ezetimiba	Comprimidos	Ezetimiba 10 mg Simvastatina 10, 20, 40 y 80 mg
ZINTREPID	SCHERING-PLOUGH	Ezetimiba	Comprimidos	Ezetimiba 10 mg Simvastatina 10, 20, 40 y 80 mg

### 3.3.5. Reacciones Adversas<sup>(6, 17, 20, 21)</sup>

Los efectos adversos más comunes que se presentan son dolor abdominal, cefalea, mareo, alteración del gusto, insomnio, diarrea, flatulencias y fotosensibilidad.

Una reacción adversa común es que se muestren elevaciones leves de las transaminasas séricas.

Un 10% de los pacientes llega a presentar un aumento de la creatinina la cual es liberada en el músculo esquelético por lo que se llega a presentar dolor muscular intenso.

Las reacciones menos frecuentes son cuando se llega a presentar miopatía y rabdomiólisis. La rabdomiólisis se presenta cuando se administra de manera conjunta. Itraconazol, ketoconazol, eritromicina, claritromicina, telitromicina, inhibidores de la proteasa del VIH o nefazodona, particularmente con las dosis altas.

### 3.3.6. Métodos Analíticos para cuantificar por CLAR

En la tabla 6 se presentan los métodos analíticos reportados para la cuantificación de simvastatina por cromatografía de líquidos de alta resolución en diferentes formas farmacéuticas.

**Tabla 6. Métodos para cuantificar simvastatina en tabletas y plasma**

	Columna	Fase móvil	Velocidad de flujo	$\lambda_{\max}$	Intervalo de concentración	Tr	Ref.
<b>Tabletas</b>	C-18 (25 cm X 4.6 mm)	50 mM de acetato de amonio en agua destilada: Solución amortiguadora de fosfatos: acetonitrilo (60:40, v/v) pH 5.5 y ajustarlo con ácido acético.	1 mL/min	260 nm	10-150 $\mu\text{g/mL}$	3 a 15 min	33
<b>Plasma</b>	C-18 (25 cm X 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	Metanol : Agua (95:5)	1 mL/min	238 nm	2-20 $\mu\text{g/mL}$	4.40 min	19
	C-18 (25 cm X 4.6 mm)	Solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M : acetonitrilo : Tetrahidrofurano (85:10:5, v/v/v)	1 mL/min	225 nm	125-375 $\mu\text{g/mL}$	4.86 $\pm$ 0.004 min	20

### 3.4. LOSARTÁN<sup>(12, 17)</sup>

Fármaco usado para tratar la hipertensión, que se usa regularmente combinado con hidroclorotiazida. Su estructura química se muestra en la figura 4.

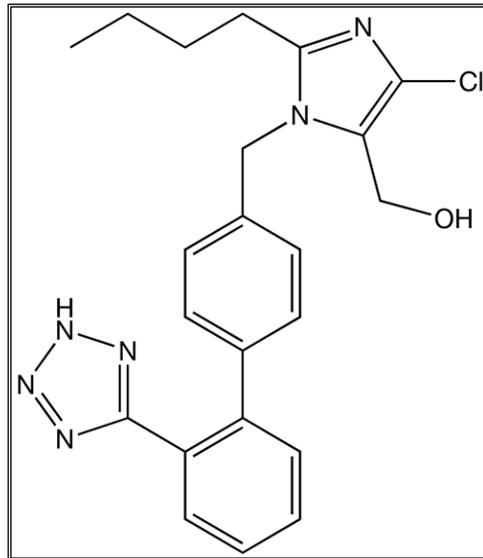


Figura 4. Estructura química del Losartán

#### 3.4.1. Propiedades Fisicoquímicas<sup>(12, 16, 18)</sup>

- Nombre químico: 1*H*-imidazol-5-metanol-2-butil-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-il)-[1,1'-bifenil]-4-il]metil]
- Fórmula: C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>6</sub>O
- Peso molecular: 422.91 g/mol
- Solubilidad: Sumamente soluble en agua; soluble en alcohol; ligeramente soluble en acetonitrilo o 2-butanona.
- pKa: 5.5
- Clasificación biofarmacéutica: Clase III

### 3.4.2. Mecanismo de acción<sup>(17, 28, 30)</sup>

El losartán es activo por vía oral, el cual presenta un metabolito activo conocido como ácido carboxílico (E-3174) ambos se van a unir selectivamente a los receptores AT<sub>1</sub>(localizados en músculo liso vascular, glándulas suprarrenales, riñones y corazón) al unirse a los receptores AT<sub>1</sub> se van a disminuir todas las acciones de importancia fisiológica de la angiotensina II como son aumento en la resistencia periférica, liberación de la aldosterona, reabsorción renal de sodio. El losartán no presenta ningún efecto agonista y por la unión selectiva a los receptores AT<sub>1</sub> no se produce el bloqueo a otros receptores hormonales importantes en la regulación cardiovascular como pueden ser receptores hormonales o canales de iones.

Se ha identificado un segundo receptor que también pertenece a la angiotensina II el cual es el AT<sub>2</sub> pero este no presenta ninguna actividad en la homeostasis cardiovascular.

### 3.4.3. Farmacocinética <sup>(17, 28, 30)</sup>

**Absorción.** El losartán administrado por vía oral presenta una buena absorción, este sufre un metabolismo de primer paso formándose un metabolito activo conocido como ácido carboxílico (E-3174). Presenta una biodisponibilidad del 33%, el losartán alcanza una concentración plasmática máxima en una hora mientras que su metabolito activo (E-3174) tarda de tres a cuatro horas.

**Distribución.** 98.7 % del losartán se une a proteínas plasmáticas mientras que su metabolito activo (E-3174) presenta unión a proteínas plasmáticas de 99.8%, la principal proteína a la que se une tanto el losartán como el metabolito activo (E-3174) es a la albúmina. Presenta un volumen de distribución de 34 litros. Este fármaco no atraviesa la barrera hematoencefálica.

**Metabolismo.** Después de la administración de losartán el 14% se convierte en su metabolito activo el cual es el ácido 5 carboxílico que ha sido llamado E-3174, este metabolito presenta una mayor potencia antagonista hacia el receptor AT<sub>1</sub> que el losartán. Tanto el losartán como el metabolito E-3174 son mediados principalmente por la CYP2C9, pero también participan CYP3A4 y el CYP450.

Los valores de depuración plasmática del losartán y del metabolito son de 600 mL/min y 50 mL/min respectivamente, mientras que los valores de depuración renal son 75 mL/min y 25 mL/min respectivamente. El losartán presenta una vida media de  $2.5 \pm 1.0$  h mientras que para el metabolito E-3174 es de  $5.4 \pm 2.3$  h.

**3.4.4. Presentaciones comerciales<sup>(28)</sup>**

En la tabla 7 se presentan las presentaciones comerciales conteniendo losartán.

**Tabla 7. Presentaciones comerciales de Losartán en una presentación farmacéutica**

<b>Nombre Comercial</b>	<b>Laboratorio</b>	<b>Combinado con</b>	<b>Forma Farmacéutica</b>	<b>Presentaciones Disponibles</b>
COLIBS	SBL	-----	Comprimidos	50 y 100 mg
COZAAR	MERCK SHARP & DOHME	-----	Comprimidos	12.5, 50 y 100 mg
HYZAAR	MERCK SHARP & DOHME	Hidroclorotiazida	Comprimidos recubiertos	Losartán potásico 50 mg, 100 mg, 100 mg Hidroclorotiazida 12.5, 12.5 mg, 25 mg

**3.4.5. Reacciones Adversas<sup>(17)</sup>**

En general, el losartán es bien tolerado. Los efectos adversos un poco superiores a los del placebo, son: diarrea y dispepsia. En un porcentaje menor al 1% se presentó síncope y algunos efectos musculoesqueleticos. Efectos como la mialgia, calambres musculares, dolor de espalda y dolor de piernas, se presentaron en una frecuencia un poco mayor a la del placebo. Otros de los efectos adversos pueden ser: mareos, insomnio, congestión nasal, sinusitis, tos e infecciones del tracto respiratorio.

El losartán se debe usar con cautela en pacientes en los cuales su presión arterial o función renal dependa del sistema renina-angiotensina ya que en estos pacientes se producen los efectos de hipotensión, oliguria, hiperazoemia progresiva o insuficiencia renal aguda.

En pacientes con nefropatía que reciben complementos de potasio o diuréticos ahorradores del ión de potasio puede causar hiperpotasiemia.

En pacientes que se encuentran medicados con antihipertensivos se puede intensificar el efecto hipotensor, lo cual se obtiene como un efecto deseable pero esto se produce cuando se hace un ajuste en las dosis del losartán.

### 3.2.1. Métodos Analíticos para cuantificar por CLAR

Existe muy poca información sobre cuantificación de losartán por cromatografía de líquidos de alta resolución. En la tabla 8 se muestra un método analítico el cual es en tabletas.

**Tabla 8. Métodos de cuantificación de Losartán en tabletas**

<b>Columna</b>	<b>Fase móvil</b>	<b>Velocidad de flujo</b>	<b><math>\lambda_{\max}</math></b>	<b>Intervalo de concentración</b>	<b>Tr</b>	<b>Ref.</b>
Novapack 5 micron ODS (15 cm x 4mm)	Solución amortiguadora de fosfatos pH 3 : Acetonitrilo (60:40 v/v)	1mL/min	254	2-50 $\mu\text{g/mL}$	2.79 min	2

### 3.3. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)<sup>(10, 35, 36)</sup>

La Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución es una técnica que se utiliza para la separación y cuantificación de un compuesto, que se encuentra en una mezcla, tomando en cuenta las características individuales del compuesto que se desea separar. Así poder elegir las mejores condiciones, para obtener con éxito una buena cuantificación.

La cromatografía de tipo CLAR se desarrolló en 1960, con tan solo sus principios teóricos, en 1970 se desarrolló una columna de tipo fase reversa. En 1980, se desarrolló un sistema automatizado para este tipo de cromatografía. En 1990 se comercializaron las microcolumnas, detectores estables y a partir de esa fecha se ha alcanzado mejoras constantes en el incremento de la velocidad y la eficiencia.

#### 3.3.1. Componentes<sup>(39)</sup>

Los equipos utilizados para realizar una cromatografía, se componen de diversos elementos, los cuales son: una fase móvil, una fase estacionaria, mejor conocida como columna, un sistema de bombeo, un sistema de inyección, un sistema de detección y un equipo de registro, que puede ser una computadora, la cual se encarga de controlar las operaciones y los parámetros cromatográficos así como nos permite trabajar por periodos largos sin necesidad de supervisión. En figura 5, se pueden observar los componentes de equipo de CLAR, más a detalle.

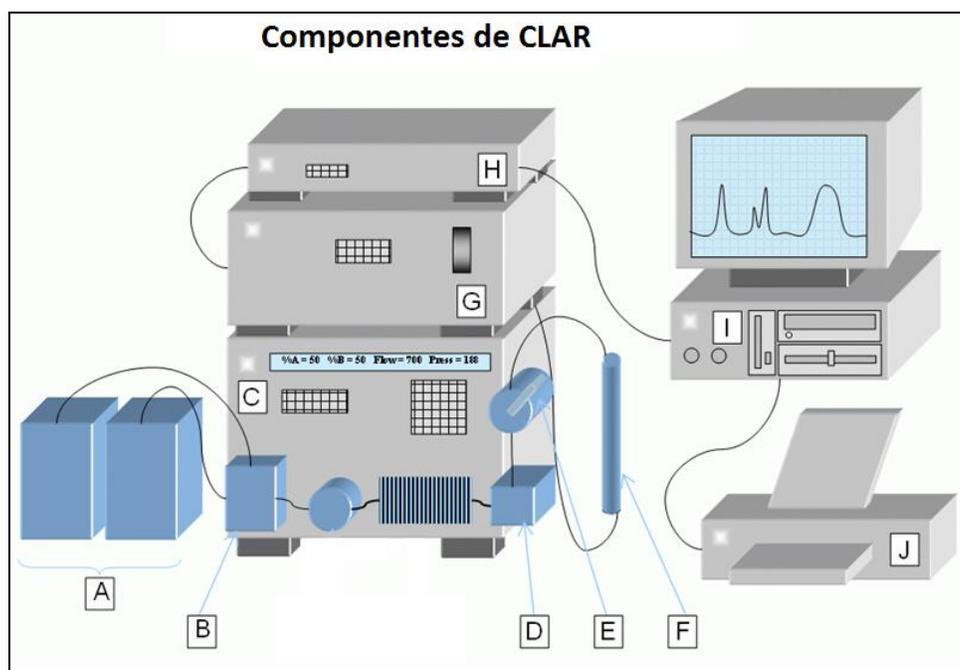


Figura 5. Componentes de CLAR: A) Contenedores de fase móvil, B) Sistema de bombeo, C) Sistema controlador de flujo; D) Filtro; E) Válvula de inyección; F) Columna; G) Comunicador equipo HPLC-Computadora; H) Detector; I) Software; J) Impresora

### 3.3.1.1. Fase Estacionaria <sup>(10, 39)</sup>

La fase estacionaria mejor conocida como columna, se considera como el eje fundamental de la cromatografía, ya que es donde se lleva a cabo la separación de los componentes de una mezcla.

Cuando el sistema consta de fases estacionales polares y fases móviles no polares se conoce como cromatografía de fase normal, pero cuando el sistema consta de fases móviles polares y fases estacionarias no polares se conoce como cromatografía de fase reversa.

Es importante que exista buena afinidad entre el compuesto que se desee separar y la fase estacionaria, por lo que su tiempo de retención en la columna se

puede controlar mediante una fase móvil que tenga la característica de ser más o menos polar, la polaridad de la fase móvil se puede variar agregando ya sea de uno hasta cuatro componentes.

Existen columnas de diversas dimensiones y su uso depende del tipo separación que se desee realizar. El tamaño de longitud común de una columna oscila entre 10 cm a 1 m. Entre mayor sea la longitud, mayor es el número de platos teóricos, dando como resultado una mayor resolución, aunque también resulta importante el empaque y el tamaño de partícula. Las columnas que son empleadas para las separaciones analíticas presentan diámetro internos que van de 2 a 5 mm.

Con respecto a su composición podemos encontrar, desde una cerámica inorgánica (sílice o alúmina) o un polímero orgánico (poliestireno-divinilbenceno ó metacrilatos). Las dimensiones de una columna analítica suelen ser de 30 mm a los 300 mm de longitud y de los 0.5 mm a los 4.6 mm de diámetro.

Cuando se utiliza una fase reversa, se consideran la densidad de cadenas alifáticas unidas a la sílice base y los grupos silanoles libres.

Para mejorar la eficiencia y resolución de la columna, se recomienda utilizar hornos los cuales mantienen una temperatura constante en toda la columna. La temperatura máxima a la que se puede calentar es de 60° C ya que al superar esa temperatura puede degradarse o volatilizarse la fase móvil.

**3.3.1.2. Fase Móvil** <sup>(13, 35, 39)</sup>

La fase móvil es una mezcla de dos o más soluciones, los cuales tienen que tener una alta pureza y ser grado HPLC, el agua utilizada debe tener una baja conductividad y una baja absorción al UV.

Los recipientes que se utilizan para la fase móvil son de vidrio o de acero inoxidable, el tratamiento que se le da previamente a la fase móvil es eliminar las partículas de polvo y gases disueltos.

Existen dos tipos de elución, la primera se conoce como elución isocrática la cual es cuando no se modifica la composición del disolvente y se conoce como elución con gradiente cuando se utilizan dos solventes con diferente polaridad.

Por lo que la composición de la fase móvil influye en el desempeño cromatográfico y en la resolución de los compuestos que se encuentran en la mezcla.

**Tabla 9. Fases móviles usadas para HPLC**

<b>Solvente</b>	<b>Índice de polaridad</b>	<b>UV (nm)</b>	<b>Toxicidad</b>
<b><u>Fase Normal</u></b>			
Hexano	0.1	210	Neurotóxico crónico
Isooctano	0.1	205	Baja toxicidad
Éter dietílico	2.8	218	Baja toxicidad
Diclorometano	3.1	245	Carcinógeno crónico
Alcohol isopropil	3.9	205	Baja toxicidad
<b><u>Fase Reversa</u></b>			
Agua	10.2	200	No presenta toxicidad
Metanol	5.1	210	Medianamente toxico
Acetonitrilo	5.8	210	Toxico por inhalación
Tetrahidrofurano	4.0	280	Toxico por inhalación

### **3.3.1.3. Sistema de bombeo** <sup>(35, 39)</sup>

Se encarga de impulsar la fase móvil a través de la columna, las características que debe cumplir el flujo es que debe tener una velocidad constante, ser reproducible y preciso. Las bombas más utilizadas en CLAR son las bombas de vaivén o de movimiento recíproco.

Las bombas para CLAR deben cumplir con las siguientes características:

- a) generar presiones de más de 6000 (lb/pulg<sup>2</sup>)
- b) la presión de salida debe encontrarse libre de pulsos
- c) proporcionar velocidades de flujo de 0.1 a 10 mL/min
- d) ser reproducible el flujo dentro de un valor relativo de 0.5% o mejor
- e) ser resistente a la corrosión por diferentes disolventes.

### **3.3.1.4. Sistema de inyección** <sup>(35, 39)</sup>

Para obtener una buena resolución en la separación de las muestras se debe de contar con un buen sistema de inyección, por lo que la mejor manera de inyectar una muestra es en forma de paquete ya que de esta manera podemos obtener picos angostos y simétricos.

El mejor sistema de inyección que existe es el de tipo automático, este consta de un carrusel o una gradilla donde se van a sostener los viales que contiene la muestra, este vial presenta en la parte superior un septo o tapón perforable y un dispositivo de inyección que sirve para transferir la muestra de los viales a un espiral conectado al cromatógrafo, este sistema de inyección cuenta con la característica de que se puede programar para controlar el volumen de muestreo, el número de inyecciones, teniendo como ventaja que nos ayuda a minimizar los errores, ya que mantiene la reproducibilidad entre inyecciones y el volumen de inyección se mantiene constante asegurándonos un alto grado de precisión y exactitud.

### 3.3.1.5. Detectores<sup>(35, 36)</sup>

Los detectores utilizados para HPLC miden la absorción de radiación UV o visible. Este consta de una celda de flujo la cual está colocada en el extremo de la columna, el haz de radiación pasa por la celda de flujo y se introduce en el detector, así como se va produciendo la elución en la columna, de los compuestos, van pasando por la celda y estos absorben la radiación, lo que no da por resultado cambio cuantificables de energía.

Hay de dos tipos: Tipo 1.- miden alguna propiedad de la fase móvil, este mide los cambios cuando se combinan la fase móvil con el soluto y los tipo 2.- miden alguna propiedad de los solutos, estos detectan cambios físicos o químicos de los solutos que se están eluyendo en la fase móvil.

Con respecto a la longitud de onda, existen tres tipos de detectores, los cuales son: fija, variable y múltiple. Los detectores de longitud de onda fija son los que operan a una longitud de onda la cual es por lo regular 254 nm, esta es emitida por una lámpara de mercurio de baja presión. Los detectores de longitud de onda variable, estos trabajan con una lámpara de deuterio o xenón de alta presión y un monocromador o un filtro de interferencia para generar la longitud de onda deseada, este tiene como característica de que la fuente de luz es continua. Y por último los detectores de longitud de onda múltiple son los que miden la absorbancia a dos o más longitudes de onda lo cual lo hace simultáneamente.

Dependiendo de la naturaleza de la muestra se elige el detector adecuado:

- ✓ Detectores de refractometría diferencial
  
- ✓ Detectores fluorométricos
  
- ✓ Detectores electroquímicos potenciométricos

3.3.2. Interpretación de los cromatogramas<sup>(39)</sup>

La figura 6 se muestra una separación cromatográfica de dos analitos, donde  $t_1$  y  $t_2$  representa los tiempos de retención para cada analito,  $h$  corresponde a la altura,  $h/2$  es la mitad de la altura y  $W_{h/2}$  es el ancho a la altura media,  $W_1$  y  $W_2$  representa el ancho respectivo de los picos, se muestra un pico de aire el cual corresponde al frente de la fase móvil, en este cromatograma también se puede observar el pico que corresponde a la fase móvil.

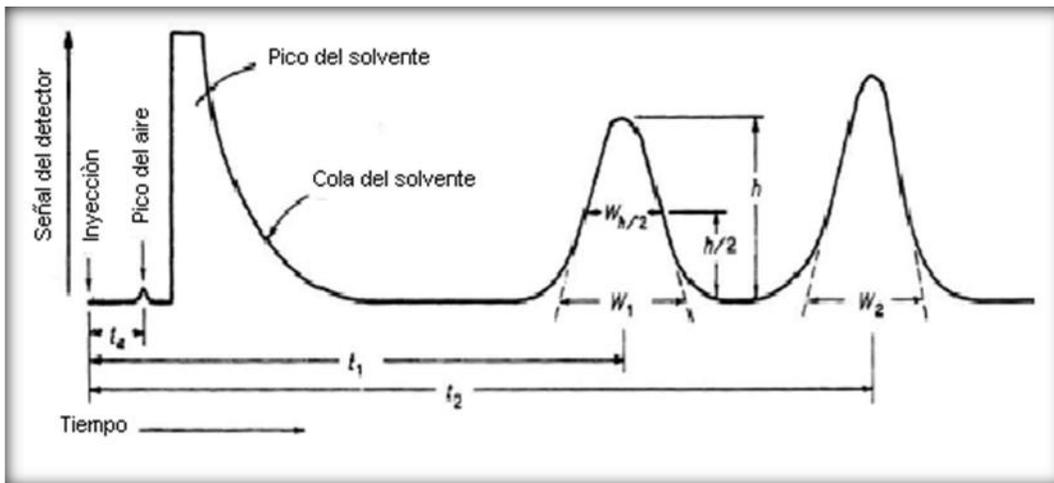


Figura 6. Cromatograma mostrando la separación de dos sustancias

### 3.5.3. Parámetros cromatográficos

#### Tiempo de retención ( $t_r$ ) <sup>(13, 39)</sup>

Los tiempos de retención que se obtienen en una cromatografía indican los compuestos presentes en una mezcla: Al existir una coincidencia entre los tiempos de retención de una sustancia de prueba y una sustancia de referencia ayuda a crear un perfil de identidad. Los tiempos de retención de un compuesto pueden variar de un cromatograma al siguiente. Para determinar el tipo de retención relativo  $Rr$  se hace mediante la siguiente fórmula:

$$Rr = \frac{t_2}{t_1}$$

Donde  $t_2$  y  $t_1$  son los tiempos de retención para sustancia de prueba y de referencia respectivamente, los cuales deben de ser determinados en idénticas condiciones y con la misma columna.

#### Factor de retención ( $k$ )

El factor de retención se utiliza para describir como ocurre la migración del compuesto en la columna, la cual es definida con la siguiente ecuación.

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Donde el  $t_M$  corresponde el tiempo que tarde en recorrer la fase móvil a través de la columna y  $t_R$  corresponde al tiempo de retención de un componente.

#### Área ( $A$ ) y altura ( $h$ )

El área y la altura del pico son generalmente proporcionales a la cantidad del compuesto que se está eluyendo, en la actualidad estos se miden por medio de integradores electrónicos.

### Separación de los componentes <sup>(13)</sup>

#### Selectividad ( $\alpha$ )

El factor de selectividad ( $\alpha$ ) indica que tan bien se van a separar dos componentes en una columna, lo cual puede ser expresado con la siguiente ecuación:

$$\alpha = \frac{t_{r,2} - t_0}{t_{r,1} - t_0}$$

$t_{r,2}$ : corresponde al componente B y este es el que se retiene con más fuerza.

$t_{r,1}$ : corresponde al componente A y este es el que se retiene con menos fuerza.

$t_0$ : tiempo muerto.

Para el caso de factor de selectividad existe un parámetro el cual es el factor de selectividad ( $\alpha$ ). Cuando el valor del factor es igual a 1 indica que no se van a poder separar los componentes utilizando ese sistema de cromatografía es decir que se tienen que cambiar las condiciones cromatográficas.

#### Resolución ( $R_s$ )

El factor de resolución de una columna proporciona información cuantitativa sobre su capacidad de separar dos componentes en una mezcla, la cual está definida por la siguiente fórmula:

$$R_s = \frac{2[(t_{r,2}) - (t_{r,1})]}{W_1 + W_2}$$

Donde  $t_2$  y  $t_1$  corresponden a los tiempos de retención de los componentes y  $W_1$  y  $W_2$  corresponde al ancho de la base de los picos obtenidos.

Para el factor de resolución contamos con el siguiente parámetro cuando  $R$  es menor a 1 nos indica que los componentes se pueden sobreponer por lo tanto no se obtiene una buena separación pero cuando  $R$  es igual a 1 nos indica que se va a llevar a cabo una buena separación de los componentes.

### Eficiencia de la columna <sup>(23, 39)</sup>

#### Número de platos teóricos ( $N$ )

Es importante determinar la cantidad de platos teóricos  $N$ , ya que este valor indica que tan eficiente es la columna, la cual es calculada por la siguiente ecuación:

$$N = 16 \left( \frac{t}{W} \right)^2$$

Donde  $t$  es el tiempo de retención de la sustancia,  $W$  es el ancho de la base que corresponde al pico, el valor de  $N$  va a depender:

- Sustancia cromatografiada;
- Velocidad de flujo
- Fase móvil y fase estacionaria;
- Temperatura de la fase móvil;
- Contenido de la columna así como su longitud y diámetro interno.

## 3.6. Disolución

### 3.6.1. Importancia<sup>(3)</sup>

La disolución se conoce como un proceso en el cual una sustancia sólida entra en contacto con el disolvente formando una solución. La disolución de los fármacos se encuentra expresada mediante la ecuación de Noyes- Whitney, esta ecuación describe la velocidad de disolución:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{h}$$

Donde  $dC/dt$  es la velocidad de disolución de las partículas del fármaco,  $D$  es el coeficiente de difusión del fármaco en solución en los líquidos gastrointestinales,  $A$  es el área superficial del fármaco,  $C_s$  es la solubilidad de saturación del fármaco en la capa de disolución,  $C$  concentración del fármaco en los líquidos gastrointestinales y  $h$  es el grosor de la capa de difusión que se encuentra alrededor del sólido.

La absorción de un fármaco va a depender de la liberación de la sustancia activa, la cual depende de dos condiciones críticas las cuales son las condiciones fisiológicas y la permeabilidad en el tracto gastrointestinal, por lo que la disolución in vitro proporciona una idea de cómo se comportará el producto in-vivo. La disolución in-vitro ayuda a evaluar la calidad de un producto de lote a lote, el desarrollo de nuevas formulaciones, el control de calidad o la bioequivalencia entre productos. Así mismo la disolución es importante para evaluar una nueva formulación ya que ayuda a estudiar las propiedades de la sustancia activa que se encuentra en la formulación, y estudiar diferentes formulaciones con el fin de obtener la mejor forma de dosificación.

La prueba de disolución se encuentra controlada por la afinidad que existe entre la sustancia sólida y el solvente, así mismo la prueba de disolución tiene que enfrentar diferentes factores que la afectan, como son las características del producto, los procesos que intervienen en las sustancias químicas puras, la capacidad que tiene el sólido para penetrar en el medio de disolución, la humectabilidad, la desintegración de la forma farmacéutica.

### **3.6.2. Factores que afectan la velocidad de disolución de los fármacos<sup>(3, 7)</sup>**

Las condiciones en las que se encuentre el tracto gastrointestinal, pueden influir en el proceso de disolución, el coeficiente de difusión ( $D$ ), puede disminuir cuando se encuentren sustancias que pueden aumentar la viscosidad de los líquidos, la velocidad de disolución se ve afectada por la presencia de alimentos en el tubo digestivo, la humectabilidad, solubilidad y el área superficial efectiva ( $A$ ) se ven afectadas por los surfactantes del jugo gástrico y las sales biliares, el espesor de la capa de difusión ( $h$ ) este va a depender del grado de agitación por cada partícula del fármaco en el tracto gastrointestinal.

Factores que pueden aumentar la velocidad de disolución de un fármaco son el aumento de la motilidad gástrica o intestinal y disminuyendo el grosor de la capa de difusión que rodea al sólido.

Con respecto a la concentración del fármaco ( $C$ ) esta va a depender de la velocidad de absorción del fármaco disuelto a través del tracto gastrointestinal así como a la presencia de alimentos y el volumen de líquidos presentes.

En la tabla 10 se concentran los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos que influyen sobre la disolución de los fármacos.

Tabla 10. Parámetros fisiológicos y fisicoquímicos que influyen en la disolución de los fármacos en el tracto gastrointestinal

Factor	Parámetro fisicoquímico	Parámetro fisiológico
<b>Área superficial del fármaco</b>	Tamaño de la partícula, humectabilidad	Surfactantes del jugo gástrico y la bilis
<b>Solubilidad</b>	Hidrofilia, estructura cristalina, solubilización	pH, capacidad amortiguadora, bilis, componentes de los alimentos
<b>Cantidad de fármaco disuelto</b>	<b>Tamaño molecular</b>	Permeabilidad
<b>Difusión del fármaco</b>		Viscosidad del contenido luminal.
<b>Grosor de la capa limitante</b>		Patrones de motilidad y velocidad de flujo.
<b>Volumen de disolvente disponible</b>		Secreciones gastrointestinales, líquidos coadministrados.

**3.6.3. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS)**<sup>(3, 7, 8, 42, 43)</sup>

El BCS, clasifica a los fármacos de acuerdo a sus propiedades de solubilidad y permeabilidad en la membrana, en cuatro diferentes grupos, los cuales se muestran en la figura 7.

<b>Permeabilidad</b>	<b>Clase I</b> Alta Solubilidad Alta Permeabilidad	<b>Clase II</b> Baja Solubilidad Alta Permeabilidad
	<b>Clase III</b> Alta Solubilidad Baja Permeabilidad	<b>Clase IV</b> Baja Solubilidad Baja Permeabilidad
	<b>Solubilidad</b>	

**Figura 7. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico**

Este sistema representa una herramienta de gran utilidad para conocer en que casos la disolución in-vitro es el paso limitante de la absorción. Así mismo se utiliza para establecer las especificaciones de disolución y da la base para predecir la probabilidad de lograr una correlación in-vivo in-vitro exitosa. Otra aplicación de este sistema es la Bioexención de fármacos que se encuentran en la clase I, cuya guía fue publicada por la FDA en el año 2000

El parámetro que se utiliza para determinar la solubilidad, es disolviendo la dosis más alta del fármaco en 250 mL de soluciones amortiguadoras con pHs que van en el rango de 1 – 8: El fármaco será altamente soluble si el volumen de solubilidad es menor o igual a 250 mL.

Los fármacos que presentan alta permeabilidad son aquellos que tienen un grado de absorción mayor del 90% en comparación con una dosis de referencia intravenosa.

Para los fármacos que presentan una alta solubilidad/alta permeabilidad (clase I) estos tipos de fármacos se disuelven rápidamente en un medio acuoso el cual presenta un pH de 1-8 y se espera que presenten una absorción mayor del 90%.

En el caso de que los fármacos presenten una baja solubilidad/alta permeabilidad (clase II), la disolución del fármaco puede ser el paso limitante para que se lleve a cabo la absorción del fármaco. Para este tipo de fármacos se espera una posible correlación in vivo-in vitro.

En el caso de los fármacos que son de alta solubilidad/baja permeabilidad (clase III) la permeabilidad es el paso limitante de la absorción del fármaco, por lo cual, para este tipo de fármacos no se espera que exista correlación in vivo-in vitro

Los fármacos que son baja solubilidad/baja permeabilidad (clase IV) presentan problemas significativos para que se lleve a cabo la absorción completa del fármaco.

Aunque este sistema solo contempla dos de los cuatro factores que afectan la disolución de un fármaco, esas dos son las limitaciones que se pueden considerar más potenciales para conocer las limitaciones fisicoquímicas de un fármaco. Otros factores que también están involucrados en la disolución también van a ser el medio en el cual se va a disolver un fármaco, las condiciones que presente el tracto gastrointestinal es decir los surfactantes, pH, capacidad del amortiguador y los alimentos que estén presentes juegan un factor importante para determinar la solubilidad de un fármaco.

### 3.6.4. Consideraciones importantes del tracto gastrointestinal<sup>(5, 7, 37)</sup>

#### 3.6.4.1. Composición luminal

En el tracto gastrointestinal se encuentran una serie de fluidos como son: ácido clorhídrico, bicarbonato, algunos tensoactivos, electrolitos, mucosa y por supuesto agua, los cuales pueden afectar la solubilidad y la velocidad de disolución de los fármacos.

##### 3.6.4.1.1. pH

El valor del pH gástrico en el estado de ayuno puede fluctuar en el rango de 1 a 7, sin embargo en el caso de jóvenes caucásicos sanos, el valor de pH se encuentra alrededor de 3 durante el 90% del estado de ayuno. Por lo tanto para una disolución donde se quiere simular un estado preprandial gástrico el pH debe oscilar entre 1.5 y 2.0.

Cuando hay ingestión de alimentos, la cantidad de ácido gástrico disminuye y el pH se hace mayor inmediatamente después de la ingestión de los alimentos, el pH gástrico varía entre 3 a 7, este va a depender del tipo de alimentos que se ingieran, y aproximadamente después de 2 a 3 horas, se retorna al valor de pH del estado de ayuno.

Cuando se administra una forma farmacéutica después de los alimentos esta enfrentará un pH gástrico mayor que las condiciones fisiológicas normales.

Se sabe que el pH del intestino es considerablemente superior al de el estomago, lo cual se debe a la neutralización del ácido por los iones bicarbonato que secreta el páncreas. Del duodeno al íleon, existe un gradiente de pH que hace que los valores sean mayores. Cuando hay un ingesta de carbohidratos, el colon los transforma a ácidos grasos (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>), disminuyendo el valor de pH alrededor de 5.

Tabla 11. pH en el intestino delgado en humanos sanos en estado preprandial y postprandial

Localización	pH en estado preprandial	pH en estado postprandial
Duodeno medio y distal	4.9	5.2
	6.1	5.4
	6.3	5.1
	6.4	
Yeyuno	4.4 – 6.5	5.2 – 6.0
	6.6	6.2
Íleon	6.5	6.8 – 7.8
	6.8 – 8.0 (rango)	6.8 – 8.0
	7.4	7.5

#### 3.6.4.1.2. Lípidos y el ambiente intestinal postprandial

La mayoría de los alimentos contienen lípidos, los cuales pueden influenciar la absorción de los fármacos, ya que la ingestión de lípidos produce, disminución en la motilidad gástrica, y los productos provenientes de la digestión de estos en el duodeno inducen la secreción de fluidos biliares y pancreáticos que alteran el ambiente luminal. La presencia de lípidos en el duodeno estimulan la secreción de jugo pancreático, las sales y lípidos biliares y es por esto que lo que los fármacos que son poco solubles en agua, es altamente recomendable ingerirlos después de los alimentos para mejorar su disolución.

Hofmann y Borgstrom, describen en el intestino la fase micelar, como un sistema de equilibrio bifásico con las vesículas unilaminares de lípidos. La importancia de esta fase micelar se da en la solubilización de los productos poco solubles en agua provenientes de la digestión de lípidos. Las micelas no son absorbidas intactas y los lípidos probablemente se absorben a partir de una fase monomolecular intermicelar.

### **3.6.4.1.3. Tensoactivos**

Los valores usuales de tensoactivos en el estado de ayuno (preprandial) se encuentran entre 35 y 45 mN/m. En el intestino delgado, la secreción de bilis da lugar a un aumento de concentraciones de sales biliares y lecitina, las cuales pueden formar micelas incluso en el estado preprandial. En el intestino delgado en estado preprandial se han llegado a reportar concentraciones de sales biliares de 3 – 5 nM. Las sales biliares actúan como tensoactivos endógenos, ya que ayudan a solubilizar y emulsificar ácidos grasos y mono glicéridos hidrofóbicos.

### **3.6.4.1.4. Enzimas**

En el jugo gástrico principalmente se encuentran las enzimas pepsina y exopeptidasa, después de la ingestión de alimentos, se secretan al intestino delgado enzimas como: lipasas, amilasas y proteasas. Estas enzimas son las encargadas de la digestión de los nutrientes. Las lipasas son enzimas que afectan directamente la liberación del fármaco.

Tanto en el íleon distal como en el colon predominan bacterias que secretan diversas enzimas, y la habilidad de estas exoenzimas bacterianas para romper ciertos enlaces químicos, se ha podido utilizar para el diseño de nuevas formas farmacéuticas que se liberan en el colon.

### 3.6.4.1.5. Volumen

En el tracto gastrointestinal el volumen disponible para la disolución de la forma farmacéutica, depende de la cantidad de fluidos que se ingieran, las secreciones y el flujo de agua a través de la pared intestinal. Una persona regularmente ingiere 2 litros de agua al día, aunque esto suele ser variable por las condiciones climáticas, peso, actividad física y hábitos personales.

Se considera que en el estomago en el estado de ayuno, el volumen es aproximadamente de 20-30 mL. También se debe considerar que la gástrica aumenta cuando el volumen excede 1.5 litros.

Las secreciones de órganos para-gastrointestinales (como son glándulas salivares, hígado y páncreas) y las secreciones estomacales, se reciben en la primera porción del duodeno, todas estas secreciones aportan aproximadamente 6 litros al día, que son esenciales para la digestión de los alimentos. Aproximadamente se secretan de 1 – 2 litros en el duodeno en 24 horas. Por parte del intestino se secreta cerca de 1 litro de agua por día.

En el yeyuno e íleon, varía de 120 – 350 mL, dependiendo de la velocidad de perfusión. En el intestino delgado los volúmenes varían de acuerdo a la presión osmótica.

### **3.6.4.2. Hidrodinámica del tracto gastrointestinal<sup>(7)</sup>**

#### **3.6.4.2.1. Patrones de mezclado en el intestino**

La motilidad del intestino juega un papel de gran importancia en la disolución. En el tracto gastrointestinal existen básicamente cuatro patrones de mezclado, los cuales son: inactividad (quietud), movimiento segmentado, propagación de movimientos y contracciones tónicas.

Cuando el estomago se encuentra en estado de ayuno, se puede decir que la actividad es casi nula o nula. A diferencia en el estado con la ingestión de alimentos, el mezclado es mucho mejor, debido a eso se puede decir que en este estado esta favorecida la disolución por los patrones de mezclado.

El flujo en el estomago y en el intestino, suelen ser muy similares tanto en el estado de ayuno, como en el estado con alimentos.

### **3.6.5. Medios biorrelevantes<sup>(8)</sup>**

Simular las condiciones gastrointestinales es esencial para predecir el comportamiento in vivo de los fármacos poco solubles. Estas condiciones se pueden obtener empleando los medios biorrelevantes, ya que estos medios presentan características que simulan las condiciones de los fluidos fisiológicos gastrointestinales.

La disolución utilizando medios biorrelevante permite evaluar diferentes parámetros:

- Predecir el comportamiento de fármacos que son poco solubles o lipofílicos.
- Ayuda a los estudios farmacocinéticos para mejorar las condiciones de dosificación, así como para mejorar la formulación del producto.
- Predecir el efecto de los alimentos en la disolución y la disponibilidad de los fármacos que tienen cuando son administrados por vía oral.

Actualmente se conocen cuatro medios biorrelevantes los cuales son:

Medios biorrelevantes que simulan los fluidos a nivel del estómago:

- FGS (Fluido gástrico simulado) sin enzimas: este medio simula el estado de ayuno. También se puede usar ácido clorhídrico 0.1 N.
- Leche con grasa este medio simula el estado postprandial.

Medios biorrelevantes que simulan los fluidos a nivel de intestino delgado:

- FaSSIF (*Fasted State Simulated Intestinal Fluid*) este medio simula el estado de ayuno.
- FeSSIF (*Fed State Simulated Intestinal Fluid*) este medio simula el estado postprandial.

La composición de los medios FaSSIF y FeSSIF se muestra en las tablas 12 y 13 respectivamente.

Tabla 12. Composición y propiedades fisicoquímicas del medio FaSSIF

Medio FaSSIF	
<b>Taurocolato de sodio</b>	3 mM
<b>Lecitina</b>	0.75 mM
<b>NaCl</b>	3.093 g
<b>NaOH (pellets)</b>	0.174 g
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O</b>	1.977 g
<b>Agua desionizada</b>	1 litro
<b>pH</b>	6.5
<b>Osmolaridad</b>	~270 mOsmol/Kg
<b>Capacidad amortiguadora</b>	~12mEq/pH/L

El medio FaSSIF es utilizado para representar las condiciones de ayuno, contiene solución amortiguadora de fosfatos para mantener un pH de 6.5, el taurocolato de sodio (el cual actúa como sales biliares) y las lecitinas, en las cantidades que se encuentran en condiciones de ayuno.

Tabla 13. Composición y propiedades fisicoquímicas del medio FeSSIF

Medio FeSSIF	
<b>Taurocolato de sodio</b>	15 mM
<b>Lecitina</b>	3.75 mM
<b>NaCl</b>	11.874 g
<b>NaOH (pellets)</b>	4.04 g
<b>Ácido acético glacial</b>	8.65 g
<b>Agua desionizada</b>	1 litro
<b>pH</b>	5.00
<b>Osmolaridad</b>	~670 mOsmol/Kg
<b>Capacidad amortiguadora</b>	~75 mEq/pH/L

El medio FeSSIF contiene acetatos el cual actúa como solución amortiguadora, el pH se ajusta a 5 con el fin de simular las condiciones en la parte superior del intestino en estado de saciedad. La capacidad amortiguadora es considerablemente mayor en comparación con el estado de ayuno.

---

*IV. Parte*

***Experimental***

### 4. PARTE EXPERIMENTAL

#### 4.1. Reactivos, material y equipo

##### 4.1.1. Reactivos

- Acetonitrilo, grado HPLC J.T. Baker
- Agua, grado HPLC
- Metanol, grado HPLC J.T. Baker
- Dimetilsulfoxido (DMSO), R.A. J.T. Baker
- Fosfato de sodio monobásico, Golden Bell Reactivos
- Cloruro de sodio, Golden Bell Reactivos
- Hidróxido de sodio (lentejas), Golden Bell Reactivos
- Materia prima valorada de Simvastatina, Valoración en Base Húmeda 99.88%
- Materia prima valorada de Losartán potásico, Valoración en Base Húmeda 99.69%
- Materia prima valorada de Hidroclorotiazida, Valoración en Base Húmeda 99.65%
- Medio FaSSIF, Phares
- Lauril sulfato de sodio en polvo, Droguería Cosmopolita

##### 4.1.2. Material

- Pipetas automáticas de 100-1000 $\mu$ L y 500 – 5000  $\mu$ L
- Puntas para pipetas automáticas
- Espátula
- Piseta
- Nave de pesado
- Pipetas Pasteur con bulbos
- Microviales de 2 mL
- Tubos de ensaye de 16x150
- Matraces volumétricos de 10, 25, 50, 1000, 2000 y 5000 mL

- Vasos de precipitados de 50, 100 y 250 mL
- Probetas graduadas de 100 y 500 mL
- Matraz erlenmeyer de 5000 mL
- Sistema de filtración Millipore
- Membranas de filtración Nylon 0.45  $\mu$
- Tapas con septas para microviales
- Gradilla
- Termómetro
- Recipientes de vidrio con diferente capacidad
- Agitador magnético
- Jeringas de 10 mL
- Muestreador.
- Filtros de teflón de 35 $\mu$ m.

### 4.1.3. Equipo

- Balanza analítica, Sartorius analytic
- Balanza, Sartorius
- Parrilla con agitación, Barnstead Thermolyne
- Sonicador, Fisher Scientific
- Sistema Cromatografico Shimadzu
  - Bomba: Modelo LC-10AT
  - Controlador: Modelo CBM-20A
  - Detector: Modelo SPD-10AV
  - Autoinyector: Modelo SIL-10A
  - Computadora: Modelo Dell
  - Impresora: Modelo Hewlett Packard LaserJet 1100
- Columna  $\mu$ Bondapack C18, 10 $\mu$ m 125Å
- Potenciómetro Thermo Orion
- Centrifuga, Eppendorf

- Espectrofotómetro UV-Visible, Shimadzu
- Equipo para agua desionizada, Millipore
- Disolutor, Pharma Allince Group

### 4.2. Productos estudiados

Se llevó a cabo la prueba de perfil de disolución para los siguientes productos:

- 1) Cápsulas con microesferas de Losartán /Hidroclorotiazida / Simvastatina de presentación de 12.5mg/20mg/25mg. (Producto piloto 1)
- 2) Cápsulas con microesferas de Losartán /Hidroclorotiazida / Simvastatina de presentación de 12.5mg/10mg/25mg. (Producto piloto 2)

El contenido químico de los productos bajo estudio fue el siguiente:

**Tabla 14. Contenido de los principios activos en los productos piloto**

Principio Activo	Valoración	
	Producto piloto 1	Producto piloto 2
Simvastatina	97.23%	94.58%
Losartan	97.49%	100.94%
Hidroclorotiazida	121.84%	108.98%

### 4.3. Preparación de soluciones

#### 4.3.1. Solución amortiguadora de fosfatos según FEUM

Pesar aproximadamente 0.348g de hidróxido de sodio (NaOH), 3.954g de fosfato monobásico de sodio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y 6.186g de cloruro de sodio (NaCl), transferirlos a un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver y aforar con agua grado HPLC. Medir pH y si es necesario ajustar pH de 6.5 con NaOH 0.1 M o HCl 0.1 M, filtrar la solución con una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$ .

#### 4.3.2. Fase móvil

*Solución amortiguadora de fosfatos:acetonitrilo(70:30 v/v)*

Medir con una probeta 70 mL de solución amortiguadora de fosfatos de pH 6.5 y 30 mL de acetonitrilo HPLC los cuales previamente deben encontrarse filtrados, la mezcla se desgasifica por un periodo de 20 minutos.

#### 4.3.3. Preparación del Medio de disolución biorrelevante FaSSIF

El medio debe de encontrarse a temperatura ambiente para poder pesarlo, se pesa 1.12g de medio FaSSIF y se lleva a un volumen de 1 litro con agua. Se deja reposando durante dos horas a temperatura ambiente.

**4.4. Método analítico para cuantificar**

**Hidroclorotiazida/Simvastatina/Losartán en medio FaSSIF**

**4.4.1. Preparación de la curva patrón**

- *Solución stock de Simvastatina, Hidroclorotiazida y Losartán*

Pesar aproximadamente 0.0240g de materia prima valorada de simvastatina, 0.0150g de materia prima valorada de Hidroclorotiazida, 0.0600g de materia prima valorada de Losartán colocarla en el matraz volumétrico de 50 mL y agregar DMSO suficiente para solubilizarla (ya que la simvastatina es insoluble en agua) aforar el matraz con DMSO, obteniendo así las siguientes concentraciones del stock: simvastatina 480 µg/mL, Hidroclorotiazida 300 µg/mL y Losartán 1200 µg/mL.

Llevar a cabo las diluciones correspondientes añadiendo el medio FaSSIF para preparar una curva en el rango de 3 – 30 µg/mL para hidroclorotiazida, de 12 – 120 µg/mL para losartán y de 4.8 – 48 µg/mL simvastatina, como se indica en la tabla 15.

**Tabla 15. Preparación de la curva patrón de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán en medio FaSSIF**

Matraz	Stock alícuota* (mL)	Aforo (mL)	[Hidroclorotiazida] µg/mL	[Losartán] µg/mL	[Simvastatina] µg/mL
1	1.0	10	30	120	48
2	0.8	10	24	96	38.4
3	0.5	10	15	60	24
4	0.4	10	12	48	19.2
5	0.2	10	6	24	9.6
6	0.1	10	3	12	4.8

\*Todas las alícuotas provienen de la solución stock.

### 4.4.2. Condiciones cromatográficas

Para llevar a cabo el análisis se emplearon las siguientes condiciones cromatográficas:

- ✓ Fase móvil: solución amortiguadora de fosfatos pH 6.5, 50 mM: Acetonitrilo (70:30).
- ✓ Columna:  $\mu$ Bondapack C18 10  $\mu$ m 125A 3.9x300 nm
- ✓ Velocidad de flujo: 1.0 mL/min
- ✓ Presión: 98-100 Kgf/cm<sup>2</sup>
- ✓ Longitud de onda ( $\lambda$ ): 240 nm
- ✓ Volumen de inyección: 20  $\mu$ L
- ✓ Temperatura: Ambiente.

Estas condiciones se tomaron en cuenta de un trabajo previo.<sup>(22)</sup>

## 4.5. Validación

### 4.5.1. Validación del sistema

#### 4.5.1.1. Linealidad del sistema

Para evaluar la linealidad del sistema, se prepararon 2 curvas de calibración en medio FaSSIF, a partir de la sustancia de referencia, con las concentraciones que se indican en la tabla 15, y se calculó el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el error relativo debido a la regresión (%EER).

#### 4.5.1.2. Precisión

A partir de los datos obtenidos en linealidad se calculó el coeficiente de variación del factor de respuesta.

### 4.5.2. Validación del método analítico

La importancia de la validación del método consiste en asegurar que los excipientes no interfieren en la cuantificación de los analitos de interés.

- Preparación de la curva

Del producto piloto conteniendo la concentración más alta, pesar 3 cápsulas de forma independiente, vaciar su contenido y pesar nuevamente. Calcular el peso promedio.

Moler las microesferas y a partir del polvo pesar la cantidad equivalente de 0.0240g de simvastatina, 0.0150g hidroclorotiazida y 0.0600g de losartán, colocarlos en un matraz de 25 mL y aforar con DMSO. La concentración de esta solución es de: simvastatina 480 µg/mL, Hidroclorotiazida 300 µg/mL y losartán 1200 µg/mL.

A partir de la solución anterior llevar a cabo las diluciones correspondientes para preparar una curva en el rango de 3 – 30 µg/mL para hidroclorotiazida, de 12 – 120 µg/mL para losartán y de 4.8 – 48 µg/mL simvastatina, como se indica en la tabla 15.

#### 4.5.2.1. Linealidad del método

Para determinar la linealidad de cada uno para los tres analitos, se prepararon tres curvas. A partir de los datos de respuesta vs concentración, se calculó el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el error relativo debido a la regresión (%EER).

### 4.5.2.2. Precisión y Exactitud

#### ✓ Repetibilidad y Exactitud

A partir de los datos obtenidos de la linealidad, se llevo a cabo el cálculo del %CV para la repetibilidad y para la exactitud el %DEA.

#### ✓ Reproducibilidad

- Reproducibilidad entre días

Se llevó a cabo el análisis de una muestra de concentración 30 µg/mL hidroclorotiazida, 120 µg/mL losartán y 48 µg/mL simvastatina, se analizo por triplicado y se realizó el procedimiento otro día, a partir de los resultados se calculó el %CV.

- Reproducibilidad entre analistas

A partir de una misma solución stock, dos analistas, prepararon su propia curva de calibración y se analizó una muestra por triplicado, se llevó a cabo el cálculo del %C.V. y una prueba de t-student, al 95% ( $\alpha=0.05$ ).

### 4.5.2.3. Estabilidad

La estabilidad de los fármacos en estudio se evaluó en refrigeración y a temperatura ambiente. Para ello, se prepararon muestras, de concentraciones: 30 µg/mL para hidroclorotiazida, de 120 µg/mL para losartán y 48 µg/mL simvastatina. Las muestras se analizaron inmediatamente y a las 24, 48 y 72 hrs, después de haber sido preparadas. A partir de los datos obtenidos se calculó la diferencia entre el día inicial y los tiempos establecidos.

#### 4.5.2.4. Selectividad

Se evaluó la interferencia de los excipientes contenidos en la forma farmacéutica bajo de estudio, con respecto a los analitos de interés, con la concentración de 30 µg/mL para hidroclorotiazida, de 120 µg/mL para losartán y 48 µg/mL simvastatina, comparándolos con una curva patrón que contenía solo los 3 analitos (Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina).

#### 4.5.2.5. Influencia del filtro

Este estudio no se realizó, para hidroclorotiazida y losartán debido a que se llevo a cabo en un estudio anterior <sup>(22)</sup>. En el cual se comprobó que no existe influencia del filtro de teflón de 35 µm, sobre los analitos de estudio.

Para simvastatina, se preparó una muestra de concentración de 48 µg/mL, la cual se colocó en un tubo de ensaye y se filtró utilizando con el muestreador y un filtro de teflón de 35µm, repetir el filtrado 6 veces, la prueba se realizó por duplicado.

El criterio de aceptación de acuerdo a la NOM-177-SSA-1998, el porcentaje retenido del promedio de las muestras filtradas no debe ser mayor al 4%.

En la tabla 16, se muestran los criterios de aceptación para la validación del método analítico basados en la NOM-177-SSA-1998<sup>(15)</sup>:

**Tabla 16. Criterios de aceptación de acuerdo a la NOM-177-SSA-1998**

	Prueba		Evaluación
SISTEMA	Linealidad		El coeficiente de correlación ( $r^2$ ) mayor a 0.99 y un %ERR no mayor al 2%.
	Precisión		El coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2%.
M É T O D O	Linealidad		Demostrar una linealidad con al menos 5 puntos por triplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un %ERR no mayor que el 3%.
	Precisión	Repetibilidad	El coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.
		Reproducibilidad	El coeficiente de variación global no debe ser mayor que el 3%.
	Exactitud		El promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal en más de 3% en cada punto.
	Estabilidad		Determinar las condiciones de temperatura y tiempo entre otros, en las que el compuesto permanezca estable.

### 4.6. Estudio de perfiles de disolución

#### 4.6.1.1. Condiciones de la prueba de disolución

Las condiciones utilizadas fueron las siguientes:

- Aparato No 2.
- Medio de disolución: FaSSIF
- Volumen del medio: 500 mL
- Temperatura:  $37 \pm 0.5$  °C
- Velocidad de agitación: 100 RPM
- Tiempos de muestreo: 10, 20, 30, 45, 60 y 90 minutos

#### Procedimiento

- 1) Preparar el medio de disolución
- 2) Encender el disolutor y la bomba para recircular el agua. Ajustar la temperatura a 37 °C.
- 3) Colocar las paletas con su respectiva tapa, según su número correspondiente.
- 4) Colocar en cada uno de los vasos la cantidad de 500.3 g de medio FaSSIF, ya que se tomaba en consideración que la densidad del medio es de 0.99 g/mL, colocarlos en su lugar correspondiente en el disolutor.
- 5) Bajar las paletas, y ajustar a una velocidad de 100 RPM, y accionarlo. Dejar que entren en equilibrio con la fase por aproximadamente 15 minutos.
- 6) Medir con un termómetro calibrado, la temperatura de los vasos, si esta se encuentra en un valor de  $37.5$  °C  $\pm 0.5$ , comenzar la disolución, en caso contrario esperar a que alcance la temperatura.

- 7) Colocar la muestra en el vaso 1 y al mismo tiempo accionar el cronometro, esperar 1 minuto, y colocar otra muestra en el vaso 2 y así sucesivamente hasta el vaso 6.
- 8) Tomar una muestra de 3 mL, de cada vaso empleando una jeringa provista de una extensión de plástico y un filtro de teflón. En los tiempos establecidos.
- 9) Si la muestra se encuentra turbia, centrifugar a una velocidad de 5000 RPM por 3 minutos.
- 10) Colocar la muestra en el cromatógrafo, y analizar empleando las condiciones descritas en la sección 4.4.2.

### Cálculos

Para cada cápsula determinar la cantidad de principio activo disuelto ( $D_i$ ) a cada tiempo de muestreo, si reposición de medio, utilizando la siguiente fórmula:

$$D_i = X_i * V_i + \sum_{i=0}^{N-1} E_i$$

Donde:

$$X_i = \frac{Y_i - A}{B} \quad \text{Concentración de la muestra } (\mu\text{g/mL})$$

$E_i = (X_i)(FD)(v)$ ...Cantidad de principio activo en la alícuota (mg)

$D_i = (X_i)(FD)(V_i) + E_i$ ...Cantidad de principio activo disuelto al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

$Y_i$  = Área del principio activo

$FD$  = Factor de dilución

A partir del cálculo anterior determinar el porcentaje disuelto (%Di) de cada muestra en los diferentes tiempos con la siguiente fórmula:

$$\%Di = \frac{Di}{Dosis} \times 100$$

Para el cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ), se utilizar la siguiente fórmula:

$$f_2 = 50 \text{ Log} \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum (Rt - Pt^2)^{-0.5} \right] \times 100 \right\}$$

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

Pt= Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

Para utilizar la fórmula se estableció como criterio: un %CV menor al 20% para el primer tiempo, y para los posteriores menor al 10%.

Un factor de similitud entre 50 y 100, indica que los perfiles de disolución son similares.

---

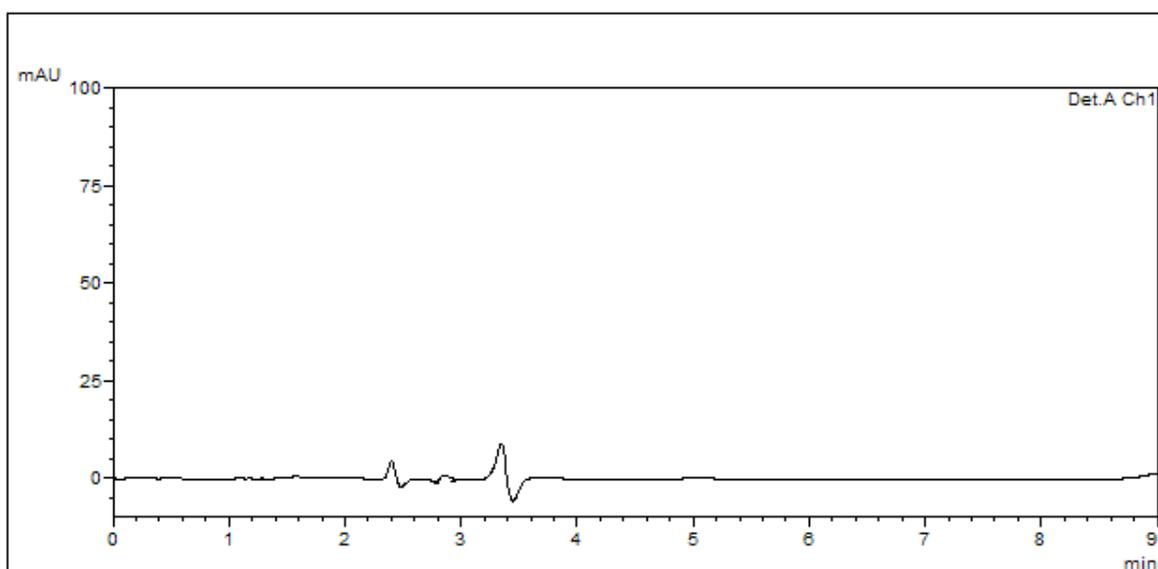
# *V.Resultados* **y Análisis**

## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 5.1. Desarrollo del método analítico

#### 5.1.1. Condiciones cromatográficas

En las figuras 8, 9 y 10, se presentan los cromatogramas del Blanco (medio FaSSIF), Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [4.8/3.0/12 µg/mL] y Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [48/30/120 µg/mL], respectivamente al emplear las condiciones cromatográficas descritas en la sección 4.4.2. En los cromatogramas se observa que los tiempos de retención obtenidos fueron: Simvastatina 2.8 minutos, Hidroclorotiazida 4.5 minutos y Losartán 7.3 minutos, dando un tiempo final de análisis de 9 minutos para cada muestra



**Figura 8. Cromatograma típico del blanco de Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)**

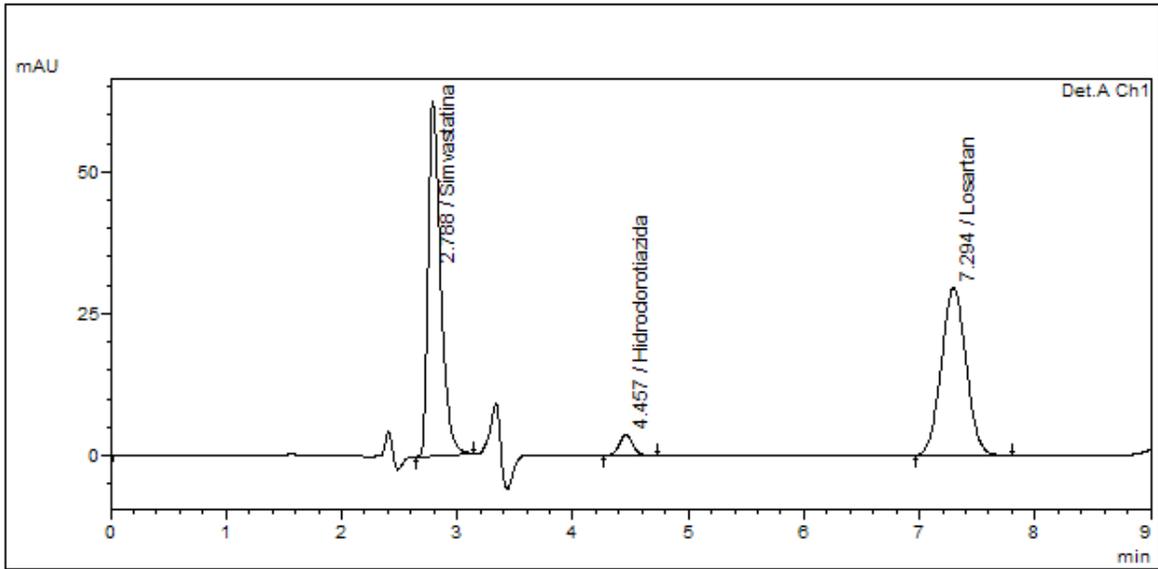


Figura 9. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [4.8/3.0/12 µg/mL] en Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)

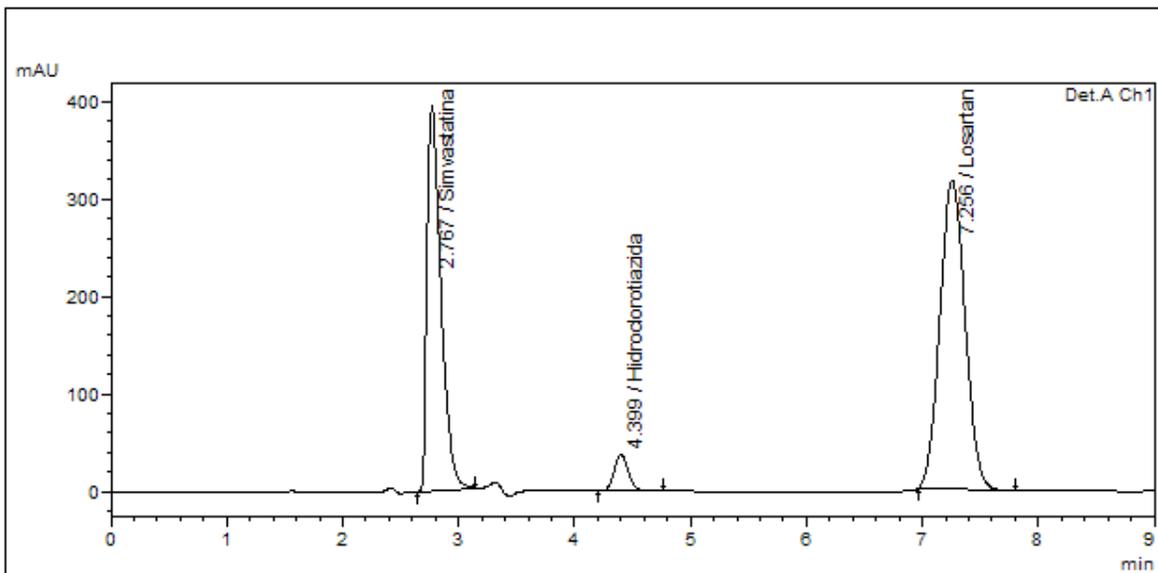


Figura 10. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán [48/30/120 µg/mL] en Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)

Los resultados muestran que las condiciones cromatográficas seleccionadas fueron las adecuadas ya que los picos eran bien definidos y los tiempos de retención tenían la suficiente separación para que cada uno de los analitos saliera sin afectar a los otros dos analitos.

**5.2. Validación del método analítico**

**5.2.1. Validación del sistema**

Para la validación del sistema se llevaron a cabo dos curvas en medio FaSSIF, con los tres analitos de interés juntos, y se tomaron en cuenta las áreas de cada uno para llevar a cabo los cálculos requeridos.

**5.2.1.1. Linealidad**

En la tablas 17, 18 y 19 se presentan los resultados de la respuesta vs concentración al analizar 2 curvas conteniendo hidroclorotiazida, losartán y simvastatina respectivamente, en el rango de concentración de: Hidroclorotiazida: 3 – 30 µg/mL, Losartán: 4.8 – 120 µg/mL y Simvastatina: 4.8 – 48 µg/mL.

**Tabla 17. Relación concentración respuesta para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSIF**

[µg/mL] nominal	Area	
	I	II
3	34028	34123
6	69373	69724
12	141225	141361
15	175022	176370
24	287470	286198
30	358329	360967
<b>m=</b>	12090.09	12133.6
<b>b=</b>	-3142.08	-3243.17
<b>r<sup>2</sup>=</b>	0.9999	0.9999

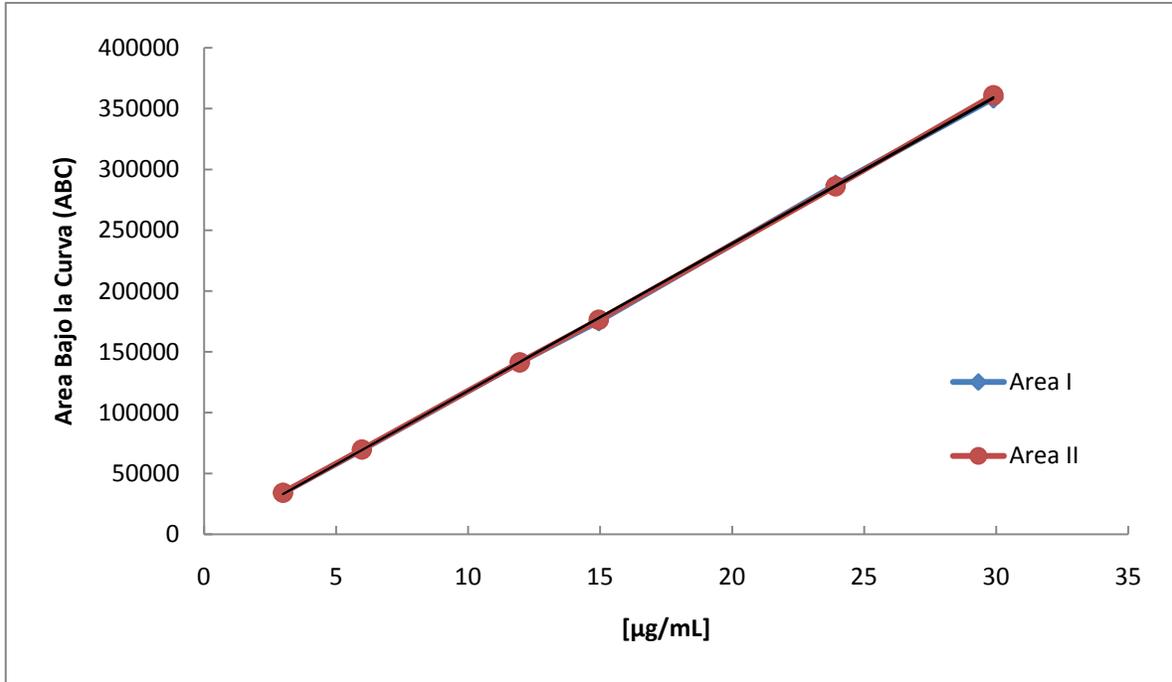


Figura 11. Linealidad del sistema para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSIF

Tabla 18. Relación concentración respuesta para la cuantificación de Losartán en medio FaSSIF

[µg/mL] nominal	Área Bajo la Curva (ABC)	
	I	II
12	486977	486462
24	967759	976459
48	1979654	1970779
60	2470280	2486720
96	4062354	4053117
120	5148099	5173365
<b>m=</b>	47137.32	47263.82
<b>b=</b>	-72206	-73864
<b>r<sup>2</sup>=</b>	0.9996	0.9995

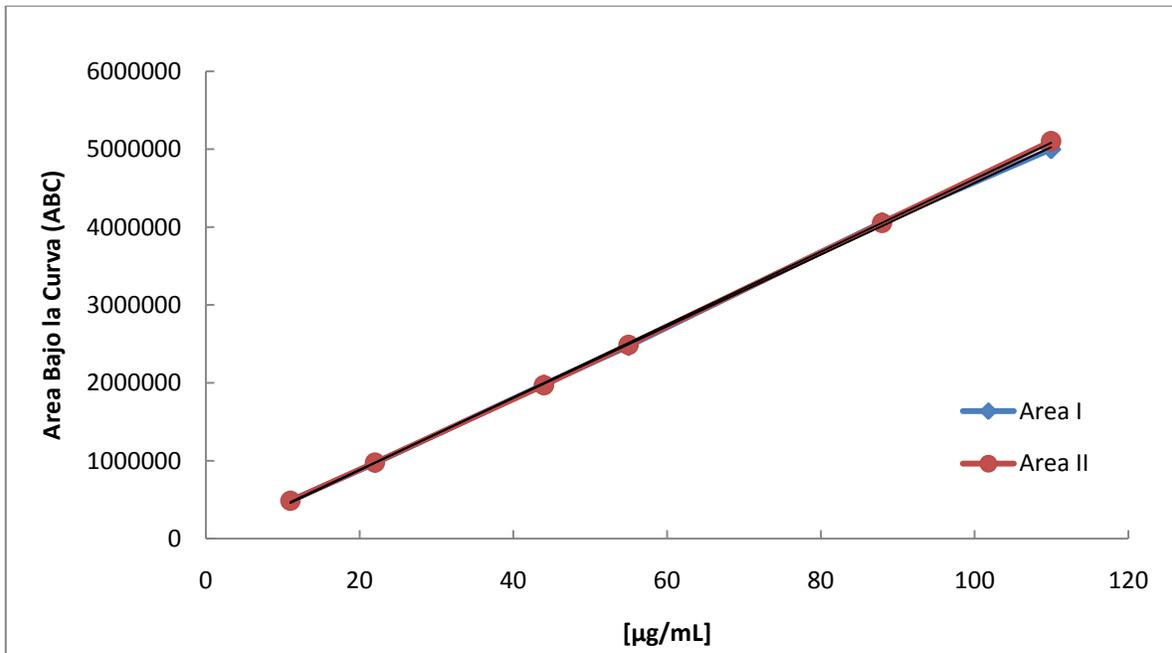


Figura 12. Linealidad del sistema para la cuantificación de Losartán en medio FaSSIF

Tabla 19. Relación log concentración vs log respuesta para la cuantificación de simvastatina en medio FaSSIF

[µg/mL] nominal	Ln[µg/mL]	Ln A1	Ln A2
4.8	1.5686	13.2109	13.1837
9.6	2.2618	13.8005	13.7855
19.2	2.9549	14.3748	14.3543
24.0	3.1781	14.5495	14.5443
38.4	3.6481	14.9323	14.9332
48.0	3.8712	15.0856	15.1006
	<b>m=</b>	0.81769	0.8334
	<b>b=</b>	11.9431	11.8886
	<b>r<sup>2</sup>=</b>	0.9995	0.9998

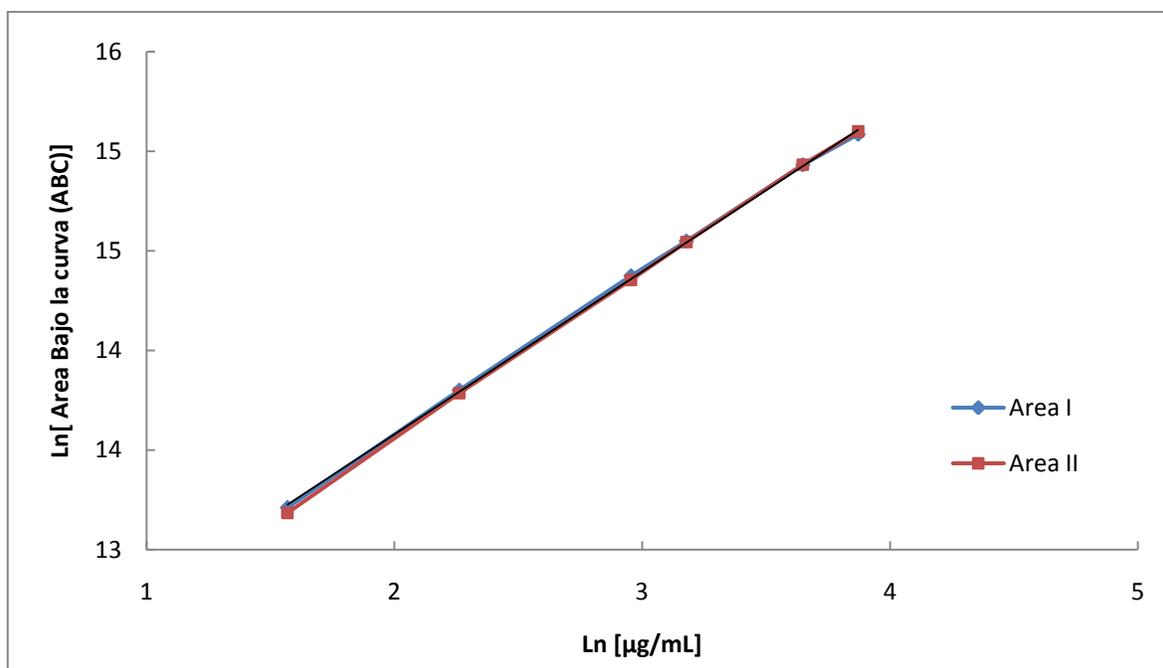


Figura 13. Relación log de concentración vs log de respuesta para simvastatina en medio FaSSIF

En los tres casos se observa que el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) fue mayor a 0.99, cuando los datos se ajustaron a una ecuación lineal para hidroclorotiazida y losartan (figuras 11 y 12). En el caso de la simvastatina, el mejor ajuste de los datos fue el modelo logarítmico (figura 13).

Para el error relativo debido a la regresión (%ERR), se presenta en la tabla 20, En ella se puede observar que en los tres casos se cumple con el requerimiento de que el %ERR, sea menor al 2%. Con lo cual se corrobora que el método es lineal.

Tabla 20. Resultados Error Relativo Debido a la regresión

Analito	m	b	$r^2$	%ERR
Hidroclorotiazida	1.0000	0.0000	0.9999	1.93
Losartán	1.0000	0.0000	0.9998	<b>1.03</b>
Simvastatina	0.9831	0.2228	0.9993	<b>0.73</b>

### 5.2.1.2. Precisión

De los datos obtenidos de linealidad se llevó a cabo el cálculo del factor de respuesta, en el cual se obtuvo un porcentaje de coeficiente de variación menor al 2% para los tres analitos, (tabla 21), por lo que cumple con lo establecido en la NOM 177.

**Tabla 21. Precisión del sistema de Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina**

<b>Analito</b>	<b>Promedio</b>	<b>D.E.</b>	<b>% C.V.</b>
Hidroclorotiazida	11771	226.825	<b>1.9</b>
Losartán	45091	809.171	<b>1.8</b>
Simvastatina	11.8101	0.11235	<b>0.95</b>

Con base en lo anterior se demuestra que la cuantificación de Hidroclorotiazida/Losartán/Simvastatina, empleando las condiciones indicadas en la sección 4.4 es preciso en el rango de concentraciones establecidas.

**5.2.2. Validación del método analítico en medio FaSSIF**

Para la validación del método se prepararon dos curvas a partir del producto piloto de concentración más alta, en medio FaSSIF y se calcularon las áreas de cada una de las concentraciones.

**5.2.2.1. Linealidad**

En las tablas 22, 23 y 24, se muestran los valores de  $m$ ,  $b$  y  $r^2$ , correspondientes a hidroclorotiazida, losartán y simvastatina respectivamente, en el rango de concentración de: Hidroclorotiazida: 3 – 30  $\mu\text{g/mL}$ , Losartán: 12 – 120  $\mu\text{g/mL}$  y Simvastatina: 4.8 – 48  $\mu\text{g/mL}$ , en la tabla 24, se presentan los resultados del porcentaje de error relativo debido a la regresión (%ERR), de los analitos bajo estudio.

**Tabla 22. Linealidad del método para la cuantificación de Hidroclorotiazida en medio FaSSIF**

[ $\mu\text{g/mL}$ ] nominal	Area		
	I	II	III
3	33028	33623	33021
6	69373	69724	68794
12	141225	141361	141787
15	175022	176370	175989
24	287470	286198	287182
30	356229	350967	351782
<b>m=</b>	12011.7	11824.5	11890
<b>b=</b>	-3117.08	-993.17	-1924.4
<b>r<sup>2</sup>=</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9997</b>

Tabla 23. Linealidad del método para la cuantificación de Losartán en medio FaSSIF

[µg/mL] nominal	Area		
	I	II	III
12	482977	475462	475948
24	967759	976459	979871
48	1979654	1970779	1969492
60	2470280	2486720	2473512
96	4042354	4043117	4051248
120	5028099	5033365	5152878
<b>m=</b>	42295.4	42353	43201.7
<b>b=</b>	-42539.3	-43531	-74945
<b>r<sup>2</sup>=</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.9996</b>

Tabla 24. Linealidad del método para la cuantificación de Simvastatina en medio FaSSIF

[µg/mL] nominal	Area			Ln [µg/mL]	Ln Area		
	I	II	III		I	II	III
4.8	525877	512861	523102	1.569	13.173	13.148	13.168
9.6	908976	907420	908732	2.262	13.720	13.718	13.720
19.2	1618565	1625267	1626231	2.955	14.297	14.301	14.302
24	1945373	1966213	1956342	3.178	14.481	14.492	14.487
38.4	2861373	2894020	2874316	3.648	14.867	14.878	14.871
48	3397563	3471066	3411923	3.871	15.039	15.060	15.043
				<b>m=</b>	0.8148	0.8326	0.8192
				<b>b=</b>	11.8885	11.8403	11.8781
				<b>r<sup>2</sup>=</b>	0.9999	1.0000	0.9999

Tabla 25. Resultados Error Relativo Debido a la regresión para el método por Cromatografía para la cuantificación de los fármacos en medio FaSSIF

Analito	m	b	r <sup>2</sup>	%ERR
Hidroclorotiazida	0.9999	0.0965	0.9999	<b>1.14</b>
Losartán	1.0025	-0.2325	1.0000	<b>1.22</b>
Simvastatina	0.9977	0.0524	0.9999	<b>0.70</b>

Se puede observar (tabla 25) que en los tres casos el coeficiente de determinación fue mayor a 0.99 y el %ERR fue menor al 3%, para cada uno de los analitos, con lo que se avala la linealidad del método

**5.2.2.2. Precisión y Exactitud**

**5.2.2.2.1. Repetibilidad y Exactitud**

Los resultados de la precisión correspondientes a hidroclorotiazida, losartán y simvastatina se muestran en las tablas 26, 27 y 28. Para los tres casos se puede observar que el %CV es menor al 3%, lo que indica que el método de cuantificación es repetible. Y en el caso %DEA, en los tres casos se observa un valor menor al 3% en cada punto, indicando así que el método es exacto.

**Tabla 26. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Hidroclorotiazida**

		<b>Concentración de Hidroclorotiazida [<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>]</b>					
		<b>3</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>24</b>	<b>30</b>
		3.0387	6.0905	12.1236	14.9615	24.4034	30.1769
		3.0886	6.1199	12.1351	15.0747	24.2966	29.7350
		3.0381	6.0418	12.1708	15.0427	24.3792	29.8035
<b>promedio</b>		3.0551	6.0841	12.1432	15.0263	24.3597	29.9051
<b>D.E.</b>		0.0290	0.0394	0.0246	0.0583	0.0560	0.2378
<b>%C.V.</b>		<b>0.9497</b>	<b>0.6481</b>	<b>0.2027</b>	<b>0.3883</b>	<b>0.2299</b>	<b>0.7952</b>
<b>%DEA</b>		<b>1.8377</b>	<b>1.4011</b>	<b>1.1932</b>	<b>0.1751</b>	<b>1.4988</b>	<b>0.3163</b>

**Tabla 27. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Losartán**

		<b>Concentración de Losartán [<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>]</b>					
		<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>60</b>	<b>96</b>	<b>120</b>
		12.3909	23.7944	47.5971	59.1381	96.1178	119.3054
		12.2142	23.9991	47.3884	59.5248	96.1357	119.4292
		12.2256	24.0793	47.3581	59.2141	96.3270	122.2405
<b>promedio</b>		12.2769	23.9576	47.4479	59.2923	96.1935	120.3250
<b>D.E.</b>		0.0989	0.1469	0.1302	0.2049	0.1160	1.6600
<b>%C.V.</b>		<b>0.8058</b>	<b>0.6132</b>	<b>0.2743</b>	<b>0.3455</b>	<b>0.1205</b>	<b>1.3796</b>
<b>%DEA</b>		<b>2.3076</b>	<b>0.1766</b>	<b>1.1503</b>	<b>1.1795</b>	<b>0.2016</b>	<b>0.2709</b>

Tabla 28. Precisión del método: Repetibilidad y Exactitud de Simvastatina

		Concentración de Simvastatina [ $\mu\text{g/mL}$ ]					
		4.8	9.6	19.2	24	38.4	48
		4.8366	9.4671	19.2191	24.0855	38.6728	47.7473
		4.8086	9.5427	19.2174	24.1565	38.4298	47.8091
		4.8263	9.4713	19.2729	24.1505	38.6276	47.6211
<b>promedio</b>		4.8239	9.4937	19.2364	24.1308	38.5767	47.7258
<b>D.E.</b>		0.0142	0.0425	0.0316	0.0394	0.1292	0.0958
<b>%C.V.</b>		<b>0.2934</b>	<b>0.4475</b>	<b>0.1640</b>	<b>0.1632</b>	<b>0.3350</b>	<b>0.2007</b>
<b>%DEA</b>		<b>0.4969</b>	<b>1.1075</b>	<b>0.1898</b>	<b>0.5451</b>	<b>0.4603</b>	<b>0.5712</b>

### 5.2.2.2. Reproducibilidad

Los resultados de reproducibilidad entre dos días diferentes de análisis de hidroclorotiazida, losartán y simvastatina, de concentraciones 30  $\mu\text{g/mL}$  /120  $\mu\text{g/mL}$  /48  $\mu\text{g/mL}$  correspondientemente, se presentan en la tabla 29. En los tres casos se obtuvo un %CV global, menor al 3%, por lo que el método usado, es reproducible, en días diferentes.

- Reproducibilidad entre días

Tabla 29. Precisión del método: Reproducibilidad entre días

		Concentración [ $\mu\text{g/mL}$ ]		
		Simvastatina	Hidroclorotiazida	Losartán
<b>Día</b>		<b>48</b>	<b>30</b>	<b>120</b>
1		48.061	30.0984	120.432
		48.0957	30.0169	120.5158
		48.0787	30.0463	120.5417
2		48.3699	29.877	119.7467
		48.2783	29.988	119.8246
		48.3775	29.8823	119.3204
3		48.09	30.371	120.2399
		48.1096	30.2121	120.3779
		48.0688	30.1936	120.4869
<b>Promedio</b>		48.1699	30.0762	120.1651
<b>D.E.</b>		0.1327	0.1617	0.4076
<b>% C.V.</b>		<b>0.2754</b>	<b>0.5376</b>	<b>0.3392</b>

- Reproducibilidad entre analistas

En el caso de la reproducibilidad entre analistas los resultados de del análisis de concentraciones de Simvastatina 48 µg/mL, Hidroclorotiazida 30 µg/mL y Losartán 120 µg/mL, se obtuvo un %CV menor al 3%. También se realizó la prueba estadística de t-student para hacer una comparación entre los resultados de dos analistas. Dado que la t-student calculada en los tres casos se encuentra en un rango de -2.776 a +2.776, que proviene de tablas de 95% de confianza ( $\alpha = 0.05$ ), se concluye que no existe diferencia significativa entre el analista 1 y 2 (Tabla 30).

**Tabla 30. Precisión del método: Reproducibilidad entre analistas**

Replica	Simvastatina		Hidroclorotiazida		Losartán	
	Analista		Analista		Analista	
	1	2	1	2	1	2
1	47.5195	47.6169	29.8823	29.8984	120.1384	120.1839
2	47.5157	47.3657	29.988	29.9569	120.1214	120.3087
3	47.5186	47.6012	29.8673	29.9745	120.4092	120.8284
<b>Promedio</b>	47.5229		29.9279		120.3317	
<b>D.E.</b>	0.0892		0.0515		0.2671	
<b>% C.V.</b>	0.1876		0.1720		0.2220	
<b>IC (97.5%)</b>	(-0.2940, 0.2740)		(-0.1859, 0.1245)		(-0.980, 0.546)	
<b>t<sub>cal</sub></b>	<b>-0.12</b>		<b>-0.69</b>		<b>-1.00</b>	

**5.2.2.3. Influencia del filtro**

Los resultados de la influencia del filtro para simvastatina se presentan en la tabla 31. En la cual se muestra que el uso del filtro de teflón de 35  $\mu\text{m}$ , para la toma de muestra en el perfil de disolución no afecta la cantidad de fármaco cuantificado.

**Tabla 31. Influencia del filtro para simvastatina**

<b>Muestra 100% (48 <math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Área Bajo la Curva</b>
<b>Sin filtrar</b>	3711045
<b>promedio Muestras filtradas (n=3)</b>	3658830
<b>DE</b>	38114.4697
<b>%CV</b>	1.0417
<b>% Retenido</b>	<b>1.41</b>

5.2.2.4. Selectividad

En las figuras 14, 15, 16 y 17 se presentan los resultados de selectividad. En ellas se puede observar que para ambos productos piloto estudiados no existe interferencia de los excipientes con los analitos de interés, por lo que el método elegido es adecuado para la cuantificación de los mismos.

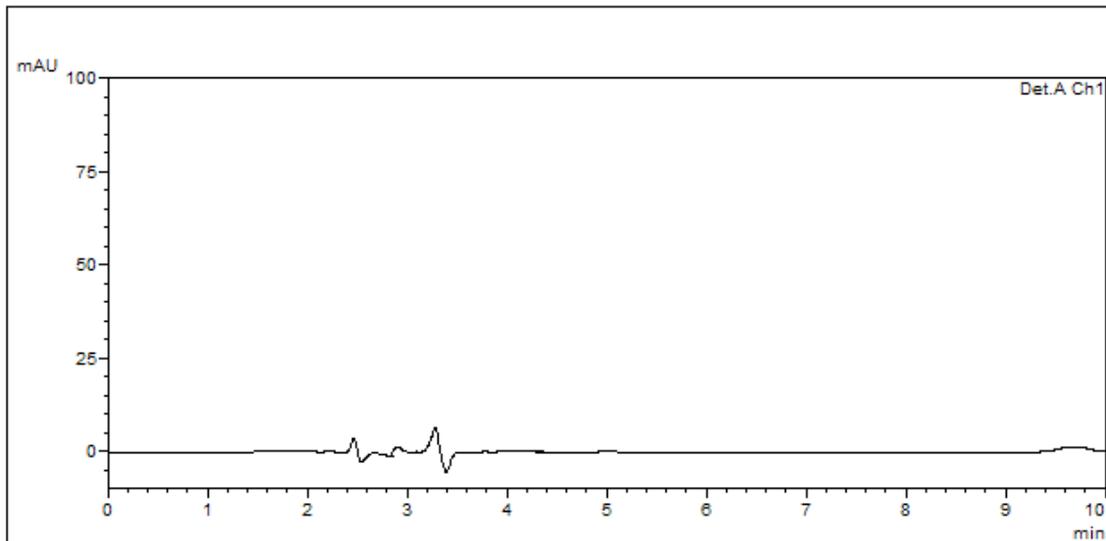


Figura 14. Cromatograma típico del blanco: Medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)

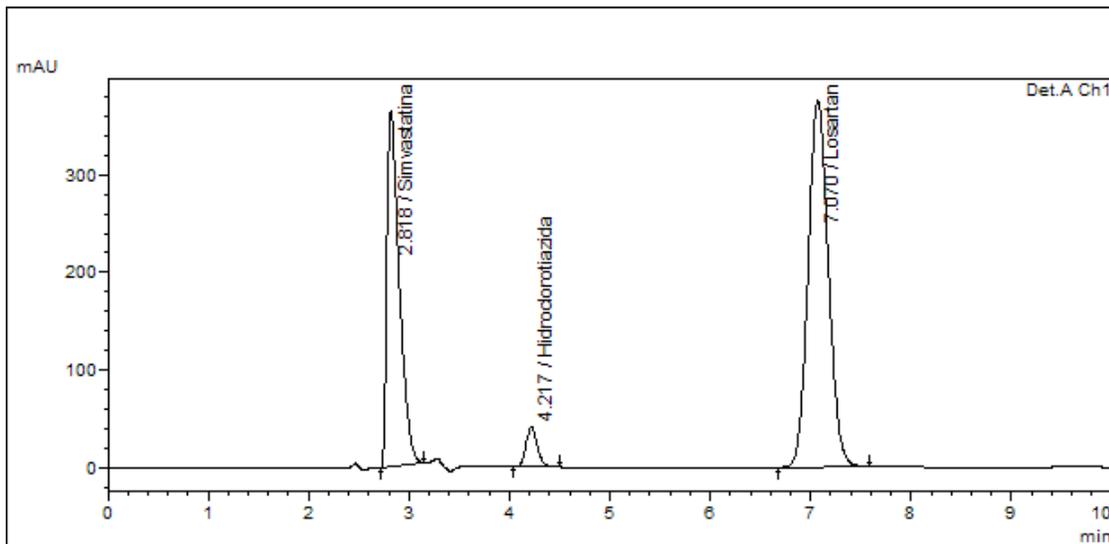
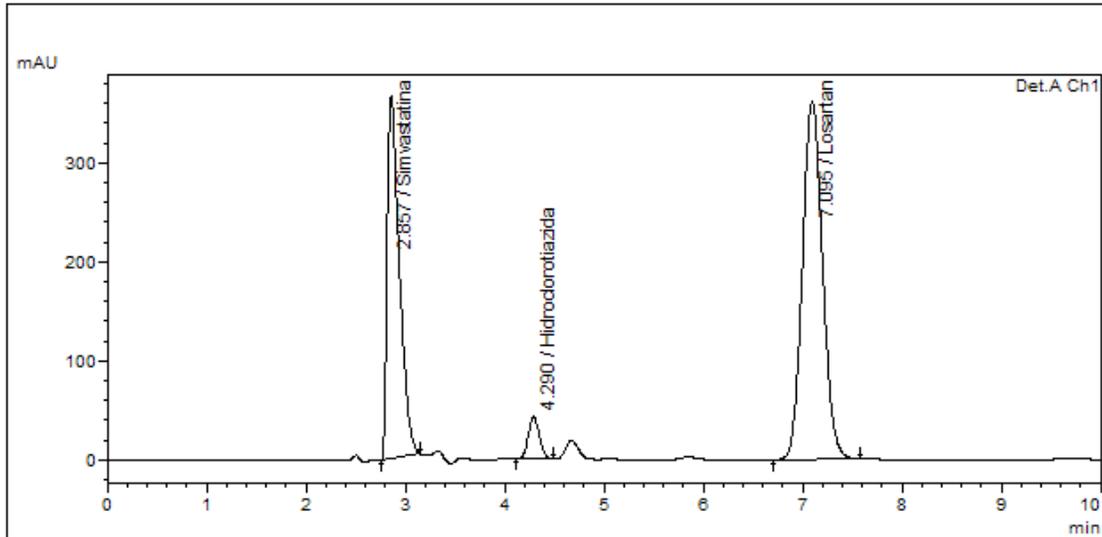
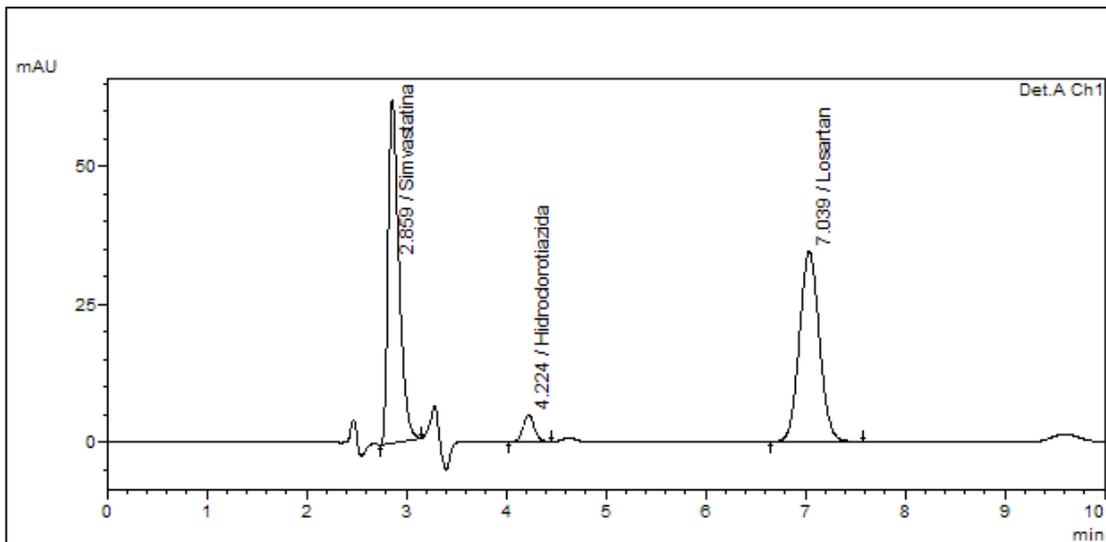


Figura 15. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán, de estándares en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)



**Figura 16. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán del producto piloto 1, en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)**



**Figura 17. Cromatograma típico de Simvastatina/Hidroclorotiazida/Losartán del producto piloto 2, en medio FaSSIF (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)**

Como se puede observar para ambos productos piloto analizados no se presenta interferencia de los excipientes con ninguno de los analitos de interés, por lo que la selectividad del método elegido es adecuado para la cuantificación de estos analitos.

**5.2.2.5. Estabilidad**

En la tabla 32 se muestran los resultados de la estabilidad de las muestras en refrigeración conteniendo las siguientes concentraciones de los analitos: Hidroclorotiazida 30 µg/mL, Losartán 120 µg/mL, Simvastatina 48 µg/mL, en medio FaSSIF. En ella se puede observar que hasta las 72 horas la muestra se considera estable ya que las diferencias porcentuales de cada muestra son menores al 2% con respecto a su concentración inicial.

**Tabla 32. Estabilidad en refrigeración de Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina**

Muestra	Hidroclorotiazida		Losartán		Simvastatina	
	% RECOBRO	Diferencia porcentual	% RECOBRO	Diferencia porcentual	% RECOBRO	Diferencia porcentual
Inicial	99.9	0.0	100	0.0	99.2	0.0
24 horas	99.2	0.7	101	0.9	98.9	0.3
48 horas	100.2	0.3	99.3	0.7	98.8	0.4
72 horas	98.6	1.4	98.2	1.8	97.3	1.9

Los resultados de estabilidad a temperatura ambiente correspondientes a hidroclorotiazida, losartán y simvastatina en medio FaSSIF, se muestran en la tabla 33. En ella se puede observar que la muestra ya no es estable después de 48 horas, ya que a este tiempo que la diferencia porcentual con respecto a la concentración inicial es mayor al 2% para los tres casos.

**Tabla 33. Estabilidad Hidroclorotiazida, Losartán y Simvastatina a temperatura ambiente de**

Muestra	Hidroclorotiazida		Losartán		Simvastatina	
	% RECOBRO	Diferencia porcentual	% RECOBRO	Diferencia porcentual	% RECOBRO	Diferencia porcentual
Inicial	99.9	0.0	100.0	0.0	99.2	0.0
24 horas	98.6	1.3	100.6	0.6	97.8	1.4
48 horas	94.2	5.7	97.2	2.8	96.9	2.3
72 horas	83.1	16.8	108.4	8.4	93.7	5.5

### 5.3. Perfiles de disolución

#### 5.3.1. Perfiles de disolución de los productos piloto

##### 5.3.1.1. Perfil de disolución de cápsulas con microesferas de Hidroclorotiazida/Losartán/Simvastatina (12.5, 50, 20 mg) Producto Piloto 1 (PP1)

Los resultados del porcentaje disuelto de losartán a los diferentes tiempos se presentan en la tabla 34 y figura 18. En A los primeros tiempos de muestreo (10 y 20 minutos) no fue posible cuantificarlo, lo cual indica que el producto presenta una lenta liberación de la forma farmacéutica. El porcentaje disuelto a los 90 minutos fue de 35. De igual manera se puede observar que el coeficiente de variación fue mayor al 10%, en todos los tiempos de muestreo.

En el caso de la Hidroclorotiazida y la simvastatina, estas no se disolvieron en el medio de disolución.

**Tabla 34. Porcentaje disuelto Losartán a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)**

Tiempo (min)	LOSARTAN		
	Promedio (n=6)	DE	%CV
10	No son cuantificables		
20			
30	17.4824	4.0163	<b>22.9</b>
45	20.5453	3.9041	<b>19</b>
60	25.729	4.185	<b>16.2</b>
90	34.9074	4.4471	<b>12.7</b>

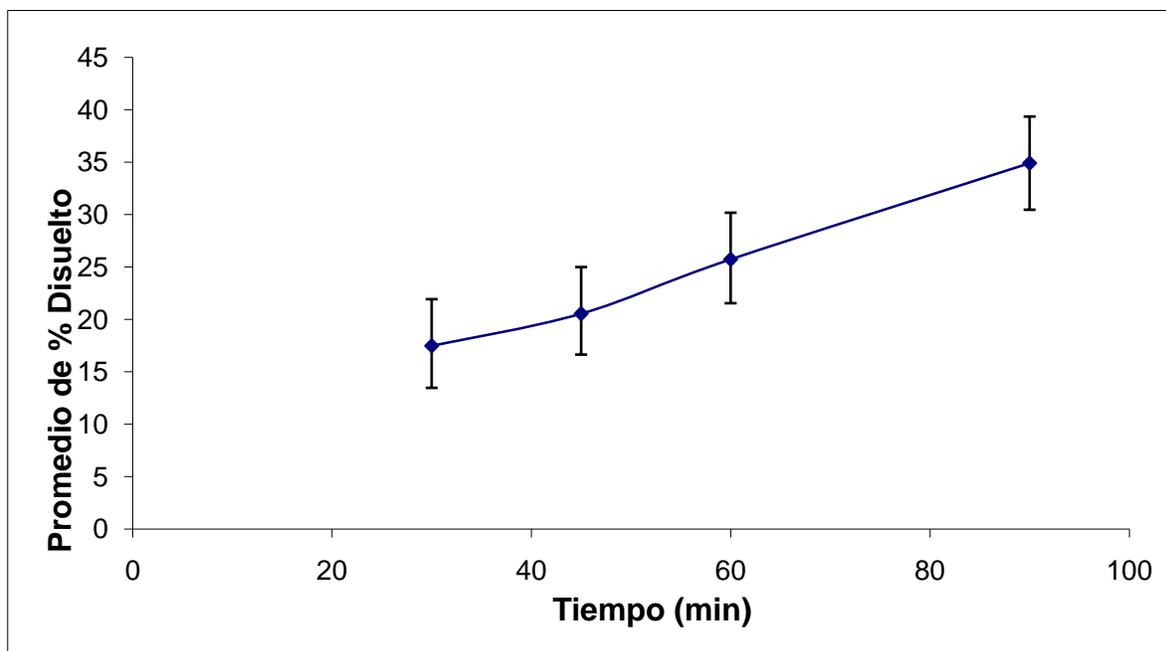


Figura 18. Gráfico del porcentaje disuelto de Losartán con respecto al tiempo en medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)

**5.3.1.2. Perfil de disolución de cápsulas con microesferas de Hidroclorotiazida/Losartán/simvastatina (12.5, 50, 10 mg). Producto Piloto 2 (PP2)**

En la tabla 35 y en la figura 19, se observa que el losartán fue cuantificable a todos los tiempos de muestreo, A pesar de que la disolución fue mayor que en el piloto 1, la disolución fue baja, con un porcentaje promedio de 62% a los 90 minutos.

Para el caso de la simvastatina y la hidroclorotiazida, ninguno de ellos se disolvió En este producto el coeficiente de variación fue muy alto en todos los tiempos de muestreo.

Tabla 35. Porcentaje disuelto de Losartán a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)

Tiempo (min)	Losartán		
	Promedio (n=6)	DE	%CV
10	34.2096	10.9063	31.8
20	47.7225	12.6738	26.5
30	50.981	12.4547	24.4
45	57.1905	12.4489	21.7
60	58.3461	12.2798	21.1
90	62.1733	11.2486	18.1

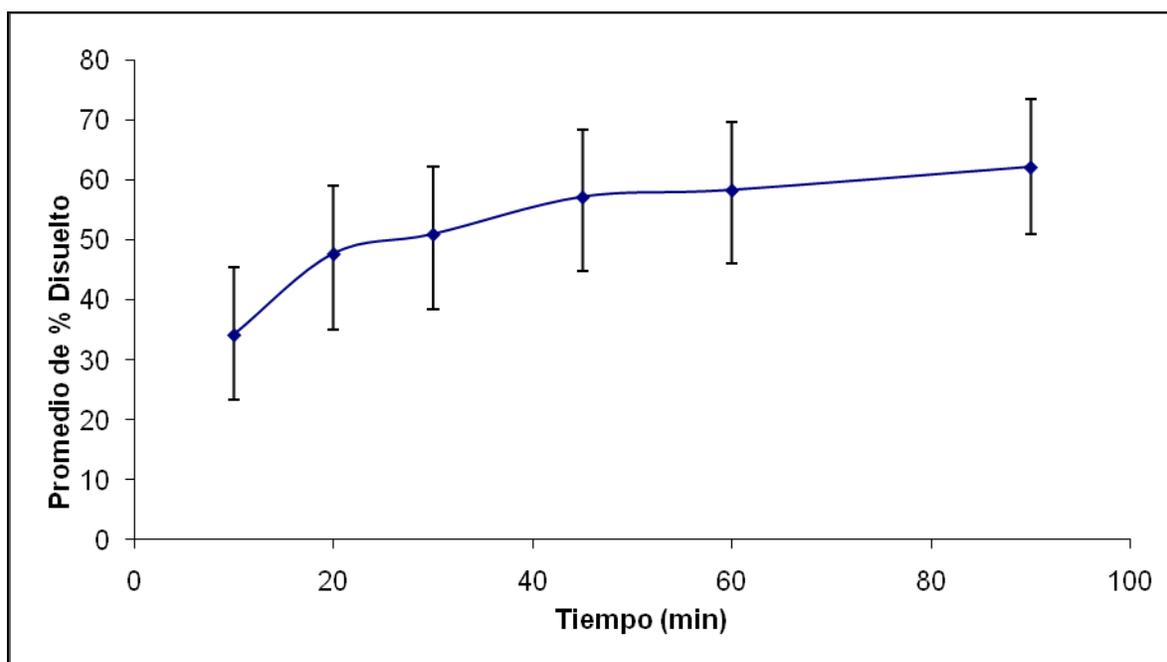


Figura 19. Gráfico del %disuelto de Losartán con respecto al tiempo en medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)

### 5.3.2. Perfiles de disolución de los productos comerciales

Dada la baja disolución de hidroclorotiazida y simvastatina a partir de los dos productos piloto, se decidió evaluar el perfil de disolución de los productos innovadores: Hyzaar<sup>®</sup>: conteniendo 12.5 mg hidroclorotiazida y 50 mg losartán así como Zocor<sup>®</sup>: conteniendo 20 mg de simvastatina.

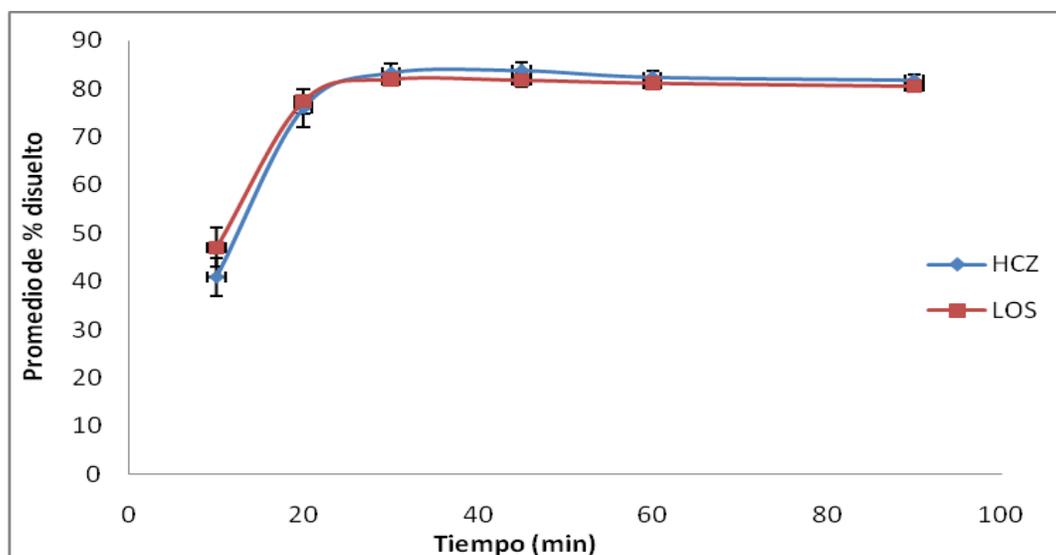
#### 5.3.2.1. Perfil de disolución del producto HYZAAR

Los resultados del porcentaje disuelto de Hidroclorotiazida y Losartán del producto innovador se encuentran en la tabla 36 y en la figura 20. En ellas se puede observar que a los 90 minutos, la disolución fue de aproximadamente el 80% lo que indica que ambos fármacos son solubles en este medio de disolución.

Ello muestra que la baja disolución de los productos piloto está relacionada con la formulación y no con el fármaco en sí.

**Tabla 36. Porcentaje disuelto de Hidroclorotiazida y Losartán del producto Hyzzaar a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)**

Tiempo (min)	Hidroclorotiazida			Losartán		
	Promedio	DE	%CV	Promedio	DE	%CV
<b>10</b>	40.9356	4.017	<b>9.8</b>	47.0574	4.1005	<b>8.7</b>
<b>20</b>	76.0133	3.9196	<b>5.2</b>	77.4571	2.5354	<b>3.3</b>
<b>30</b>	83.2294	1.9106	<b>2.3</b>	81.9335	1.2056	<b>1.5</b>
<b>45</b>	83.6786	1.7268	<b>2.1</b>	81.7171	1.3696	<b>1.7</b>
<b>60</b>	82.3205	1.3131	<b>1.6</b>	81.1117	0.7691	<b>0.9</b>
<b>90</b>	81.7031	1.2596	<b>1.5</b>	80.4815	0.5987	<b>0.7</b>



**Figura 20. Gráfico de porcentaje disuelto de Hidroclorotiazida y Losartán del producto Hyzzar a los diferentes tiempos de muestreo utilizando como medio de disolución Fluido intestinal simulado en ayuno (FaSSiF)**

### 5.3.2.2. Perfil de disolución del producto ZOCOR

Al hacer el estudio de disolución del producto Zocor, (producto innovador de simvastatina), este tampoco pudo ser cuantificado en el medio FaSSiF, lo que confirma la baja solubilidad del fármaco en este medio.

### 5.3.3. Comparación de los perfiles de disolución

Con base en lo anteriormente mencionado se establece que para Hidroclorotiazida y Losartán, los excipientes contenidos en los productos piloto, claramente afectan la liberación de los mismos, ya que el producto innovador presenta una buena liberación en este medio a diferencia de los productos pilotos.



# VII. Conclusiones

---

## Conclusiones

En el presente trabajo:

- ✓ Se desarrolló y validó un método analítico para cuantificar Losartán/Hidroclorotiazida/Simvastatina, empleando para ello Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).
- ✓ El producto innovador Hyzaar<sup>®</sup>, presenta una buena disolución de Medio FaSSIF.
- ✓ El producto innovador Zocor<sup>®</sup>, no se disolvió en el medio FaSSIF.
- ✓ Los dos productos piloto, presentan interferencia de los excipientes en la disolución de los principios activos.



# VII. Bibliografía

### BIBLIOGRAFÍA

1. AMBIKE AA., et al. Physico-chemical characterization and stability study of glassy simvastatin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 31 (2005) 895-899
2. ANSARI M., et al. A comparative study of first-derivate spectrophotometry and high-performance liquid chromatography applied to the determination of losartan potassium in tablets. *Chem. Pharm. Bull.* 52 (10) (2004) 1166-1170
3. AULTON M. *Farmacología la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. Segunda Edición.* 2004. Ed. Elsevier. Madrid España. Pp 235 y 236.
4. CARLUCCI G., et al. Simultaneous determination of losartán and hydrochlorothiazide in tablets by high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23 (2000) 185-189
5. CHARMAN W. Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipids and pH. *Pharm Sci.* 86(3). 269-279 (1997).
6. CURTIS M. *Farmacología integrada. 1<sup>ra</sup> edición.* 1998. Ed. Harcourt Brace pp 181 270.
7. DRESSMAN J., et al. Dissolution testing a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm. Research.* Vol. 15, No 1, (1998), 11-22
8. DRESSMAN J. et al. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Pharm Sci.* 11(2): 73-74 (2000).
9. ERK N. Analysis of binary mixture of losartan potassium and hydrochlorothiazide by using high performance liquid chromatography, ratio derivate spectrophotometric and compensation technique. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 24 (2001) 603-611
10. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM 8va ed.* 2004.
11. FLORES J. *Farmacología Humana. Editorial Salvat Medicina.* 1992. Segunda edición. 585

12. FLOREY K. Analytical Profiles of Drugs Substances. Volumen 10. USA. Academic Press. 1981. Pp. 406-431
13. FUNG, HO WIN, et al., Training guide high performance liquid chromatographic. valid analytical measurement, UK, 2003, pp 1-5
14. Galia E. et al., Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II Drugs. pharm rese. 15 (5) 698-705(1998)
15. GARG G., et al. Spectrophotometric and column high-performance liquid chromatographic methods for simultaneous estimation of metoprolol tartrate and hydrochlorothiazide in tablets. J AOAC Int. 91 (2008) 1045-1050
16. GENARO R. Alonso. Remington Farmacia, 20<sup>a</sup> ed. Editorial Medica Panamericana
17. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológica de la Terapéutica. Undécima edición. USA . Edit. Mc Graw Hill. 2006. Paginas. 754, 755, 756, 795, 810, 813, 814 948 y 951.
18. HARRY G. Analytical Profiles of Drugs Substances and Excipients. Volumen 22. USA. Academic Press. Pages. 363-381
19. HAZEM A., et al. Development and validation of a reversed-phase HPLC method for the simultaneous analysis of simvastatin and tocotrienols in combined dosage forms. J. Pharm. Biomed. Anal. 49 (2009) 950-956
20. HITNER H. Introducción a la farmacología. 5 edición. 2007. México. Ed. Mc Graw-Hill. pp 281, 282, 325, 326.
21. KATZUNG B. Farmacología básica y clínica. 10<sup>a</sup> edición, 2007. México. Ed. El manual moderno. pp 249, 251, 583 y 585.
22. LOREDO E., Evaluación de los perfiles de disolución de un producto que contiene hidroclorotiazida, losartán y amlodipino en un medio biorrelevante. Tesis Licenciatura. México D.F. UNAM. 2010. Pp. 79.
23. MEYER, Veronika. Practical High Performance Liquid Chromatography. Editorial Wiley. 1998. Pág. 100

24. MITCHEL P. Manual de farmacología básica y clínica. 5 edición. 2010. Ed. Mc Graw-Hill. Pp 102-107
25. NAJIB NM., et al. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of two simvastatin 40 mg tablets (Simvast and Zocor) in healthy human volunteers. Biopharm. Drug Dispos. 24 (2003) 183-189
26. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998 "Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a los que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas".
27. OBANDO MA., et al. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in tablets by high performance low-pressure chromatography using a multi-syringe burette coupled to a monolithic column. Anal. Bional. Chem. 391 (2008) 2349-2356
28. PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Edición 54. 2008. Editores Sistemas Inter. México. Páginas 1139, 1140
29. RANE VP., et al. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of Telmisartan and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparation. J. Chromatogr. Sci. 46 (2008) 887-891
30. RODRIGUEZ C. et.al. Guía de farmacología y terapéutica. 2007 Editorial Mc Graw-Hill. 93 y 94.
31. RODRIGUEZ C. Farmacología clínica. 1<sup>ra</sup> edición. 2005. México. Ed. Mc Graw-Hill pp 64, 118 y 122.
32. RODRIGUEZ R. Guía de farmacología terapéutica. Primera edición. 2007 Ed. Mc Graw-Hill. Pp 95 y 96
33. SENTHAMIL S., et al. Chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous quantitation of metoprolol succinate and simvastatin in human plasma. J. Pharm. Biomed. Anal. 49 (2009) 780-785

34. SHAIKH S., et al. A simple and rapid high-performance liquid chromatographic method for determination of bisoprolol fumarate and hydrochlorothiazide in a tablet dosage form. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48 (2008) 1055-1057
35. SKOOG et. al. *Química analítica*. Editorial Mc Graw-Hill. 2000. Séptima edición. pp. 705-710
36. SWARBRICK James. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Segunda ed. Volumen I. 2007. Editorial Marcel Dekker. pp. 414-425
37. TENHOOR C. et al. Solubility of mefenamic acid under simulated fed and fasted state condition. *Pharm Res.* 8 (9):1203. (1991).
38. The Merck Index. 13<sup>th</sup> ed. USA. Merck & Co., Inc. 2001. Pág. 854, 100, 1529
39. United State Pharmacopeia. USP 30 NF 25, U.S., Pharmacopeia the standar of Quality. 2007. Pp 272-277
40. *Vademecum Farmacéutico IPE*. 10<sup>a</sup> Edición, Colombia, Rezza Editores S.A., 2001, pág. 506, 737
41. VELAZCO M. et al. *Farmacología Fundamental*. 1<sup>ra</sup>. 2003. España. Ed. Mc Graw Hill. 177
42. *Guía para la industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata*.  
<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm> [Consulta 29 Agosto 2010]
43. *Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo para formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata en base a un sistema de clasificación de biofarmacéutica*.  
<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm201453.htm> [Consulta 29 Agosto 2010]