



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE DISOLUCIÓN
Y PERFIL DE DISOLUCIÓN PARA TABLETAS DE ETORICOXIB DE
120 mg POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA
RESOLUCIÓN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

JORGE RAFAEL VALLE



CD MX.

AÑO 2018



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: Prof. Inés Fuentes Noriega

VOCAL: Prof. Ricardo Rodríguez Sáenz

SECRETARIO: Prof. Juan Manuel Rodríguez

1er. SUPLENTE: Prof. Natividad García Escamilla

2° SUPLENTE: Prof. Abel Baltazar Hernández Calvo

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 112 de Biofarmacia, que está ubicado en el edificio E de la Facultad de Química.
Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Juan Manuel Rodríguez

SUSTENTANTE:

Jorge Rafael Valle



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. GENERALIDADES.....	4
3.1. Disolución.....	4
3.2. Factores que afectan la disolución	5
3.2.1. Factores que influyen en la disolución de un fármaco.....	5
3.2.1.1. Factores de la fórmula que afectan la disolución	5
3.2.1.2. Factores del medio de disolución que afectan la disolución	6
3.3. Importancia de la disolución	7
3.4. Sistema de clasificación biofarmacéutica	7
3.5. Prueba de disolución vs Perfil de disolución	8
3.6. Aparatos para pruebas de disolución	9
3.7. Comparación de perfiles de disolución	12
3.8. Etoricoxib	13
3.8.1. Propiedades fisicoquímicas	14
3.8.2. Presentaciones en el mercado	14
3.8.3. Mecanismo de acción	14
3.8.4. Farmacocinética	15
3.8.4.1. Absorción	15
3.8.4.2. Distribución	15
3.8.4.3. Metabolismo.....	15
3.8.4.4. Eliminación.....	16



3.8.5. Indicaciones terapéuticas.....	17
3.8.6. Reacciones adversas.....	17
3.9. Aspectos generales de la cromatografía	18
3.9.1. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	19
3.10. Validación de un método analítico.....	21
3.10.1. Clasificación de los métodos analíticos	22
3.10.2. Aspectos analíticos a ser validados.....	22
3.11. Desarrollo de métodos por diseño factorial	24
4. PARTE EXPERIMENTAL	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
7. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE DISOLUCIÓN AL PRODUCTO INNOVADOR.....	83
8. CONCLUSIÓN	85
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
10. ANEXOS	89
ANEXO A. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	89
ANEXO B. GROMATOGRAMAS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	92
ANEXO C. DATOS CRUDOS PARA DESARROLLO DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN.....	97
ANEXO D. EJEMPLO DE CÁLCULO PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN.....	100
ANEXO E. CÁLCULO DE LA POLARIDAD Y PROPORCIÓN DE DISOLVENTE.....	103
ANEXO F. MÉTODO DE DISOLUCIÓN Y PERFIL DE DISOLUCIÓN DE TABLETAS DE ETORICOXIB DE 120 mg.....	105



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores que influyen en la disolución in vitro.	6
Tabla 2. Sistema de clasificación biofarmacéutica.	7
Tabla 3. Clasificación de los métodos analíticos.	22
Tabla 4. Aspectos básicos a ser validados en métodos analíticos.	23
Tabla 5. Aspectos analíticos a ser validados en base a la NOM-177-SSA1-2013.	23
Tabla 6. Criterio de aceptación para uniformidad de dosis.	30
Tabla 7. Selección de la longitud de onda del Etoricoxib.	31
Tabla 8. Diseño de experimentos factorial para medición de la muestra.	32
Tabla 9. Corridas para determinar condiciones cromatográficas de la medición de la muestra.	32
Tabla 10. Diseño factorial para tabletas de Etoricoxib de 120 mg.	35
Tabla 11. Condiciones experimentales para determinar las condiciones de disolución.	35
Tabla 12. Criterio de aceptación para adecuabilidad del sistema.	37
Tabla 13. Preparación de curva de calibración.	38
Tabla 14. Criterios de aceptación para la linealidad del sistema.	39
Tabla 15. Criterios de aceptación para la precisión del sistema.	39
Tabla 16. Criterio de aceptación para la estabilidad de la muestra.	41
Tabla 17. Criterio de aceptación para influencia del filtro.	41
Tabla 18. Preparación de curva de calibración.	42
Tabla 19. Criterios de aceptación para la linealidad del método.	43
Tabla 20. Criterio de aceptación para la exactitud del método.	44
Tabla 21. Criterio de aceptación para la repetibilidad del método.	44
Tabla 22. Criterio de aceptación para la reproducibilidad del método.	45
Tabla 23. Criterio de aceptación para la selectividad del método.	45
Tabla 24. Criterio de aceptación para el perfil de disolución.	46
Tabla 25. Resultados de la valoración.	47



Tabla 26. Resultados de uniformidad de dosis por variación de masa.	48
Tabla 27. Resultados del diseño de experimentos factorial de condiciones cromatográficas.....	49
Tabla 28. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.....	50
Tabla 29. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	54
Tabla 30. Resultados del segundo diseño factorial para condiciones cromatográficas.	56
Tabla 31. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.....	57
Tabla 32. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	59
Tabla 33. Valor de los factores para obtener respuestas deseadas de tiempo de retención y simetría del pico cromatográfico del Etoricoxib.....	63
Tabla 34. Resultados de los perfiles de disolución.	66
Tabla 35. Selección del perfil de disolución	70
Tabla 36. Resultados de adecuabilidad del sistema.....	73
Tabla 37. Resultados de linealidad del sistema.....	74
Tabla 38. Resultados de tratamiento de los datos de linealidad del sistema.	74
Tabla 39. Resultados de precisión del sistema.....	75
Tabla 40. Resultados de estabilidad de concentración alta.....	76
Tabla 41. Resultados de estabilidad de concentración baja.....	76
Tabla 42. Resultados de influencia del filtro.	77
Tabla 43. Resultados de linealidad del método.	78
Tabla 44. Resultados de tratamiento de los datos de linealidad del método.	78
Tabla 45. Resultados de exactitud del método.	79
Tabla 46. Resultados de repetibilidad del método.....	80
Tabla 47. Resultados de reproducibilidad del método.....	81
Tabla 48. Resultados del perfil de disolución de etoricoxib.	83



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aparatos de disolución, Aparato I izquierda y Aparato II derecha.	10
Figura 2. Aparato de disolución 3 (Cilindro oscilante).	11
Figura 3. Aparato de disolución 4 (Celda de flujo).	12
Figura 4. Estructura química del Etoricoxib.	13
Figura 5. Propuestas de vías metabólicas del Etoricoxib (A. David Rodrigues, 2002).	16
Figura 6. Esquema del instrumento de CLAR (Martinez, 2007).	20
Figura 7. Cromatograma típico (Duglas A. Skoog, 2008).	21
Figura 8. Gráfico de contornos.	25
Figura 9. Gráfico de respuesta.	26
Figura 10. Espectro de absorción del Etoricoxib.	49
Figura 11. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.	51
Figura 12. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib.	53
Figura 13. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	54
Figura 14. Gráfica de efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	56
Figura 15. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.	57
Figura 16. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib.	58
Figura 17. Gráfica de cubo para el tiempo de retención del Etoricoxib.	59
Figura 18. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	60
Figura 19. Gráfica de efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	61
Figura 20. Gráfico de cubo para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.	62
Figura 21. Gráfico de contornos para pH de la F.M. y Polaridad de F.M., se mantiene constante la Velocidad de Flujo = 1.2 mL/min, donde TR = tiempo de retención (min) y Simetría = simetría de picos cromatográficos.	64



Figura 22. Pico cromatográfico del etoricoxib.	65
Figura 23. Gráfico de linealidad del sistema.	74
Figura 24. Gráfico de linealidad del método.	78
Figura 25. Resultado de selectividad del método, donde se indica que “El factor de pureza está dentro el límite de umbral calculado”.	82
Figura 26. Perfil de disolución para tabletas de etoricoxib de 120 mg.	83



SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

%	Porcentaje.
<	Menor que.
>	Mayor que.
±	Más o menos que.
≤	Menor o igual que.
≥	Mayor o igual que.
°C	Grado Celsius.
µg	Microgramo.
µg/mL	Microgramo por mililitro.
µg•h/mL	Microgramos, hora por mililitro.
µL	Microlitro.
µm	Micrómetro.
ABC	Área bajo la curva.
ANOVA	Análisis de varianza.
b	Ordenada al origen.
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución.
cm	Centímetro.
COX	Ciclooxigenasa.
CV %	Porcentaje de coeficiente de variación.
DE	Desviación estándar.
F.M.	Fase móvil.
f ₂	Factor de similitud 2.
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
g	Gramo.
h	Hora.
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución.
k	Constante de aceptabilidad.
LI (m)	Límite inferior de la pendiente.
LS (b)	Límite superior de la ordenada al origen.
LS (m)	Límite superior de la pendiente.
m	Pendiente.
M.D.	Medio de disolución.
mg	Miligramo.
MGA	Método general de análisis.
min	Minuto.
mL	Mililitro.
mL/min	Mililitro por minuto.
mM	Milimolar.
mm	Milímetro.
N	Normal.
nm	Nanómetro.
NOM	Norma oficial mexicana.
pH	Potencial de hidrógeno.
pKa	Logaritmo negativo de la constante de disociación ácida.



r	Coeficiente de correlación lineal.
r/min (rpm)	Revoluciones por minuto.
s	Desviación estándar.
Sb	Desviación estándar de la ordenada al origen.
Sm	Desviación estándar de la pendiente.
T _{máx}	Tiempo máximo.
UV	Ultravioleta/Espectro ultravioleta.
VA	Valor de aceptación.
VIS	Visible.
R.A.	Reactivo grado analítico.
MEOH	Metanol.
vs	Contra.

1. INTRODUCCIÓN

La Biofarmacia es una rama de la farmacología que se encarga de estudiar los factores que interfieren en la liberación de un fármaco desde su forma de dosificación, incluyendo su disolución, como paso previo a ser absorbido (López, 2017).

Los métodos de disolución hoy en día tienen una amplia variedad de aplicaciones a nivel científico y en la industria farmacéutica, por lo que el diseño apropiado de éstos métodos, se debe realizar apropiadamente en base a las características fisicoquímicas del principio activo, propiedades fisiológicas en el tracto gastrointestinal y en base a las características de la forma farmacéutica que se está estudiando o desarrollando; como consecuencia, éstas características permiten determinar que método analítico es factible para que el fármaco sea cuantificado.

La disolución es un proceso por el cual un soluto interacciona con un disolvente para formar una disolución; desde un punto de vista termodinámico, la disolución de una sustancia farmacológica es un proceso complejo que implica múltiples equilibrios simultáneos donde se observan interacciones de tipo soluto – soluto, disolvente – disolvente y en la interfaz soluto – disolvente (Jennifer Dressman, 2005), por lo que la disolución es un proceso de transferencia de masa donde: 1) Se elimina el soluto de la fase sólida, 2) El soluto interacciona con las moléculas de disolvente y 3) Hay difusión del soluto en el disolvente hasta que se encuentre en equilibrio.

Los métodos de disolución son un reflejo de la biodisponibilidad que presentará el principio activo, una vez que éste se libere de su forma farmacéutica e interaccione con los fluidos biológicos del organismo; por lo tanto, la disolución de un fármaco es un paso crítico para evaluar y demuestra que un medicamento cumple con las características de calidad, seguridad y eficacia.

Por otra parte el desarrollo de métodos de disolución, puede implicar la adaptación de un método ya existente, realizando cambios menores o es posible obtener las condiciones óptimas partiendo de un diseño de experimentos.

En México los métodos de disolución se deben validar en base a los requisitos que exigen la NOM-177-SSA1-2013 y la FEUM vigente; ya que la validación de los métodos analíticos es la confirmación, a través de evidencia objetiva, de que se han cumplido con los requisitos para un uso o aplicación específico previsto, ya que la validación permite tener resultados analíticos confiables y aptos para su adecuado uso, por lo que la validación debe ser lo suficientemente amplia para cumplir los requisitos de aplicación para el que fue desarrollado (colaboradores., 2016).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Desarrollar y validar un método de disolución rápido, sensible y selectivo para tabletas de Etoricoxib de 120 mg por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a un detector UV-VIS.

2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Desarrollar un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución para cuantificar Etoricoxib.
- Desarrollar un método de disolución para elaborar el perfil de disolución de tabletas de Etoricoxib de 120 mg.
- Validar el método analítico en base a los criterios que se establecen la NOM-177-SSA1-2013, para métodos de disolución y perfiles de disolución.
- Aplicar el método de disolución al producto innovador realizando un control farmacéutico a tabletas de etoricoxib de 120 mg para: uniformidad de dosis por variación de masa, valoración y perfil de disolución del medicamento innovador.

3. GENERALIDADES

3.1. Disolución

La disolución es básicamente el proceso al que se someten las moléculas cuando se transfieren del estado sólido al estado disuelto. Hay dos pasos involucrados en la disolución, el primero es el desprendimiento de moléculas de la superficie sólida para formar moléculas hidratadas en la interfaz sólido-líquido. El segundo es el transporte desde esta interfaz a la solución, dependiendo de qué paso limite la velocidad de transferencia de masa (Bente Steffansen, 2010), el proceso de disolución puede ser:

- Velocidad de disolución controlada.
- Velocidad de transferencia de masa controlada.
- Una fusión de ambos procesos.

La velocidad de disolución se controla mediante la velocidad de desprendimiento del fármaco desde su red cristalina al disolvente. En este caso, la liberación y la deposición de la molécula solubilizada son más lenta que el siguiente proceso de transferencia de masa. La disolución controlada por la transferencia de masa implica dos procesos fundamentales: difusión molecular y convección forzada. La velocidad de transporte del fármaco lejos de la superficie sólida que se está disolviendo es una combinación de difusión en la dirección perpendicular a la superficie plana y convección en la dirección del flujo (Bente Steffansen, 2010).

Cuando las constantes de velocidad de ambos procesos son aproximadamente equivalentes, la velocidad de disolución es una función de ambos procesos, es decir, está determinada tanto por la velocidad de disolución en la interfaz de la forma farmacéutica, como por la velocidad de transferencia de masa.

3.2. Factores que afectan la disolución

Como ya se mencionó anteriormente la disolución de un fármaco juega un papel importante en el efecto terapéutico que ejerce, por lo que se deben considerar diferentes factores que son capaces de alterar la solubilidad del principio activo y/o modificar la liberación del mismo de la forma farmacéutica; se considerarán dos condiciones que pueden afectar las disolución del fármaco tanto en condiciones in vitro como en condiciones in vivo.

3.2.1. Factores que influyen en la disolución de un fármaco

La disolución de un fármaco puro o que se encuentra formulado en una forma farmacéutica sólida, está influenciada por diversos factores y dichos factores pueden estar relacionados con las características fisicoquímicas del fármaco, excipientes con los cuales se formula la forma farmacéutica y las condiciones en las cuales se realiza la prueba de disolución.

3.2.1.1. Factores de la fórmula que afectan la disolución

La disolución de un fármaco que se encuentra formulado en una farmacéutica sólida depende de las características fisicoquímicas que otorgan los excipientes que componen la fórmula de la tableta, tableta recubierta o cápsula, etc., ya que éstos pueden afectar la capacidad de humectación, desintegración y disgregación de la forma farmacéutica y tener un impacto significativo en el proceso de liberación del fármaco de la forma farmacéutica; es por esto que cambios referentes a la formulación o en el proceso de fabricación pueden ser fácilmente detectados al comparar los perfiles de disolución de un producto con diferente formulación o distinto proceso de producción (Molina, 2017).

Un ejemplo de excipientes que son utilizados que modifican la velocidad de disolución del fármaco son los tensoactivos, agentes humectantes para fármacos hidrófobos, viscosantes (disminuyen la velocidad de disolución en suspensiones), bicarbonato de sodio que modifican el pH del medio de disolución por lo que se

pueden formar sales con el fármaco y con esto aumentar su solubilidad (Robles, 2011).

3.2.1.2. Factores del medio de disolución que afectan la disolución

Una característica importante es conocer la solubilidad del fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida en las condiciones experimentales, es cumplir con condiciones Sink (cuando el volumen del medio de disolución es al menos 3 veces mayor que el volumen requerido para preparar una solución saturada). En la siguiente tabla se resumen algunos de los factores que influyen en la disolución in vitro de fármacos:

Tabla 1. Factores que influyen en la disolución in vitro.

Factor	Descripción
pH del medio de disolución	El pH del medio de disolución se puede modificar en base a las propiedades ácido/base del fármaco, escogiendo el pH en un intervalo que es fisiológicamente relevante para su absorción en condiciones in vivo.
Volumen del medio de disolución	El volumen del medio de disolución debe ser el suficiente para que el fármaco no sature el medio de disolución, es decir debe cumplir condiciones Sink.
Composición del medio de disolución	La disolución del fármaco se ve afectado por la fuerza iónica del medio de disolución, viscosidad, tensión superficial, temperatura, gradiente de concentración.
Hidrodinámica	La agitación del medio de disolución debe favorecer el contacto con la superficie de la forma farmacéutica para tener un proceso eficiente de disolución del fármaco, por lo cual no debe presentar turbulencias.
Tensoactivos	El uso de tensoactivos como son los polisorbatos pueden mejorar la solubilidad del fármaco en el medio de disolución.

Para el etoricoxib se tiene que la concentración de saturación a un pH de 1.2 es de 13 mg/mL y para un pH de 4.5 es de 0.6 mg/mL (Arthur Okumu, 2009).

3.3. Importancia de la disolución

El proceso de absorción de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida, después de la administración oral depende, entre otros aspectos, de la liberación del principio activo del producto y de su disolución o solubilidad en las condiciones fisiológicas. Debido a la evaluación de estos factores, la evaluación de la velocidad de disolución in vitro, puede ser una predicción del comportamiento in vivo, siempre y cuando el paso limitante para la absorción sea la disolución; además, los datos de disolución in vitro son fundamentales para evaluar si se necesitan métodos de biodisponibilidad in vivo cuando se realizan cambios en un producto comercializado con respecto al sitio de producción, proceso de fabricación o formulación (Bente Steffansen, 2010).

3.4. Sistema de clasificación biofarmacéutica

En 1995 Amidon, propuso la clasificación de los fármacos en base a su solubilidad en medios acuosos y en su permeabilidad intestinal, éstas propuestas son aceptadas y adoptadas por la FDA como el sistema de clasificación biofarmacéutica (Daniel J. Phillips, 2012). La clasificación se menciona en la siguiente tabla:

Tabla 2. Sistema de clasificación biofarmacéutica.

Caso	Solubilidad	Permeabilidad
1	Alta	Alta
2	Baja	Alta
3	Alta	Baja
4	Baja	Baja

Actualmente la FDA además de considerar la solubilidad y permeabilidad, también está considerando la disolución como rápida disolución y muy rápida disolución (U.S. Department of Health and Human Services, 2017).

Rápida disolución: Cuando no menos del 85 % de la cantidad marcada de fármaco se ha disuelto a los 30 min, a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, y

valores de pH de 1.2, 4.5 y 6.8 empleando el Aparato I (Canastillas) de la USP a 100 r/min o en el aparato II (paletas) de la USP a 50 r/min (López, 2017).

Muy rápida diolución: Cuando no menos del 85 % de la cantidad marcada del fármaco se ha disuelto a los 15 min , a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, y valores de pH de 1.2, 4.5 y 6.8 empleando el Aparato I (Canastillas) de la USP a 100 r/min o en el aparato II (paletas) de la USP a 50 r/min (López, 2017).

3.5. Prueba de disolución vs Perfil de disolución

El término de disolución se utiliza para todas las formas farmacéuticas de dosificación oral, en formulaciones en las que la liberación del principio activo es de forma rápida (de liberación inmediata o convencional) por otro lado éste término también es utilizado en formas farmacéuticas que tienen un perfil de liberación modificado (formulaciones controladas, retardadas, extendidas, prologadas o de liberación sostenida), (FEUM, 2014).

Las pruebas de disolución se realizan con dos objetivos: 1) apoyar la selección de excipientes realizada durante el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas y 2) realizar un control de calidad durante la producción de productos farmacéuticos (Bente Steffansen, 2010).

En cambio un perfil de disolución considera diversos tiempos de muestreo durante la liberación del principio activo de su forma farmacéutica, lo que permite establecer la velocidad de disolución del fármaco que es liberado de una forma farmacéutica sólida. Un gran número de métodos reportados en la literatura, han demostrado que si una prueba comparativa de los perfiles de disolución entre el medicamento de referencia y del medicamento de prueba, se diseña y se lleva a cabo con un procedimiento establecido, equivalentes farmacéuticos que muestran comportamiento semejante en relación a sus características de velocidad de disolución, probablemente tendrán una biodisponibilidad comparable (FEUM, 2014).

En el caso de los medicamentos con clasificación biofarmacéutica clase II que tienen baja solubilidad y alta permeabilidad, la disolución del fármaco puede ser el paso limitante en el proceso de adsorción del fármaco, además que en condiciones de laboratorio se encuentran dificultades en la selección del medio de disolución con la capacidad de discriminar productos farmacéuticos, porque los medios de disolución generalmente utilizados no pueden disolver fármacos poco solubles completamente; por lo que se propuso el uso de medios que contienen tensoactivos como un método adecuado para solubilizar tales fármacos, debido a que están presentes diversos tensoactivos en el fluido gastrointestinal, por ejemplo, sales biliares, lecitina, colesterol y sus ésteres, y así poder obtener la representación de la velocidad de disolución de la liberación de un fármaco con clasificación biofarmacéutica clase II (Felipe Rebello Lourenço, 2013).

3.6. Aparatos para pruebas de disolución

Existen diversos aparatos para realizar métodos de disolución: aparato 1, aparato 2, aparato 3 y aparato 4; pero los aparatos que se mencionan en la FEUM son el aparato 1 (canastillas) y 2 (paletas).

Aparato 1 (canastilla)

Consta de un baño de agua, o en su caso chaquetas de calentamiento, las cuales rodean a seis unidades de prueba, cada una está constituida por:

- Un vaso cilíndrico con fondo semiesférico, con tapa.
- Un eje transmisor.
- Un regulador de velocidad de rotación.
- Una canastilla.

Los vasos son de vidrio o de algún otro material inerte y transparente. La tapa debe ser ajustada y es para retardar y permitir la inserción de un termómetro. El vaso debe estar firmemente sujetado y sumergido en el baño de agua, el cual debe mantener la temperatura del medio de disolución en el interior del vaso a 37

$^{\circ}\text{C} \pm 0.5 ^{\circ}\text{C}$. El eje transmisor del aparato debe ser de acero inoxidable 316 y debe girar suavemente sin bamboleo, en dicho eje transmisor se encuentra unida la parte superior de la canastilla que también es de acero inoxidable 316; además la canastilla debe ser un cilindro con las siguientes dimensiones 37.0 mm de alto por 22 mm de diámetro con un borde angosto de metal alrededor de la tapa, de 5.1 mm. La distancia entre el fondo del vaso y el fondo de la canastilla debe mantenerse constante a $25 \text{ mm} \pm 2.0 \text{ mm}$ durante la prueba de disolución (ver Figura 1. Aparatos de disolución, Aparato I izquierda y Aparato II derecha).

Aparato 2 (paletas)

Tiene los mismos componentes que el aparato 1, excepto que el lugar de tener el eje de una canastilla, se emplea una pieza que se denomina paleta o propela. La paleta o propela al igual que la canastilla que utiliza el aparato 1, debe cumplir con especificaciones técnicas para poder ser utilizado en un método de disolución; dichas especificaciones son mencionadas en la FEUM y entre las que resaltan son: que las paletas o propelas son una hélice giratoria de 4 mm de espesor y 19 mm de alto en forma de sección de un círculo de radio de 41.5 mm. Al igual que el aparato 1, la distancia entre el fondo del vaso y el fondo de la paleta o propela, debe mantenerse constante a $25 \text{ mm} \pm 2.0 \text{ mm}$ durante la prueba de disolución (ver Figura 1. Aparatos de disolución, Aparato I izquierda y Aparato II derecha).

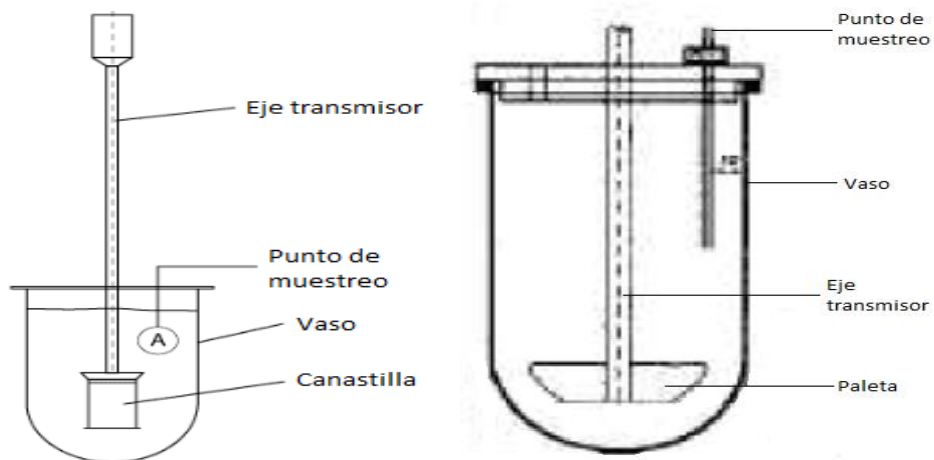
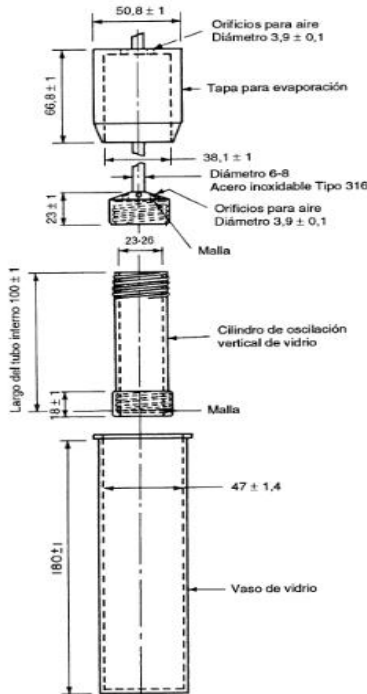


Figura 1. Aparatos de disolución, Aparato I izquierda y Aparato II derecha.

Aparato 3 (Cilindro oscilante)



El equipo se compone de un grupo de vasos cilíndricos de fondo plano, un grupo de cilindros oscilantes de vidrio, accesorios de un material inerte (de acero inoxidable tipo 316 o de otro material adecuado) y mallas de un material adecuado no absorbente ni reactivo, que se fijan a la parte superior e inferior de los cilindros oscilantes; un motor y una transmisión que hacen oscilar los cilindros en sentido vertical dentro de los vasos y, de ser necesario, traslada los cilindros oscilantes en sentido horizontal hacia otra hilera de vasos. Los vasos están parcialmente sumergidos en un baño de agua adecuado de un tamaño conveniente que permita

Figura 2. Aparato de disolución 3 (Cilindro oscilante).

mantener la temperatura a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante la prueba (ver Figura 2. Aparato de disolución 3 (Cilindro oscilante)). El diseño del aparato 3 permite realizar cambios del pH o del medio de disolución, por ejemplo tabletas con recubrimiento entérico o tabletas de liberación sostenida, además de ofrecer la ventaja de imitar condiciones fisiológicas como fuerzas mecánicas experimentadas por la boca o en ciertos lugares del tracto gastrointestinal (Jennifer Dressman, 2005).

Aparato 4 (Celda de flujo)

El equipo se compone de un depósito y una bomba para el medio de disolución, una celda de flujo y un baño de agua que mantiene el medio de disolución a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; la bomba desplaza el medio de disolución a través de la celda de flujo en dirección ascendente. La bomba tiene un intervalo de operación de operación de 240 mL a 960 mL por hora y las velocidades estándares de flujo son de 4 mL, 8 mL y 16 mL por minuto ver Figura 3. Aparato de disolución 4 (Celda de flujo). El diseño del aparato 4 permite el estudio de

fármacos pocos solubles, el método es aplicable a tabletas, tabletas recubiertas, supositorios, cápsulas de gelatina blanda, polvos, gránulos e implantes (Jennifer Dressman, 2005).

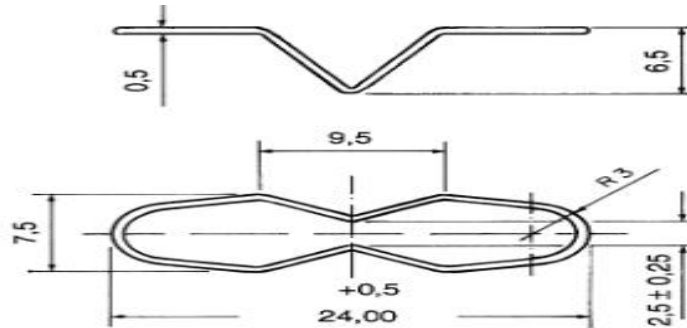


Figura 3. Aparato de disolución 4 (Celda de flujo).

3.7. Comparación de perfiles de disolución

En la FEUM se establecen las características que debe tener un perfil de disolución de un medicamento de referencia y de un medicamento de prueba para que puedan ser comparados y verificar si existe o no, similitud de la velocidad de disolución con la que se disuelve el fármaco de la forma farmacéutica; dichas características se mencionan a continuación.

Para comparar perfiles de disolución se utiliza el factor de similitud (f_2), que es un modelo puntual que proviene de un modelo matemático y permite relacionar a través de una transformación logarítmica la semejanza entre los perfiles de disolución de los medicamentos de referencia y de prueba. Esta aproximación es válida bajo las siguientes consideraciones:

- Los tiempos de muestreo son idénticos para ambos productos.
- Al menos se tienen 3 o 4 tiempos de muestreo. La norma establece 5 tiempos para lograr la mejor caracterización de la curva.
- Los perfiles de disolución se realizan exactamente en las mismas condiciones operacionales.

- El coeficiente de variación del por ciento disuelto no es mayor que el 20 % para el primer punto de muestreo y no es mayor que el 10 % para los tiempos subsecuentes.
- La curva de disolución se evalúa en su parte ascendente y en su meseta.

Si el valor de f_2 calculado es igual o mayor que 50 (entre 50 y 100), los perfiles son similares; es decir, para demostrar la similitud de los perfiles, el valor de f_2 obtenido no es menor que 50. A continuación se muestra la ecuación de factor de similitud f_2 :

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - P_t)^2}} \right]$$

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

3.8. Etoricoxib

Es un fármaco que pertenece a la familia de los antiinflamatorios no esteroides (AINES) y es un inhibidor selectivo de la enzima ciclooxigenasa (COX-2). En la actualidad se utiliza para el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, dolor lumbar crónico, dolor agudo y gota. Al igual que cualquier otro inhibidor selectivo de COX-2, el etoricoxib inhibe selectivamente la isoforma 2 de la enzima ciclooxigenasa (Drugbank, 2017). En estudios clínicos de dosis única y múltiple a dosis terapéuticas (hasta 500 mg), el Etoricoxib no demuestra evidencia de inhibición de la COX-1 (Merck, 2007).

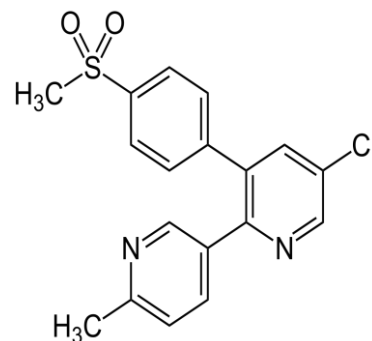


Figura 4. Estructura química del Etoricoxib.

3.8.1. Propiedades fisicoquímicas

- Fórmula química: $C_{18}H_{15}ClN_2O_2S$
- Nombre IUPAC: 5-cloro-6'-metil-3-[4-(metilsulfonil) fenil]-2,3'-bipiridina
- Masa molar: 358.8 g/mL
- Punto de fusión: 134 °C – 137 °C.
- Apariencia: Sólido amarillento.
- pKa: 4.6
- Solubilidad: soluble en compuestos no polares, prácticamente insoluble en agua.
- Clasificación biofarmacéutica: Clase II: Baja solubilidad y alta permeabilidad.

3.8.2. Presentaciones en el mercado

En la actualidad el Etoricoxib se comercializa bajo el nombre distintivo de ARCOXIA como medicamento innovador, en las siguientes presentaciones:

- Tabletas con 30 mg de Etoricoxib.
- Tabletas con 60 mg de Etoricoxib.
- Tabletas con 90 mg de Etoricoxib.
- Tabletas con 120 mg de Etoricoxib.

3.8.3. Mecanismo de acción

Como ya se mencionó anteriormente el etoricoxib es un fármaco que pertenece a la clase de antiinflamatorios no esteroideos por lo que tiene actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética en los modelos en animales. Etoricoxib es un potente inhibidor selectivo de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) dentro del rango de las dosis clínicas y a dosis mayores que éstas, en su forma de dosificación por vía oral. En la actualidad se han identificado dos isoformas de la ciclooxigenasa: la ciclooxigenasa-1 (COX-1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2). La COX-1 interviene en

funciones normales mediadas por prostaglandinas, como la citoprotección gástrica y la agregación plaquetaria. La inhibición de la COX-1 por antiinflamatorios no esteroideos no selectivos, se ha asociado con daño gástrico e inhibición plaquetaria. Por otra parte se ha demostrado que la COX-2 causa principalmente la síntesis de prostanoïdes mediadores del dolor, la inflamación y la fiebre. La inhibición selectiva de la COX-2 por el etoricoxib disminuye esos signos y síntomas, con menor toxicidad gastrointestinal y sin efectos sobre la función plaquetaria (PLM, 2017).

3.8.4. Farmacocinética

3.8.4.1. Absorción

El etoricoxib administrado por vía oral se absorbe bien. El promedio de biodisponibilidad por vía oral es de 100% aproximadamente. Después de administrar a adultos en ayunas 120 mg una vez al día hasta alcanzar el estado de equilibrio, se observó la concentración plasmática máxima (promedio geométrico de $C_{máx} = 3.6 \mu\text{g/mL}$) al cabo de una hora aproximadamente ($T_{máx}$). El promedio geométrico del área bajo la curva ($ABC_{0-24 \text{ h}}$) fue $37.8 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$. La farmacocinética del etoricoxib es lineal en todo el rango de dosis clínicas (PLM, 2017).

3.8.4.2. Distribución

En los seres humanos, aproximadamente 92% del etoricoxib se une a las proteínas plasmáticas dentro del rango de concentraciones de 0.05 a 5 $\mu\text{g/mL}$, y su volumen de distribución en el estado de equilibrio es de 120 L aproximadamente (PLM, 2017).

3.8.4.3. Metabolismo

El etoricoxib es metabolizado extensamente. Se recupera de la orina como medicamento sin modificar menos de 1% de la dosis administrada. La vía

metabólica principal para formar el derivado 6''-hidroximetil es catalizada por las enzimas del citocromo P450. En el hombre se han identificado cinco metabolitos del etoricoxib. El metabolito principal es el derivado 6''-carboxílico formado por la oxidación adicional del derivado 6''-hidroximetílico. Estos metabolitos principales no muestran ninguna actividad cuantificable o son sólo débilmente activos como inhibidores de la COX-2, ninguno de ellos inhibe la COX-1 (PLM, 2017).

3.8.4.4. Eliminación

La eliminación de etoricoxib se produce principalmente a través del metabolismo, con los metabolitos en gran parte excretados por vía renal. La principal vía del metabolismo para etoricoxib implica la 6'-metil hidroxilación de etoricoxib. Esta reacción es catalizada por CYP3A4 (~ 60%), CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP1A2 (Nancy G. B. Agrawal, 2004), sin embargo también puede ser metabolizado por otras vías como ácido carboxílico y metabolitos glucorónicos, que son excretados por orina y heces en una proporción < 1% (Jody K. Takemoto, 2008). Se calcula que la depuración plasmática es de 50 mL/min aproximadamente con un tiempo de vida media de 22 horas (PLM, 2017).

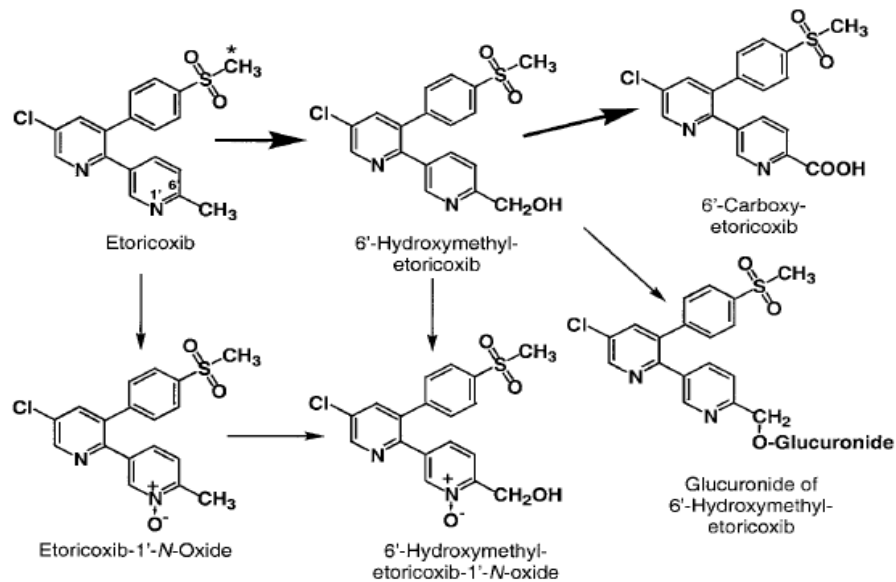


Figura 5. Propuestas de vías metabólicas del Etoricoxib (A. David Rodrigues, 2002).

3.8.5. Indicaciones terapéuticas

El etoricoxib está indicado en:

- Tratamiento agudo y crónico de los signos y síntomas de la osteoartritis y de la artritis reumatoide.
- Tratamiento de la espondilitis anquilosante.
- Tratamiento de la artritis gotosa aguda.
- Alivio del dolor agudo y crónico.
- Tratamiento de la dismenorrea primaria.
- Tratamiento del dolor agudo postquirúrgico de moderado a severo asociado con cirugía dental.

3.8.6. Reacciones adversas

Después de la salida del producto al mercado se han reportado las siguientes reacciones adversas (PLM, 2017):

- Trastornos sanguíneos y linfáticos: Trombocitopenia.
- Trastornos del sistema inmune: Reacciones de hipersensibilidad, incluyendo reacciones anafilácticas/anafilactoides, incluyendo shock.
- Trastornos del metabolismo y nutrición: hipercalcemia.
- Trastornos psiquiátricos: Ansiedad, insomnio, confusión, alucinaciones, depresión, hiperactividad.
- Trastornos del sistema nervioso: Disgeusia, somnolencia.
- Trastornos de los ojos: Visión borrosa.
- Trastornos del sistema cardiaco: Insuficiencia cardiaca congestiva, palpitaciones, angina, arritmia.
- Trastornos vasculares: Crisis hipertensivas.
- Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos: Broncoespasmo.
- Trastornos gastrointestinales: dolor abdominal, úlcera bucal, úlcera péptica incluyendo perforación y sangrado (principalmente en pacientes de edad avanzada), vómito, diarrea.

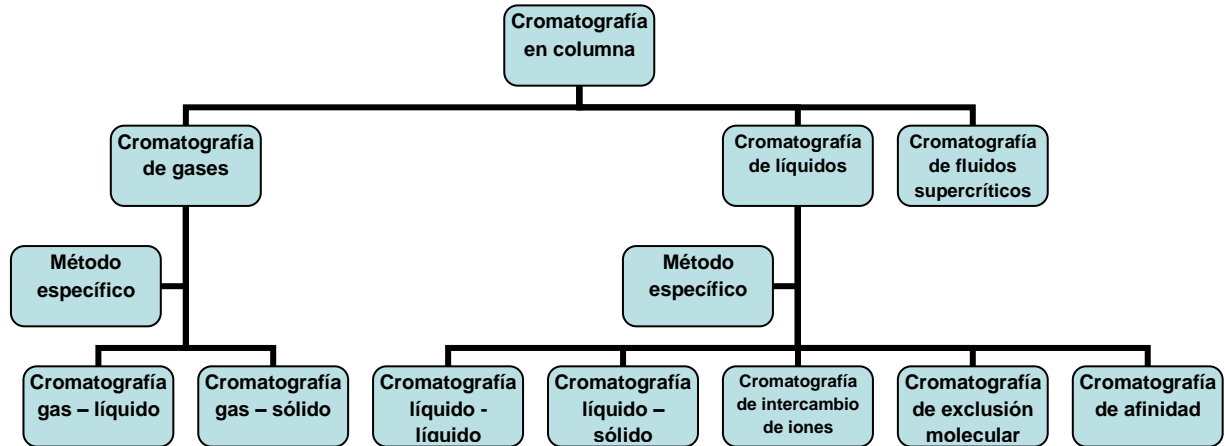
- Trastornos hepatobiliares: Hepatitis, ictericia, falla hepática.
- Trastornos de la piel y tejido subcutáneo: Angioedema, prurito, eritema, erupción, síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica, urticaria erupción relacionada con el medicamento.

3.9. Aspectos generales de la cromatografía

La cromatografía es un potente método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia; corresponde a un método analítico que facilita la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas (Duglas A. Skoog, 2008), el principio de la cromatografía es la extracción, donde el proceso de extracción consiste en que un soluto se reparte entre dos fases y tiene como objetivo separar uno o varios analitos de interés de una mezcla de componentes. En el proceso cromatográfico se hace eluir un soluto a través de dos fases, donde dichas fases tienen los siguientes nombres: fase móvil y fase estacionaria; la primera es un disolvente o gas mientras que la segunda es se encuentra fija dentro de una columna cromatográfica y puede ser de carácter líquido viscoso que se encuentra enlazado químicamente a la superficie interna del tubo capilar o columna cromatográfica (Harris, 2007).

Es posible clasificar los métodos cromatográficos de dos formas, la primera se basa en los medios físicos por medio de la cual, la fase estacionaria y fase móvil se ponen en contacto; la segunda y más fundamental se basa en los tipos de fases móviles y estacionarias, y en la clase de equilibrios involucrados en la transferencia de los solutos entre las fases (Duglas A. Skoog, 2008).

A continuación se muestra un esquema en el cual se resumen los métodos cromatográficos en columna:



3.9.1. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

Los métodos cromatográficos son generalmente muy específicos para el analito o los analitos de interés ya que se logra fácilmente una excelente separación de los componentes individuales de una mezcla problema. Los instrumentos de CLAR son omnipresentes ya que la técnica encuentra aplicación en análisis biotecnológicos, biomédicos, clínicos y farmacéuticos (Swarbrick, 2007). El uso CLAR es utilizado como método de elección en el análisis farmacéutico, desde la síntesis o aislamiento de un fármaco potencial hasta la etapa final de mantenimiento de la información de control de calidad una forma de una forma farmacéutica.

En la CLAR para la separación de componentes individuales, la muestra se introduce en una corriente fluyente de un líquido (fase móvil) y se permite que los analitos pasen a través de una columna de capa de materiales de embalaje de diámetros muy pequeños (área de superficie grande), llamada estacionario fase estacionaria. A medida que las moléculas del analito pasan a través de la columna, son transportados por la fase móvil, hay una interacción constante de las moléculas del analito (o solutos) con las fase estacionaria, así como con la fase móvil. Esto resulta en un equilibrio dinámico heterogéneo. Las diferencias en los procesos de equilibrio de las diferentes moléculas de soluto dan como resultado la separación de los componentes de la mezcla (Swarbrick, 2007); cuando dicha separación se logra manteniendo una composición constante de todos los

constituyentes de la fase móvil, en el proceso, se conoce como elución isocrática, si la composición de la fase móvil se cambia continuamente con respecto a uno o más de los disolventes en la fase móvil, en función del tiempo, se denomina elución en gradiente. Cuando la fase móvil que contienen las moléculas de analito sale de la columna, pasa a través de un detector o una serie de detectores, posteriormente las señales del detector responden en función de la concentración de soluto, estas señales se introducen en los procesadores de datos, que grafican las respuestas de la señal en función del tiempo (ver Figura 6. Esquema del instrumento de CLAR), la visualización gráfica de las señales se denomina cromatograma, estos picos se caracterizan por los siguientes parámetros: ancho del pico, área del pico y altura del pico, la extensión del recorrido y el tiempo de retención de los picos. (Un cromatograma típico se muestra en la Figura 6).

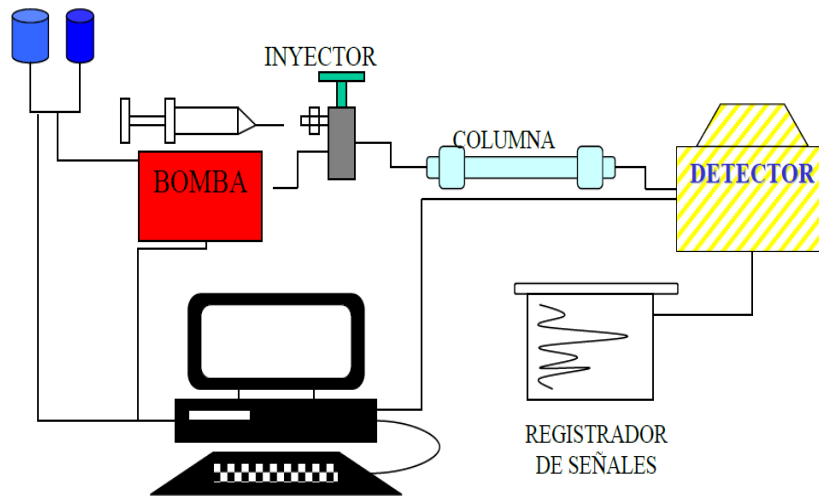


Figura 6. Esquema del instrumento de CLAR (Martinez, 2007).

La CLAR es adecuada para la separación y cuantificación de compuestos no volátiles o termolábiles.

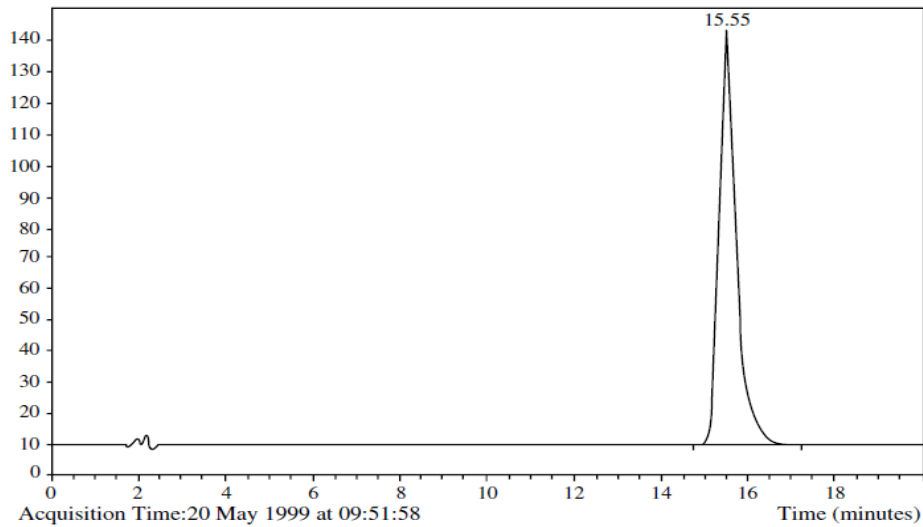


Figura 7. Cromatograma típico (Duglas A. Skoog, 2008).

3.10. Validación de un método analítico

Los métodos analíticos son utilizados para evaluar la calidad de los productos farmacéuticos y están sujetos a varios requisitos de acuerdo a la normativa vigente, así como, con otros documentos normativos nacionales e internacionales. En México la FEUM es el documento legal instituido por la Ley General de Salud donde se establecen los métodos de análisis.

La farmacopea establece que para proponer un método analítico se pueden considerar dos casos:

- Método revisado que pretenda sustituir a un método publicado por la FEUM.
- Método nuevo cuando se trate de un método analítico no publicado por la FEUM.

Aplicando lo descrito en la FEUM, las tabletas de Etoricoxib de 120 mg son un medicamento que no se ha publicado en la FEUM, y por tanto, no cuenta con un método analítico publicado; por lo tanto se debe desarrollar y validar una metodología analítica que satisfaga los requisitos para su aplicación analítica.

3.10.1. Clasificación de los métodos analíticos

Los métodos analíticos para fines de validación se clasifican en cuatro categorías, ya que requieren de diferentes esquemas de estudio, dicha clasificación se resume en la siguiente tabla:

Tabla 3. Clasificación de los métodos analíticos.

Categoría	Descripción
I	Métodos analíticos para cuantificar a un componente específico en muestras de producto terminado o en pruebas de estabilidad, ya sea fármacos, aditivos o preparados farmacéuticos, u otros analitos de interés (conservadores, solventes, etc.).
II	Métodos analíticos para la determinación de impurezas (productos de degradación, sustancias relacionadas, isómeros ópticos, etc.) en muestras de fármacos, preparados farmacéuticos y aditivos. Estos métodos pueden incluir determinaciones cuantitativas o pruebas límite.
III	Métodos analíticos utilizados en la determinación de un Analito en una muestra con el objeto de evaluar una característica de desempeño del preparado farmacéutico (disolución en cápsulas, liberación controlada en tabletas, entre otras).
IV	Pruebas de identificación de un Analito en muestras de fármacos, aditivos o preparados farmacéuticos, cuyo propósito es establecer la presencia del Analito de interés.

3.10.2. Aspectos analíticos a ser validados

El objetivo de los aspectos analíticos del método a ser validado, se deben entender claramente ya que en base a esto se registrará las características a ser validadas (GUIDELINE, 2005), ver la Tabla 4. Aspectos básicos a ser validados en métodos analíticos.

Tabla 4. Aspectos básicos a ser validados en métodos analíticos.

Aspecto Tipo de proceso	Identificación	Pruebas para impurezas		Pruebas: - Disolución - Contenido/potencia
		Cuantificación	Límites	
Exactitud	-	+	-	+
Precisión				
Repetibilidad	-	+	-	+
Precisión intermedia	-	+	-	+
Especificidad	+	+	+	+
Límite de detección	-	-	+	-
Límite de cuantificación	-	+	-	-
Linealidad	-	+	-	+
Rango	-	+	-	+

La NOM-177-SSA1-2013 establece los parámetros y sus respectivos criterios de aceptación que debe cumplir la validación de un método analítico con el propósito de asegurar la cuantificación confiable del fármaco (ver Tabla 5. Aspectos analíticos a ser validados en base a la NOM-177-SSA1-2013).

Tabla 5. Aspectos analíticos a ser validados en base a la NOM-177-SSA1-2013.

Validación	Parámetros
Sistema	Linealidad
	Precisión
	Estabilidad
	Influencia del filtro
Método	Linealidad
	Exactitud
	Precisión
	Repetibilidad
	Reproducibilidad
	Selectividad

En base a la Tabla 3. Clasificación de los métodos analíticos, el método a validar pertenece a la categoría I, ya que es un método desarrollado para cuantificar un fármaco en específico en un producto terminado. A continuación se describe en que consiste cada aspecto a ser validado:

- **Linealidad:** Capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.
- **Precisión:** Concordancia relativa de la respuesta analítica de soluciones de referencia de concentración o magnitud conocida.
- **Estabilidad:** Condiciones de temperatura y tiempo entre otros, en las que el compuesto permanezca estable.
- **Influencia del filtro:** Se verifica que no exista adherencia del fármaco al filtro.
- **Exactitud:** Es la concordancia absoluta entre el resultado obtenido con el método y la cantidad verdadera del analito presente en la muestra, en una cantidad fija.
- **Repetibilidad:** Variación de los resultados de las muestras, al aplicar el método en una corrida analítica.
- **Reproducibilidad:** Variación dentro de un mismo laboratorio, cuando el método analítico se aplica en diferentes días y con diferentes analistas.
- **Selectividad:** Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente el analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

3.11. Desarrollo de métodos por diseño factorial

Muchos experimentos implican el estudio de los efectos de dos o más factores, por lo que los diseños factoriales son los más eficientes para realizar éste tipo de experimentos.

Un diseño de experimentos factorial implica que en cada prueba completa o réplica del experimento se investigan todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores, por ejemplo, si se está evaluando dos factores: factor A y factor B, y existen a niveles del factor A y b niveles del factor B, cada replica evalúa todas las combinaciones ab existentes; cuando los factores se organizan en un diseño de experimentos factorial la probabilidad de que se crucen es alta y

por lo tanto es posible predecir el valor del factor A y el valor del factor B para obtener una respuesta deseada (Montgomery, 2001).

Por otra parte el efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producida por el cambio en el nivel del factor. Los diseños de experimentos factoriales permiten obtener modelos matemáticos de la forma:

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{12}x_1x_2 + \epsilon$$

Donde y es la respuesta, las β son cuyo valor son determinados a través de los resultados experimentales, x_1 es una variable que representa el factor A, x_2 es una variable que representa el factor B y ϵ que es el error determinado al azar. Las variables x_1 y x_2 son los valores codificados de -1 a +1 (nivel bajo y nivel alto evaluado) y x_1x_2 representa la interacción entre las variables x_1 y x_2 .

En la siguiente figura 6. Gráfico de contornos, se muestran dos gráficos donde se observa que al graficar el modelo matemático de los niveles B^- y B^+ en base al efecto del factor A, se demuestra si hay intersección o no al variar el nivel del factor A, es importante verificar la interacción entre factores porque implica que la respuesta puede ser evaluada de manera cuantitativa (Montgomery, 2001).

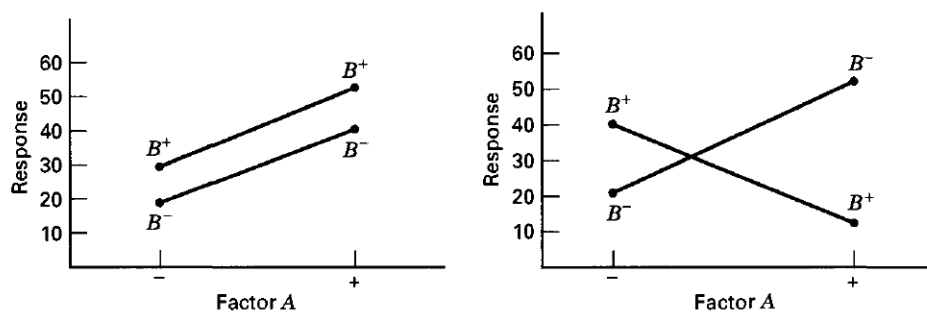


Figura 8. Gráfico de contornos (Montgomery, 2001).

Cuando los diseños factoriales se utilizan para evaluar una respuesta cuantitativa es posible realizar gráficos de respuesta para conocer los valores de la variable x_1

del factor A y variable x_2 del factor B para obtener el valor de la respuesta deseada (ver Figura 9. Gráfico de respuesta).

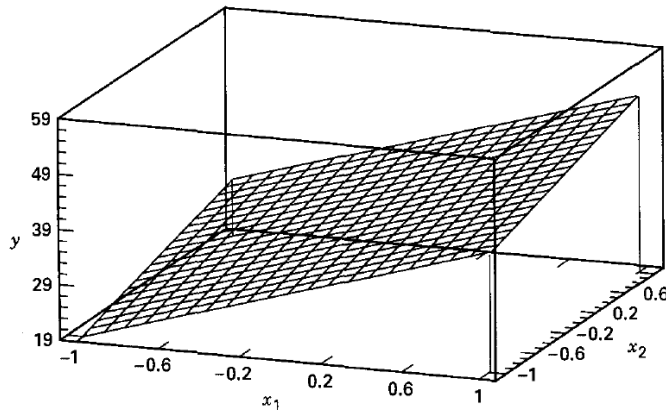


Figura 9. Gráfico de respuesta (Montgomery, 2001).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Equipos e instrumentos

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Hewett Packard Model 1050.
- Sonificador Cole-Parmer 8894.
- Potenciómetro Hanna HI221.
- Balanza Analítica Denver Instruments.
- Disolutor LABINDIA DS 8000.

4.2. Reactivos

- Ácido clorhídrico concentrado (J.T. Baker).
- Fosfato monobásico de sodio (J.T. Baker).
- NaOH Pellets (J.T. Baker).
- Acetonitrilo grado HPLC (J.T. Baker).
- Agua HPLC (Milli – Q).
- Agua desionizada.
- Ácido fosfórico 85% (J.T. Baker).
- Tabletas Arcoxia de 120 mg.

4.3. Estándares de referencia

- Estándar de cafeína 99.99 % de pureza.
- Estándar de Etoricoxib 100.0 % de pureza.

4.4. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE DISOLUCIÓN

4.4.1. Muestra

Se colectaron muestras de un lote en el mercado del medicamento innovador ARCOXIA con las siguientes características:

- Número de lote: N013197
- Principio activo: Etoricoxib.
- Contenido: 120 mg.

4.4.1.1. Control de Calidad

Se realizaron las siguientes pruebas de control de calidad requeridas por la NOM-177-SSA1-2013, para verificar la variabilidad de lote:

- Uniformidad de contenido (por variación de masa) de acuerdo con el MGA 0299. UNIFORMIDAD DE DOSIS de la FEUM 11va Edición.
- Valoración de acuerdo con el MGA 0299. UNIFORMIDAD DE DOSIS de la FEUM 11va Edición.

Nota: Las tabletas de etoricoxib se pesan individualmente, posteriormente se colocan en un mortero y se muelen con un pistilo hasta obtener un polvo fino homogéneo el cual es colocado en un recipiente adecuado, para posteriormente tomar cantidades equivalentes de etoricoxib.

4.4.1.1.1. Valoración

Se pesa una cantidad equivalente de medicamento innovador a 120 mg de Etoricoxib, de igual manera se pesa 0.1200 mg de estándar de referencia de Etoricoxib. Cada masa pesada se coloca en un matraz volumétrico de 100.0 mL, se disuelve en medio de disolución y se sonica durante 15 min. Se filtra por una membrana de 0.45 μm los excipientes de la solución del medicamento de referencia y cada matraz es llevado a volumen con medio de disolución. Se toma de cada matraz una alícuota de 5.0 mL y se coloca en un matraz volumétrico de 50.0 mL y son llevados a volumen con medio de disolución para tener una concentración final de 120 $\mu\text{g/mL}$ de Etoricoxib.

Se coloca una alícuota de 1.5 mL de solución de Etoricoxib obtenido del estándar en un vial para cromatógrafo y otra alícuota de 1.5 mL de solución de Etoricoxib obtenida del medicamento de referencia en un vial para cromatógrafo. Las alícuotas son analizadas en el cromatógrafo.

Cálculos de la valoración

Calcular el contenido en una tableta, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Contenido} = \frac{\text{Área medicamento}}{\text{Área estándar}} * \frac{\text{Masa del estándar} * 5 \text{ mL}}{50 \text{ mL} * 100 \text{ mL}} * \frac{100 \text{ mL} * 50 \text{ mL}}{\text{Peso promedio 1 tableta} * 5 \text{ mL}} * \frac{\text{Peso promedio 1 tab}}{0.1200 \text{ g marbete}} * 100 \%$$

4.4.1.1.2. Uniformidad de dosis

Para determinar la uniformidad de dosis, seleccionar 10 tabletas de Etoricoxib y pesarlas individualmente. A partir de los datos de valoración se calcula el contenido de Etoricoxib que contiene cada tableta expresado en porcentaje.

Cálculos de uniformidad de dosis por variación de masa

Se calcula el valor de aceptación, utilizando la siguiente ecuación:

$$X_i = m_1 A / m_{\text{promedio}}$$

Donde:

X_i: x₁, x₂...x_n = contenido estimado individualmente de la unidad analizada.

m₁...m_n = Masas individuales de las unidades analizadas.

A = Contenido de principio activo (porcentaje de la cantidad declarada) determinado como se describe en la valoración.

m_{promedio} = masa promedio de las masas individuales.

Valor de aceptación (VA)

Caso 1, Aplicar cuando T ≤ 101.5 %.

Si $98.5 \% \leq X \leq 101.5 \%$, entonces $VA = ks$
Si $X < 98.5 \%$, entonces $VA = 98.5 - X + ks$
Si $X > 101.5 \%$, entonces $VA = X - 101.5 + ks$

Caso 2, Aplicar cuando $T > 101.5 \%$.

Si $98.5 \% \leq X \leq 100.0 \%$, entonces $VA = ks$
Si $X < 98.5 \%$, entonces $VA = 98.5 - X + ks$
Si $X > 100.0 \%$, entonces $VA = X - T + ks$

Donde:

$k = 2.4$ ($n = 10$).

s = Desviación estándar de la muestra.

$M = X$ = Promedio de la muestra.

T = Valor deseado (100.0 %).

En la siguiente tabla se establece el criterio de aceptación:

Tabla 6. Criterio de aceptación para uniformidad de dosis.

Parámetro	Criterio de aceptación
Máximo valor de aceptación permitido en porcentaje	$VA \leq 15.0$

4.4.2. Medición de la muestra

La medición de la muestra se realiza mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución acoplado a un detector UV-VIS, donde la respuesta directa son áreas de los picos cromatográficos, simetría del pico cromatográfico, tiempo de retención de la muestra y la respuesta indirecta son concentraciones.

4.4.2.1. Longitud de onda

Se realiza un barrido de 400 nm – 200 nm de muestra de Etoricoxib y se verifica que se obtenga el espectro de absorción del fármaco en el pico cromatográfico obtenido y obtener la longitud de onda de máxima absorción del Etoricoxib (ver

Tabla 7. Selección de longitud de onda del Etoricoxib). Se realizan 3 inyecciones utilizando las siguientes condiciones cromatográficas reportadas en la literatura, que son:

- Fase móvil: Acetonitrilo:Agua 60:40 (v/v).
- Longitud de onda: 245 nm.
- Longitud de la columna: 5 cm.
- Volumen de inyección: 20 µL.
- Velocidad de flujo: 1.0 mL/min.

Tabla 7. Selección de la longitud de onda del Etoricoxib.

Parámetro	Criterio de aceptación
Espectro de absorción del Etoricoxib	Selección de longitud de onda de máxima absorción del Etoricoxib.

4.4.2.2. Condiciones cromatográficas de la medición de la muestra

Hipótesis: Realizando un diseño de experimentos factorial es posible escoger las condiciones cromatográficas de pH de la fase móvil, velocidad de flujo, polaridad de la fase móvil, longitud de columna y volumen de inyección para obtener un tiempo de retención de la muestra menor a 7 minutos y con una simetría menor a 1.2.

Las condiciones cromatográficas se desarrollaron mediante un diseño experimental factorial de 5 factores y dos niveles (nivel alto y nivel bajo), donde se evalúa:

- Longitud de la columna cromatográfica.
- Polaridad de la fase móvil.
- pH de la fase móvil.
- Velocidad de flujo.
- Volumen de inyección.

El diseño factorial evalúa el tiempo de retención y la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib (ver Tabla 8. Diseño de experimentos factorial para la medición de la muestra).

Tabla 8. Diseño de experimentos factorial para medición de la muestra.

Nivel	Factores				
	pH de F.M.	Velocidad de flujo (mL/min)	Polaridad de F.M.	Longitud de columna (cm)	Volumen de inyección (µL)
-1	3.00	0.6	7.1	15	5
+1	7.00	1.5	8.5	25	20

El diseño factorial es aleatorio, por lo tanto se evaluarán un número de corridas 2^k donde k es el número de factores, por lo tanto $2^5 = 32$ corridas; en la siguiente tabla se muestra cómo se realizaran las corridas:

Tabla 9. Corridas para determinar condiciones cromatográficas de la medición de la muestra.

Corrida	Condición de inyección				
	pH de F.M.	Polaridad de F.M.	Volumen de inyección (µL)	Longitud de columna (cm)	Velocidad de flujo (mL/min)
1	7.0	7.1	20.0	15	0.6
2	3.0	7.1	20.0	25	0.6
3	3.0	7.1	5.0	15	0.6
4	3.0	7.1	5.0	25	0.6
5	7.0	7.1	20.0	15	1.5
6	7.0	8.5	5.0	25	0.6
7	7.0	7.1	5.0	25	0.6
8	3.0	8.5	5.0	25	1.5
9	3.0	8.5	20.0	25	0.6
10	3.0	8.5	20.0	25	1.5
11	7.0	8.5	20.0	25	1.5
12	7.0	8.5	20.0	15	1.5
13	3.0	7.1	20.0	25	1.5
14	7.0	8.5	5.0	15	0.6

Corrida	Condición de inyección				
	pH de F.M.	Polaridad de F.M.	Volumen de inyección (µL)	Longitud de columna (cm)	Velocidad de flujo (mL/min)
15	3.0	7.1	5.0	15	1.5
16	7.0	7.1	5.0	15	1.5
17	3.0	8.5	5.0	15	1.5
18	3.0	7.1	5.0	25	1.5
19	3.0	8.5	5.0	15	0.6
20	7.0	8.5	5.0	15	1.5
21	7.0	7.1	5.0	15	0.6
22	7.0	7.1	5.0	25	1.5
23	3.0	8.5	20.0	15	0.6
24	3.0	8.5	5.0	25	0.6
25	7.0	8.5	5.0	25	1.5
26	7.0	7.1	20.0	25	0.6
27	7.0	8.5	20.0	25	0.6
28	3.0	7.1	20.0	15	0.6
29	7.0	7.1	20.0	25	1.5
30	3.0	7.1	20.0	15	1.5
31	3.0	8.5	20.0	15	1.5
32	7.0	8.5	20.0	15	0.6

A continuación se describen factores a considerar previo a la ejecución del diseño de experimentos factorial:

4.4.2.2.1. Longitud de la Columna Cromatográfica

La columna de 15 cm y la de 20 cm debe ser dedicada para el desarrollo del diseño experimental (ver Tabla 8. Diseño de experimentos factorial para medición de la muestra).

4.4.2.2.2. Polaridad de la Fase Móvil

La polaridad de la fase móvil se modifica de acuerdo con la proporción de Agua y Acetonitrilo, para tener una polaridad de 7.1 se le indica al cromatógrafo tomar una

proporción de 30% de Agua y 70% de Acetonitrilo, para tener una polaridad de 8.5 se indicó que el cromatógrafo tomara una proporción de 61 % de Agua y 39 % de Acetonitrilo.

En el Anexo E, se explica cómo se calcula la proporción de disolventes para obtener la polaridad requerida para las corridas experimentales.

4.4.2.2.3. pH de la Fase Móvil

Se prepara una fase móvil de solución amortiguadora de fosfatos 50 mM a pH 3.00 y otra fase móvil de Agua grado HPLC para evaluar a pH 7 (ver Anexo A. Preparación de soluciones).

4.4.2.2.4. Velocidad de Flujo

La velocidad de flujo se programa en el cromatógrafo según las condiciones requeridas.

4.4.2.2.5. Volumen de Inyección

El volumen de inyección se programa en el cromatógrafo según las condiciones solicitadas.

4.4.3. Tratamiento de la muestra del método de disolución (condiciones de disolución)

Hipótesis: Realizando un diseño de experimentos factorial es posible establecer el efecto de los factores: pH del medio de disolución, velocidad de agitación y tiempo de muestreo, sobre la respuesta indirecta de concentración de cada punto de muestreo para obtener un perfil de disolución bien definido en su parte de ascenso como en la meseta.

El diseño de experimentos factorial, consta de tres factores: pH del medio de disolución, velocidad de agitación y tiempo de muestreo, (ver Tabla 10. Diseño factorial para tabletas de Etoricoxib de 120 mg).

Tabla 10. Diseño factorial para tabletas de Etoricoxib de 120 mg.

Nivel	pH del Medio de Disolución	Velocidad de Agitación	Tiempo de Muestreo
-1	1.2	75 r/min	5, 15, 30, 45 y 60 minutos
+1	4.5	100 r/min	10, 20, 30, 45 y 60 minutos

El diseño factorial es aleatorio, por lo tanto se evaluarán un número de corridas 2^k donde k es el número de factores, por lo tanto $2^3 = 8$ experimentos y una réplica; en la siguiente tabla se muestra cómo se realizaran los experimentos:

Tabla 11. Condiciones experimentales para determinar las condiciones de disolución.

Experimento	pH del Medio de Disolución	Velocidad de Agitación	Tiempo de Muestreo
1	1.2	100 r/min	10, 20, 30, 45 y 60 min
2	1.2	100 r/min	5, 15, 30, 45 y 60 min
3	4.5	100 r/min	5, 15, 30, 45 y 60 min
4	4.5	100 r/min	10, 20, 30, 45 y 60 min
5	1.2	75 r/min	10, 20, 30, 45 y 60 min
6	4.5	75 r/min	10, 20, 30, 45 y 60 min
7	1.2	75 r/min	5, 15, 30, 45 y 60 min
8	4.5	75 r/min	5, 15, 30, 45 y 60 min

Los siguientes factores se mantendrán en sus niveles nominales:

4.4.3.1. Aparato de disolución

Aparato de disolución Tipo II de paletas.

4.4.3.2. Temperatura

La temperatura se mantiene constante en un rango de $37\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$.

4.4.3.3. Volumen del medio de disolución

El volumen de disolución se mantiene constante en 900.0 mL, el medio de disolución mantiene las condiciones Sink al pH evaluado.

Para el etoricoxib se tiene que la concentración de saturación a un pH de 1.2 es de 13 mg/mL y para un pH de 4.5 es de 0.6 mg/mL (Arthur Okumu, 2009).

Por lo que al calcular las condiciones Sink a pH 1.2 se obtiene:

- 1) Calculando la concentración que tiene 120 mg de Etoricoxib en 900 mL de Medio de disolución.

$$\frac{120 \text{ mg}}{900 \text{ mL}} = 0.1333 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

- 2) Considerando la concentración de saturación a pH 1.2:

$$\frac{C_s}{C_m} = \frac{13.21 \text{ mg/mL}}{0.1333 \text{ mg/mL}} = 99.0997$$

Por lo que la concentración del etoricoxib en el medio de disolución es al menos 3 veces la concentración de saturación por lo que cumple con condiciones Sink a pH 1.2.

Por lo que al calcular las condiciones Sink a pH 4.5 se obtiene:

- 1) Considerando la concentración de saturación a pH 4.5:

$$\frac{C_s}{C_m} = \frac{0.6 \text{ mg/mL}}{0.1333 \text{ mg/mL}} = 4.5011$$

Redondeando el resultado el medio de disolución ofrece condiciones de al menos 5 veces la concentración de saturación del etoricoxib por lo que cumple con condiciones Sink a pH 4.5.

4.4.4. Validación del método analítico

La validación del método analítico se realiza en base a la NOM-177-SSA1-2013 que establece los parámetros y criterios de aceptación que se deben cumplir para validar métodos de disolución cuando no se cuenta con un método farmacopeico. La validación del método de disolución se realiza en términos de validación del sistema y validación del método.

Se utilizan las condiciones obtenidas de acuerdo a la variable de respuesta de los diseños experimentales

Se utiliza el medio de disolución que cumpla con las condiciones previamente establecidas del numeral 4.4.3.4. Medio de disolución.

4.4.4.1. Validación del Sistema

4.4.4.1.1. Adecuabilidad del Sistema

Se verifica que el sistema se encuentra estable, antes de realizar las mediciones correspondientes y para ello se realizan 6 inyecciones en el cromatógrafo del nivel 3 de la curva de calibración. Se considera que el sistema es adecuado cuando cumple con el criterio de aceptación (ver Tabla 9. Criterio de aceptación para adecuabilidad del sistema).

Tabla 12. Criterio de aceptación para adecuabilidad del sistema.

Parámetro	Criterio de aceptación
Área de las 6 inyecciones	CV % ≤ 2.0 %

4.4.4.1.2. Linealidad del Sistema

Se prepara por triplicado una curva de calibración utilizando estándar de referencia de Etoricoxib, como medio de disolución se utiliza solución amortiguadora de fosfatos 50 mM a pH 3.00.

Preparación de la curva de calibración

Se prepara por triplicado una solución stock de Etoricoxib de 300 µg/mL (ver Anexo B. Preparación de soluciones) se toman las alícuotas correspondientes (ver Tabla 13. Preparación de curva de calibración) para obtener las concentraciones indicadas; se lleva a volumen cada matraz con medio de disolución.

Tabla 13. Preparación de curva de calibración.

Nivel	Stock de Etoricoxib	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración (µg/mL)
1	300 µg/mL.	0.5	25	6
2		3.0	20	45
3		6.0	20	90
4		10.0	25	120
5		10.0	20	150

Cálculos para linealidad del sistema

Con los resultados de área obtenidos, se calcula el coeficiente de correlación lineal (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b) para cada curva de calibración por el método de mínimos cuadrados y posteriormente se calcula el porcentaje de error relativo debido a regresión utilizando la siguiente ecuación:

$$\% S_{y/x} = \frac{\left[\frac{\sum y^2 - (m * \sum xy) - (b * \sum y)^2}{N - 2} \right]^{1/2}}{y_{\text{promedio}}} * 100 \%$$

Donde:

$\% S_{y/x}$: Porcentaje de error relativo debido a la regresión.

$\sum y^2$: Sumatoria de áreas al cuadrado.

$\sum xy$: Sumatoria del producto del área por la concentración.

N: Niveles de la curva de calibración.

y_{promedio} : Área promedio.

En la siguiente tabla se muestran los criterios de aceptación para linealidad del sistema:

Tabla 14. Criterios de aceptación para la linealidad del sistema.

Parámetro	Criterio de aceptación
$\% S_{y/x}$	$\% S_{y/x} \leq 2.0 \%$
r	$r \geq 0.99$

4.4.4.1.3. Precisión del Sistema

Calcular el Factor de Respuesta utilizando los datos de las tres curvas de calibración realizadas en prueba del numeral 4.1.4.1.2. Linealidad del Sistema, utilizando la siguiente ecuación:

$$Fr = \frac{\text{Área}}{\text{Concentración}}$$

Donde:

Fr: Factor respuesta.

Área: Área del pico cromatográfico.

Concentración: Concentración obtenida

Se debe calcular el coeficiente correlación lineal, para los factores de respuesta y deben cumplir con el criterio de aceptación que se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 15. Criterios de aceptación para la precisión del sistema.

Parámetro	Criterio de aceptación
Coeficiente de variación	$CV \% \leq 2.0 \%$

4.4.4.1.4. Estabilidad de la muestra

Se evaluaron diferentes factores:

- Temperatura ambiente sin protección a la luz.
- Temperatura de refrigeración sin protección de la luz.

Para ello se prepararon dos soluciones de Etoricoxib de 12 µg/mL y 146 µg/mL respectivamente. Se coloca una alícuota de 5 mL de cada solución en tubos de ensayo rotulados de la siguiente manera:

- Tubo A: Temperatura ambiente sin protección a la luz.
- Tubo B: Temperatura de refrigeración sin protección a la luz.

Se evalúan 1.5 mL de muestra de cada tubo durante tres días para verificar la estabilidad de la muestra. La curva de calibración utilizada para el día 0 es la misma con la que se deben extrapolar las áreas resultantes de los días posteriores.

Cálculos para estabilidad de la muestra

Se calcula el porcentaje de diferencia absoluta de la concentración inicial del día 0 y la concentración final del día 1, 2 y 3; como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\% D_{abs} = \left| \frac{C_i - C_f}{C_i} \right| * 100 \%$$

Donde:

% Dabs: Porcentaje de diferencia absoluta.

Ci: Concentración inicial del día cero

Cf: Concentración del día 1, 2 o 3.

Tabla 16. Criterio de aceptación para la estabilidad de la muestra.

Parámetro	Criterio de aceptación
Porcentaje de diferencia absoluta	$\% D_{abs} \leq 3.0 \%$

4.4.4.1.5. Influencia del Filtro

Se prepara una solución de Etoricoxib de concentración baja y otra de concentración alta. Tomar 6 alícuotas de 5 mL de cada concentración, como se describe a continuación: 1) Utilizando un filtro de teflón y 2) sin utilizar un filtro de teflón.

Cálculos para influencia del filtro

Se calcula el % Retenido para cada concentración obtenida utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Retenido} = \left| \frac{\% \text{ ETO sin filtrar} - \% \text{ ETO filtrado}}{\% \text{ ETO sin filtrar}} \right| * 100 \%$$

Donde:

% ETO sin filtrar: Porcentaje de Etoricoxib sin utilizar filtro.

% ETO filtrado: Porcentaje de Etoricoxib utilizando filtro.

Verificar si se cumple con el criterio de aceptación (ver Tabla 17. Criterio de aceptación para influencia del filtro.

Tabla 17. Criterio de aceptación para influencia del filtro.

Parámetro	Criterio de aceptación
% Retenido para concentración alta y concentración baja	$\% \text{ Retenido} \leq 2.0 \%$

4.4.4.2. Validación del Método

4.4.4.2.1. Linealidad método

Se prepara por triplicado una solución stock de 300 µg/mL utilizando el medicamento de referencia (ver Anexo B. Preparación de soluciones).

Preparación de la curva de calibración

A partir de la solución stock de Etoricoxib de 300 µg/mL se toman las alícuotas correspondientes (ver Tabla 18. Preparación de curva de calibración) para obtener las concentraciones indicadas; se lleva a volumen cada matraz con medio de disolución.

Tabla 18. Preparación de curva de calibración.

Nivel	Stock de Etoricoxib	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración (µg/mL)
1	300 µg/mL.	0.5	25	6
2		3.0	20	45
3		6.0	20	90
4		10.0	25	120
5		10.0	20	150

Cálculos para linealidad del método

Con los resultados de área obtenidos, se calcula el coeficiente de correlación lineal (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b) para cada curva de calibración por el método de mínimos cuadrados y posteriormente se calcula el porcentaje de error relativo debido a regresión utilizando la siguiente ecuación:

$$\% S_{y/x} = \frac{\left[\frac{\sum y^2 - (m * \sum xy) - (b * \sum y)}{N - 2} \right]^{1/2}}{y_{promedio}} * 100 \%$$

Donde:

$\% S_{y/x}$: Porcentaje de error relativo debido a la regresión.

$\sum y^2$: Sumatoria de áreas al cuadrado.

$\sum xy$: Sumatoria del producto del área por la concentración.

N: Niveles de la curva de calibración.

$y_{promedio}$: Área promedio.

En la siguiente tabla se muestran los criterios de aceptación para linealidad del sistema:

Tabla 19. Criterios de aceptación para la linealidad del método.

Parámetro	Criterio de aceptación
$\% S_{y/x}$	$\% S_{y/x} \leq 2.0 \%$
r	$r \geq 0.99$

4.4.4.2.2. Exactitud del método

Con los datos de linealidad del numeral 4.4.4.2.1. Linealidad del método, calcular el porcentaje de fármaco recuperado en cada punto de la curva de calibración.

Cálculos para exactitud del método

Con la siguiente ecuación calcular el % Recuperado para cada punto en las tres curvas de calibración:

$$\% \text{ Recuperado} = \left| \frac{C_{\text{nominal}} - C_{\text{extrapolada}}}{C_{\text{nominal}}} \right| * 100 \%$$

Donde:

C_{nominal}: Concentración nominal de la curva de calibración.

C_{extrapolada}: Concentración obtenida en el mismo nivel de la C_{nominal}.

Calcular el coeficiente de variación para el % Recuperado y verificar si se cumple el criterio de aceptación para la exactitud del método (ver Tabla 20. Criterio de aceptación para la exactitud del método.

Tabla 20. Criterio de aceptación para la exactitud del método.

Parámetro	Criterio de aceptación
% Recuperado	97 % - 103 %

4.4.4.2.3. Precisión del método

La precisión del método se evalúa en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

4.4.4.2.3.1. Repetibilidad

Con los datos de % Recuperado de las tres curvas de calibración del numeral 4.4.4.2.2. Exactitud del método, se calcula el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Verificar si se cumple el criterio de aceptación para la repetibilidad del método (ver Tabla 21. Criterio de aceptación para la repetibilidad del método).

Tabla 21. Criterio de aceptación para la repetibilidad del método.

Parámetro	Criterio de aceptación
Coeficiente de variación para % Recuperado	$CV \% \leq 3.0 \%$

4.4.4.2.3.2. Repetibilidad

Se preparan dos curvas de calibración por triplicado utilizando el medicamento de referencia en dos diferentes días. Para cada curva de calibración se calcula el % Recuperado.

Cálculos para reproducibilidad del método

Con la siguiente ecuación calcular el % Recuperado para cada punto de las curvas de calibración:

$$\% \text{ Recuperado} = \left| \frac{C_{\text{nominal}} - C_{\text{extrapolada}}}{C_{\text{nominal}}} \right| * 100 \%$$

Donde:

C_{nominal}: Concentración nominal de la curva de calibración.

C_{extrapolada}: Concentración obtenida en el mismo nivel de la C_{nominal}.

Verificar si se cumple con el criterio de aceptación, calcular el coeficiente de variación del % Recuperado de las curvas de calibración de los dos días (ver Tabla 22. Criterio de aceptación para la reproducibilidad del método).

Tabla 22. Criterio de aceptación para la reproducibilidad del método.

Parámetro	Criterio de aceptación
Coficiente de variación para del % Recuperado de las curvas de calibración	CV % ≤ 3.0 %

4.4.4.2.4. Selectividad / Especificidad del método

Verificar que el método es selectivo y específico para el Etoricoxib, utilizando como evidencia la pureza de los picos cromatográfica del Etoricoxib, utilizando el software del detector de arreglo de diodos del instrumento (ver Tabla 23. Criterio de aceptación para la selectividad del método).

Tabla 23. Criterio de aceptación para la selectividad del método.

Parámetro	Criterio de aceptación
Pico cromatográfico	Los picos cromatográfico debe ser puro

5. Aplicación del método de disolución al producto innovador

5.1.1. Perfil de disolución

Se realiza un perfil de disolución utilizando las condiciones desarrolladas, se verifica que el perfil cumpla con los criterios establecidos en la NOM-177-SSA1-2013.

En la siguiente tabla se muestran los criterios de aceptación:

Tabla 24. Criterio de aceptación para el perfil de disolución.

Parámetro	Criterio de aceptación
Primer tiempo de muestreo	$CV \% \leq 20 \%$
Tiempos de muestreo subsecuentes	$CV \% \leq 10 \%$
Perfil de disolución	4 puntos en la fase ascendente y 1 en la meseta

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Control de Calidad

El control de calidad se realizó al medicamento innovador en base a lo establecido en la FEUM 11va edición para valoración y uniformidad de dosis por variación de masa.

6.1.1. Valoración

Se calculó el peso promedio de 10 tabletas de 120 mg de etoricoxib, posteriormente se procedió a preparar las soluciones de 120 µg/mL de Etoricoxib de acuerdo al procedimiento descrito en el numeral 4.4.1.1.1. Valoración y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 25. Resultados de la valoración.

Peso promedio de una tableta de Etoricoxib	0.4176 g/tableta
Área obtenida del estándar	4187.7119
Área obtenida del medicamento de referencia	4354.9155
% Contenido en 1 tableta	105 %

Se demostró que las tabletas evaluadas, tienen un contenido de Etoricoxib por tableta de 105 % por lo que el medicamento innovador cumple con un criterio de aceptación de 90.0% - 110.0% establecido en la FEUM 11va edición, sin embargo el dato es informativo, ya que actualmente en la FEUM 11va edición, no existe una monografía para tabletas de Etoricoxib de 120 mg.

6.1.2. Uniformidad de dosis

La uniformidad de dosis se realizó por variación de masa ya que la FEUM 11va edición se especifica, que éste método se utiliza cuando el principio activo de la forma farmacéutica sólida es ≥ 25 % del peso de la forma farmacéutica; en el caso

de las tabletas de 120 mg de Etoricoxib el principio activo representa el 29 % del peso total de la tableta.

Utilizando el resultado el % contenido de etoricoxib en 1 tableta (ver Tabla 25. Resultados de la valoración), se calculó el contenido de etoricoxib de las 10 tabletas pesadas, continuación se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 26. Resultados de uniformidad de dosis por variación de masa.

Tableta	Peso (g)	% Contenido de Etoricoxib
1	0.4166	104.7
2	0.4187	105.2
3	0.4148	104.3
4	0.4161	104.6
5	0.4145	104.2
6	0.4138	104.0
7	0.4294	107.9
8	0.4159	104.5
9	0.4111	103.3
10	0.4178	105.0
Promedio	0.4169	104.8
s		1.2
k (n = 10)		2.4
VA		7.7

Al tener en promedio un contenido de 104.8 % de etoricoxib por tableta (ver Tabla 26. Resultados de uniformidad de dosis por variación de masa) se calculó el valor de aceptación utilizando el caso 2 cuando: $T > 101.5 \%$; se obtuvo que el valor de aceptación $VA = 7.7$, al ser el valor $VA \leq 15.0$, se acepta el valor aceptado de contenido de etoricoxib.

6.2. Medición de la muestra

6.2.1. Longitud de onda

Se obtuvo el espectro de absorción del Etoricoxib, en un barrido de 400 nm – 200 nm, donde se encontraron dos regiones en las que el fármaco presenta dos

máximos de absorción: 237 nm y 283 nm, siendo la longitud de 237 nm la longitud de onda seleccionada para realizar el estudio.

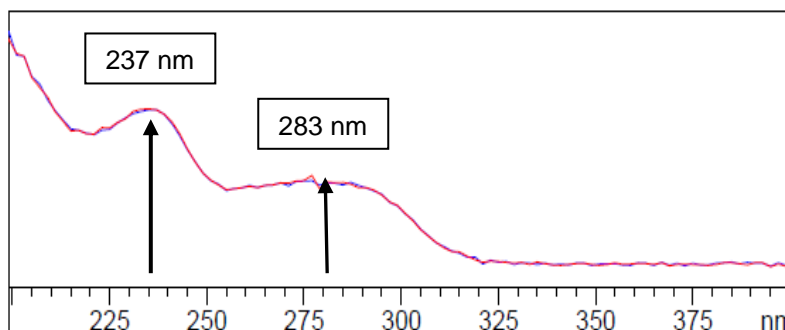


Figura 10. Espectro de absorción del Etoricoxib.

Ya que se desea la longitud de onda de máxima absorción, se desarrolló el método de cuantificación por CLAR con una longitud de onda del detector UV-VIS de 237 nm para hacer el método analítico más sensible a la detección de Etoricoxib.

6.2.2. Condiciones cromatográficas de la medición de la muestra

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos para el tiempo de retención y simetría del pico cromatográfico del Etoricoxib.

Tabla 27. Resultados del diseño de experimentos factorial de condiciones cromatográficas.

Corrida	Condición de inyección					Resultados	
	pH de F.M.	Polaridad de F.M.	Volumen de inyección (µL)	Longitud de columna (cm)	Velocidad de flujo (mL/min)	Tiempo de retención (min)	Simetría
1	7.0	7.1	20.0	15	0.6	4.486	1.26
2	3.0	7.1	20.0	25	0.6	6.420	0.64
3	3.0	7.1	5.0	15	0.6	4.235	0.83
4	3.0	7.1	5.0	25	0.6	6.401	0.66
5	7.0	7.1	20.0	15	1.5	1.778	1.05
6	7.0	8.5	5.0	25	0.6	18.398	0.62
7	7.0	7.1	5.0	25	0.6	8.542	0.23
8	3.0	8.5	5.0	25	1.5	5.293	0.40
9	3.0	8.5	20.0	25	0.6	13.166	0.33
10	3.0	8.5	20.0	25	1.5	5.254	0.41

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Corrida	Condición de inyección					Resultados	
	pH de F.M.	Polaridad de F.M.	Volumen de inyección (µL)	Longitud de columna (cm)	Velocidad de flujo (mL/min)	Tiempo de retención (min)	Simetría
11	7.0	8.5	20.0	25	1.5	7.348	0.78
12	7.0	8.5	20.0	15	1.5	16.008	1.42
13	3.0	7.1	20.0	25	1.5	2.550	0.73
14	7.0	8.5	5.0	15	0.6	16.007	1.29
15	3.0	7.1	5.0	15	1.5	1.687	0.88
16	7.0	7.1	5.0	15	1.5	1.775	1.10
17	3.0	8.5	5.0	15	1.5	3.861	0.91
18	3.0	7.1	5.0	25	1.5	2.547	0.75
19	3.0	8.5	5.0	15	0.6	8.026	0.78
20	7.0	8.5	5.0	15	1.5	6.492	1.90
21	7.0	7.1	5.0	15	0.6	4.467	1.28
22	7.0	7.1	5.0	25	1.5	2.804	0.43
23	3.0	8.5	20.0	15	0.6	9.682	0.87
24	3.0	8.5	5.0	25	0.6	13.154	0.33
25	7.0	8.5	5.0	25	1.5	7.407	0.73
26	7.0	7.1	20.0	25	0.6	7.962	0.15
27	7.0	8.5	20.0	25	0.6	18.417	0.62
28	3.0	7.1	20.0	15	0.6	4.257	0.81
29	7.0	7.1	20.0	25	1.5	3.018	0.22
30	3.0	7.1	20.0	15	1.5	1.696	0.87
31	3.0	8.5	20.0	15	1.5	3.85	0.89
32	7.0	8.5	20.0	15	0.6	16.131	1.47

A continuación se muestra el análisis de variancia y el diagrama de Pareto, donde se demuestra que hay efecto de los factores estudiados en la respuesta de tiempo de retención de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Tabla 28. Análisis de variancia para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: pH de F.M.	74.9119	1	74.9119	25.03	0.0001
B: Polaridad de F.M.	337.149	1	337.149	112.63	0.0000
C: Volumen de Inyección	3.73123	1	3.73123	1.25	0.2807
D: Longitud de Columna	18.3663	1	18.3663	6.14	0.0248
E: Velocidad de Flujo	233.188	1	233.188	77.90	0.0000
AB	47.2465	1	47.2465	15.78	0.0011

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
AC	1.79788	1	1.79788	0.60	0.4496
AD	3.60394	1	3.60394	1.20	0.2888
AE	2.63179	1	2.63179	0.88	0.3624
BC	4.13928	1	4.13928	1.38	0.2568
BD	1.74985	1	1.74985	0.58	0.4557
BE	25.4773	1	25.4773	8.51	0.0101
CD	4.31372	1	4.31372	1.44	0.2474
CE	2.17622	1	2.17622	0.73	0.4064
DE	21.2797	1	21.2797	7.11	0.0169
Error total	47.8949	16	2.99343		
Total (corr.)	829.658	31			

El análisis de varianza demostró que los siguientes factores tienen un efecto estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95 %: pH de la fase móvil, polaridad de la fase móvil, longitud de la columna y velocidad de flujo (color amarillo), con respecto al volumen de inyección se demuestra que no tiene un efecto estadísticamente significativo al tener un Valor-P mayor a 0.05 (ver Tabla 28. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib, color verde) de igual manera esto se puede observar en el diagrama de Pareto (ver Figura 11. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib).

Diagrama de Pareto para tiempo de retención.

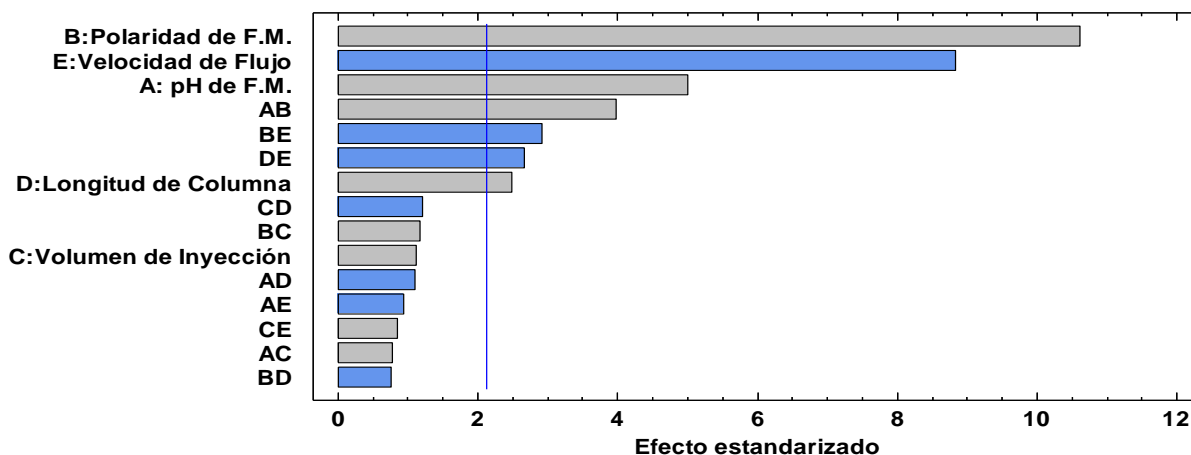


Figura 11. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.

En la gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del etoricoxib (ver Figura. 12 Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib) se observa que a un pH de 3.0 el tiempo de retención del etoricoxib es menor que a un pH de 7.0, esto es debido a que el etoricoxib tiene un $pK_a = 4.6$, por lo que a un $pH < pK_a$ el etoricoxib se encuentra en su forma ionizada y tiene una mayor interacción con la fase móvil que con la fase estacionaria que de carácter no polar, por lo tanto a un $pH > pK_a$ el etoricoxib se encuentra en su forma no ionizada y tiene una mayor interacción con compuestos de carácter no polar, por lo que aumenta la interacción con la fase estacionaria y aumenta el tiempo de retención del etoricoxib.

El etoricoxib al ser un compuesto de carácter poco polar tiende a solubilizarse con mayor facilidad en disolventes poco polares; por lo que se observa que en la fase móvil con polaridad de 7.1 el fármaco eluye de la columna cromatográfica con mayor rapidez que en la fase móvil con una polaridad de 8.5, debido que las moléculas de etoricoxib tienen mayor interacción y afinidad por la fase móvil con polaridad de 7.1 que con la fase estacionaria de la columna cromatográfica; por otra parte con la fase móvil de polaridad de 8.5 el etoricoxib tiene mayor afinidad por la fase estacionaria de la columna que por la fase móvil por lo que tarda un mayor tiempo en eluir (ver Figura 12. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib “Polaridad”).

El volumen de inyección estadísticamente no presenta efecto significativo en el tiempo de retención del etoricoxib, sin embargo gráficamente se observa que el tiempo de retención del etoricoxib es menor al inyectar 5.0 μL que cuando se inyectan 10 μL , esto se explica de manera la siguiente manera: al inyectar volúmenes pequeños de fármaco, se inyecta una menor cantidad de materia del analito por lo que eluye con mayor rapidez en la fase móvil ya que tiene menor interacción con la columna cromatográfica, por otra parte al inyectar una mayor cantidad de volumen de analito, se inyecta una mayor cantidad de materia y por lo tanto el analito presenta mayores interacciones tanto con la fase móvil como con

la fase estacionaria; el tiempo de retención del etoricoxib es menor en la columna de 15 cm que en la columna de 25 cm, debido a que el analito presenta mayor interacciones en la columna de 25 cm debido a que tiene mayor longitud que en la columna de 15 cm que presenta una menor longitud, con respecto a la velocidad de flujo tiene que ver con la velocidad de la cantidad de materia que se transporta a través del sistema cromatográfico, por lo que a velocidad de flujo menores de 0.6 mL/min se retiene más tiempo en la columna el Etoricoxib ya que tiene un mayor número de equilibrios simultáneos con los grupos C18 de la columna y fase móvil, por tanto hay un mayor tiempo de retención del Etoricoxib; por lo contrario a flujos mayores de 1.5 mL/min hay un menor número de equilibrios simultáneos con los grupos C18 que contiene la columna y la fase móvil y como resultado hay un tiempo de retención menor del etoricoxib.

Gráfica de Efectos Principales para Tiempo de Retención

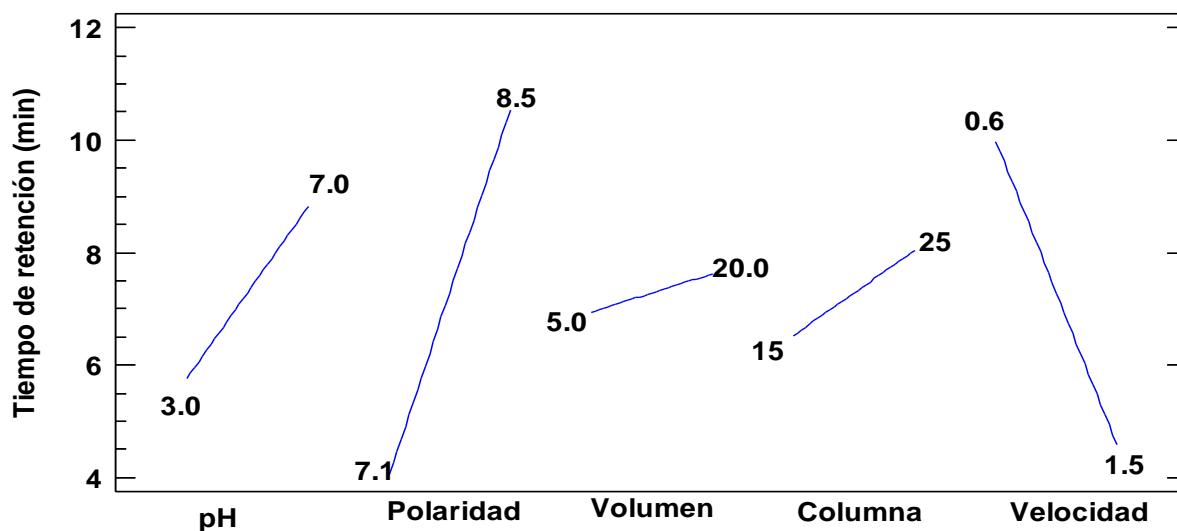


Figura 12. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib.

A continuación se muestra el análisis de variancia y el diagrama de Pareto, donde se demuestra que hay efecto de los factores estudiados en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 29. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: pH de F.M.	0.374112	1	0.374112	20.42	0.0003
B: Polaridad de F.M.	0.108112	1	0.108112	5.90	0.0273
C: Volumen de Inyección	0.01125	1	0.01125	0.61	0.4447
D: Longitud de Columna	2.86801	1	2.86801	156.53	0.0000
E: Velocidad de Flujo	0.0528125	1	0.0528125	2.88	0.1089
AB	0.59405	1	0.59405	32.42	0.0000
AC	0.0120125	1	0.0120125	0.66	0.4300
AD	0.605	1	0.605	33.02	0.0000
AE	0.00045	1	0.00045	0.02	0.8774
BC	0.0021125	1	0.0021125	0.12	0.7386
BD	0.0338	1	0.0338	1.84	0.1932
BE	0.0288	1	0.0288	1.57	0.2279
CD	0.0001125	1	0.0001125	0.01	0.9385
CE	0.0231125	1	0.0231125	1.26	0.2779
DE	0.00605	1	0.00605	0.33	0.5735
Error total	0.29315	16	0.0183219		
Total (corr.)	5.01295	31			

Diagrama de Pareto de simetría de picos cromatográficos

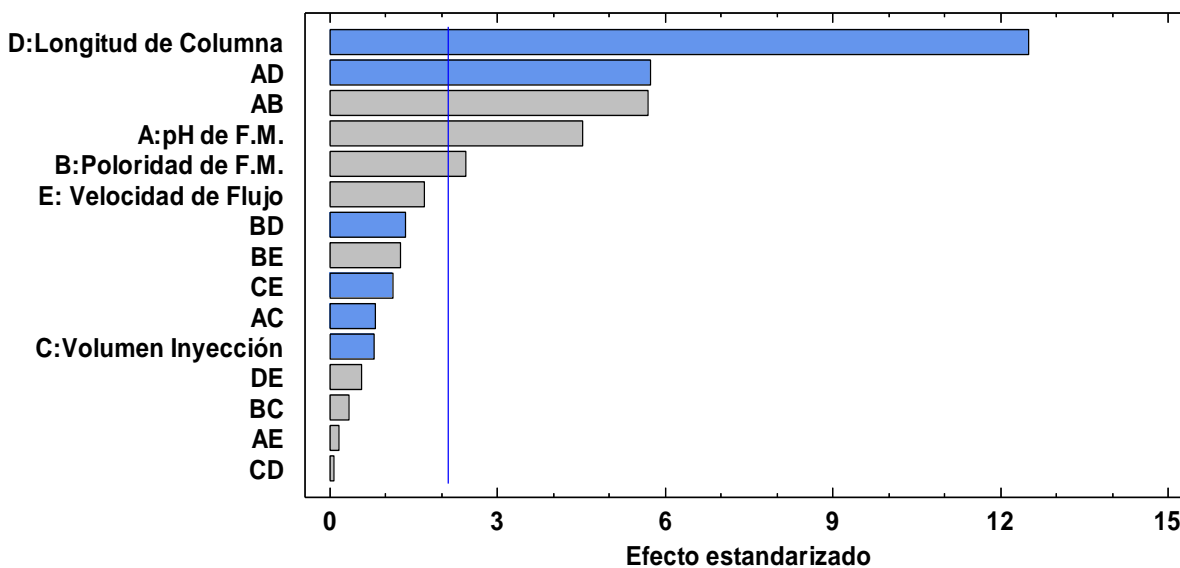


Figura 13. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Para evaluar la simetría de los picos cromatográficos al igual que en el caso del tiempo de retención se realizó un análisis de varianza (ver Tabla 29. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib) donde se muestra que los factores que presentan un efecto estadísticamente significativo a un 95 % de nivel de confianza en la simetría de los picos son: pH de la fase móvil, polaridad de la fase móvil y la longitud de la columna al tener valores de $P < 0.05$ (color amarillo), los factores que no presentaron un efecto estadísticamente significativo fueron el volumen de inyección y la velocidad de flujo (color verde). En el diagrama de Pareto para la simetría (ver Figura 13. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib), se observa que la longitud de la columna es el factor que presenta un mayor impacto en la simetría, siguiendo el pH de la fase móvil, polaridad de la fase móvil y sin presentar efecto significativo la velocidad de flujo y finalmente el volumen de inyección.

En el gráfico de efectos principales para la simetría (ver Figura 14. Gráfica de efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib), donde se aprecia de manera gráfica el efecto que presenta cada factor en la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib; en la gráfica se observa la simetría de los picos es mayor a un pH de 7.0 que a un pH de 3.0, es mayor a una polaridad de 8.5 que a una polaridad de 7.1, es mayor a un volumen de inyección de 5.0 μL que a 20.0 μL , es mayor en la columna de 15 cm que en la columna de 25 cm y es mayor a una velocidad de flujo de 1.5 mL/min que a una velocidad de 0.6 mL/min. La simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib se ve afectada por la velocidad de flujo debido que a procesos de velocidad lentos, la transferencia de masa entre la fase móvil y la fase estacionaria es lenta, por lo que se forman picos con una base de pico más ancho lo que provoca que la simetría pierda la forma gaussiana.

Gráfica de Efectos Principales para la Simetría

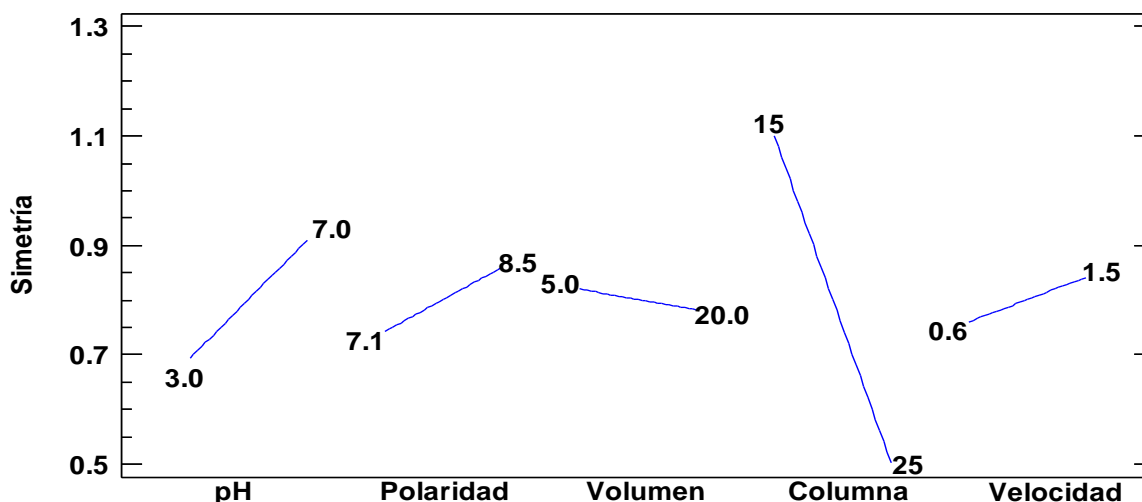


Figura 14. Gráfica de efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Al realizar la respectiva discusión del efecto de los factores en el tiempo de retención y de la simetría de los picos cromatográficos, se decidió mantener constantes los factores de volumen de inyección en 10 μL y una longitud de columna de 15 cm y para simplificar el modelo matemático, se ejecutó un diseño de experimentos evaluando únicamente los factores que presentaron efecto estadísticamente significativo, donde se evaluó el efecto del tiempo de retención y la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib:

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos para el tiempo de retención y simetría del pico cromatográfico del Etoricoxib del nuevo diseño de experimentos ejecutado.

Tabla 30. Resultados del segundo diseño factorial para condiciones cromatográfica.

Corrida	pH de F.M.	Polaridad F.M.	Velocidad de flujo [mL/min]	Resultados					
				Tiempo de retención (min)			Simetría		
1	3.0	7.1	0.6	4.240	4.246	4.247	0.67	0.70	0.70
2	7.0	8.5	1.5	6.932	6.877	6.838	0.91	0.86	0.87
3	3.0	8.5	0.6	9.576	9.577	9.570	0.86	0.88	0.91
4	7.0	8.5	0.6	16.86	16.608	16.131	0.78	0.78	1.47
5	7.0	7.1	1.5	1.795	1.803	1.804	0.76	0.76	0.75

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Corrida	pH de F.M.	Polaridad F.M.	Velocidad de flujo [mL/min]	Resultados					
				Tiempo de retención (min)			Simetría		
6	5.0	7.8	1.05	3.791	3.802	3.798	0.85	0.86	0.86
7	7.0	7.1	0.6	4.541	4.541	4.547	0.65	0.65	0.64
8	3.0	8.5	1.5	3.939	3.923	3.916	0.93	0.92	0.95
9	3.0	7.1	1.5	1.689	1.691	1.693	0.80	0.78	0.78

A continuación se muestra el análisis de variancia y el diagrama de Pareto, donde se demuestra que hay efecto de los factores estudiados en el tiempo de retención de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Tabla 31. Análisis de variancia para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:pH de F.M.	39.9642	1	39.9642	35.18	0.0000
B:Polaridad de F.M.	227.612	1	227.612	200.34	0.0000
C:Velocidad de Flujo	159.053	1	159.053	140.00	0.0000
AB	33.8913	1	33.8913	29.83	0.0000
AC	6.58773	1	6.58773	5.80	0.0270
BC	37.525	1	37.525	33.03	0.0000
bloques	0.0382356	2	0.0191178	0.02	0.9833
Error total	20.4499	18	1.1361		
Total (corr.)	525.121	26			

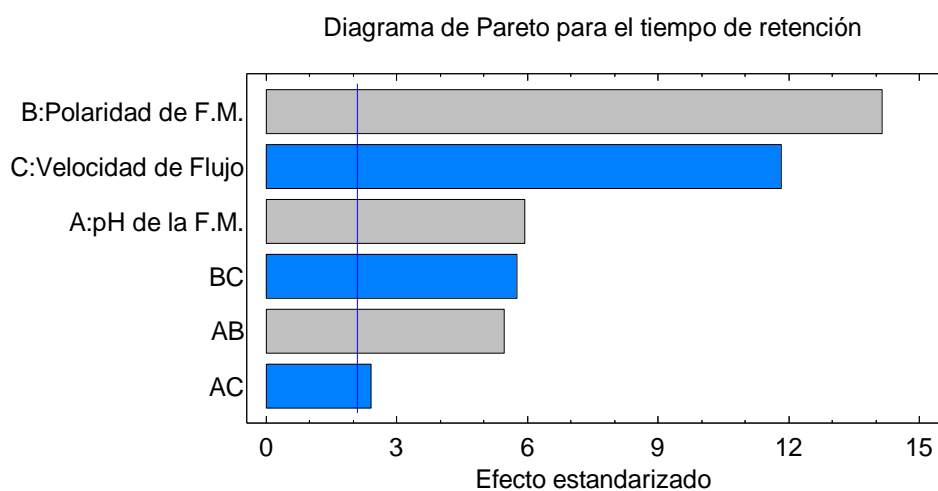


Figura 15. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib.

Para el tiempo de respuesta del etoricoxib se observa que los factores que no se mantuvieron constantes (pH de la fase móvil, polaridad de la fase móvil y velocidad de flujo) presentan efecto estadísticamente significativo a un nivel de confianza del 95 % (ver Tabla 31. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib), de igual manera se puede observar en diagrama de Pareto para el tiempo de retención (ver Figura 15. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en el tiempo de retención del Etoricoxib), por lo que al ejecutar el diseño de experimentos se obtuvo el mismo efecto que el Diseño 1 (ver Figura 16. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib).

Gráfica de Efectos Principales para Tiempo de Retención

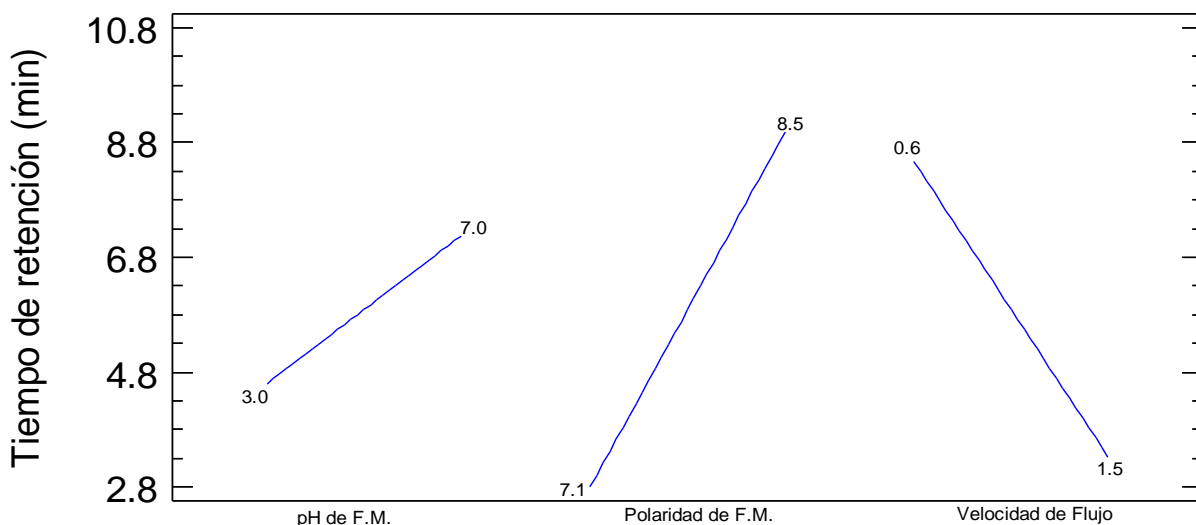


Figura 16. Gráfica de efectos principales para el tiempo de retención del Etoricoxib.

Se elaboró una gráfica de cubo (ver Figura 17. Gráfica de cubo para el tiempo de retención del etoricoxib) donde se observa en cada vértice del cubo, el tiempo de retención promedio del etoricoxib que se obtiene al ejecutar el diseño de experimentos 2^3 , se observa que en los vértices existen diversos tiempos de retención que cumplen con el tiempo de retención que es especificado en el tiempo de retención, por lo que lo que el diseño es el adecuado para tener un tiempo de retención del etoricoxib de 4.6 min – 6.5 min.

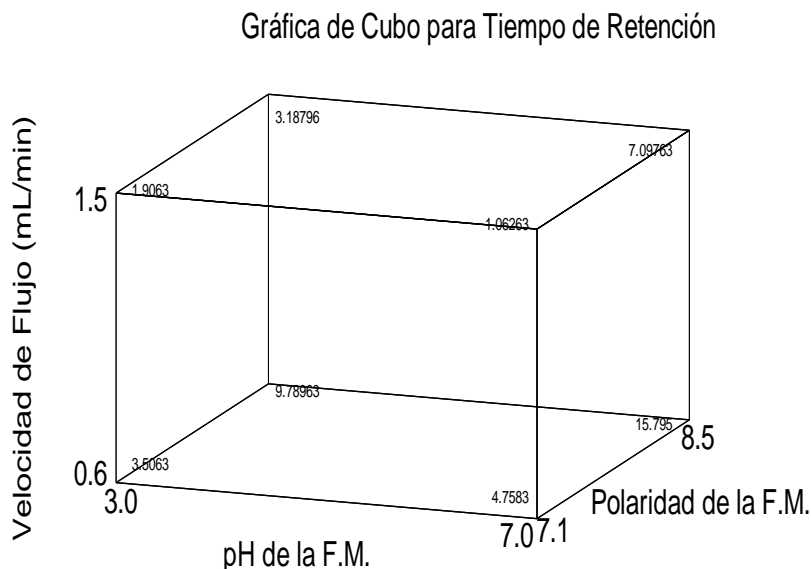


Figura 17. Gráfica de cubo para el tiempo de retención del Etoricoxib.

Para el tiempo de retención del etoricoxib se obtuvo el siguiente modelo matemático:

$$\text{Tiempo de Retención} = -28.1101 - 5.36427 \cdot \text{pH de F.M.} + 4.32341 \cdot \text{Polaridad de F.M.} + 28.1526 \cdot \text{Velocidad de Flujo} + 0.84881 \cdot \text{pH de F.M.} \cdot \text{Polaridad de F.M.} - 0.58213 \cdot \text{pH de F.M.} \cdot \text{Velocidad de Flujo} - 3.96958 \cdot \text{Polaridad de F.M.} \cdot \text{Velocidad de Flujo}$$

A continuación se muestra el análisis de variancia y el diagrama de Pareto, donde se demuestra que hay efecto de los factores estudiados en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Tabla 32. Análisis de variancia para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:pH de F.M.	0.001	1	0.001	0.1	1.0000
B:Polaridad de F.M.	0.256267	1	0.256267	15.42	0.0010
C:Velocidad de Flujo	0.00601667	1	0.00601667	0.36	0.5548
AB	0.00806667	1	0.00806667	0.49	0.4948

Factor	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
AC	0.0104167	1	0.0104167	0.63	0.4388
BC	0.0308167	1	0.0308167	1.85	0.1900
bloques	0.0394963	2	0.0197481	1.19	0.3275
Error total	0.299083	18	0.0166157		
Total (corr.)	0.650163	26			

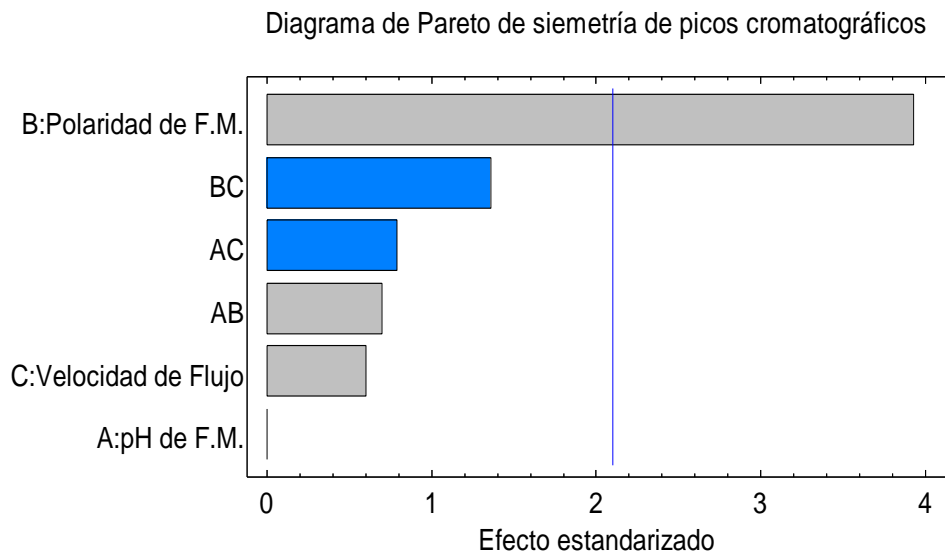


Figura 18. Diagrama de Pareto para observar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Para la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib, se obtuvo que el único factor que presenta efecto estadísticamente significativo en la simetría de los picos cromatográficos a un nivel de confianza del 95 % es la polaridad de la fase móvil (ver Tabla 32. Análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores en la simetría de los picos cromatográficos); este efecto se ve reflejado en la gráfica de efectos principales (ver Figura 19. Gráfica de los efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib), donde se observa que no hay efecto por el pH de la fase móvil, se observa que a velocidad de flujo de 1.5 mL/min hay una simetría mayor que a flujos de 0.6 mL/min, sin embargo estadísticamente no tiene efecto; por otra parte se observa que la polaridad de la fase móvil aumenta significativamente la simetría de los picos cromatográficos

cuando la fase móvil tiene una polaridad de 8.5 que cuando tiene una polaridad de 7.1, esto se debe a que las moléculas del etoricoxib tienen a presentar una mayor interacción con la fase estacionaria de la columna a una polaridad de 8.5 de la fase móvil, por lo que el número de equilibrios con la fase estacionaria aumenta y la eficiencia de la columna aumenta, por lo que se producen picos cromatográficos más simétricos.

Gráfica de Efectos Principales para la Simetría

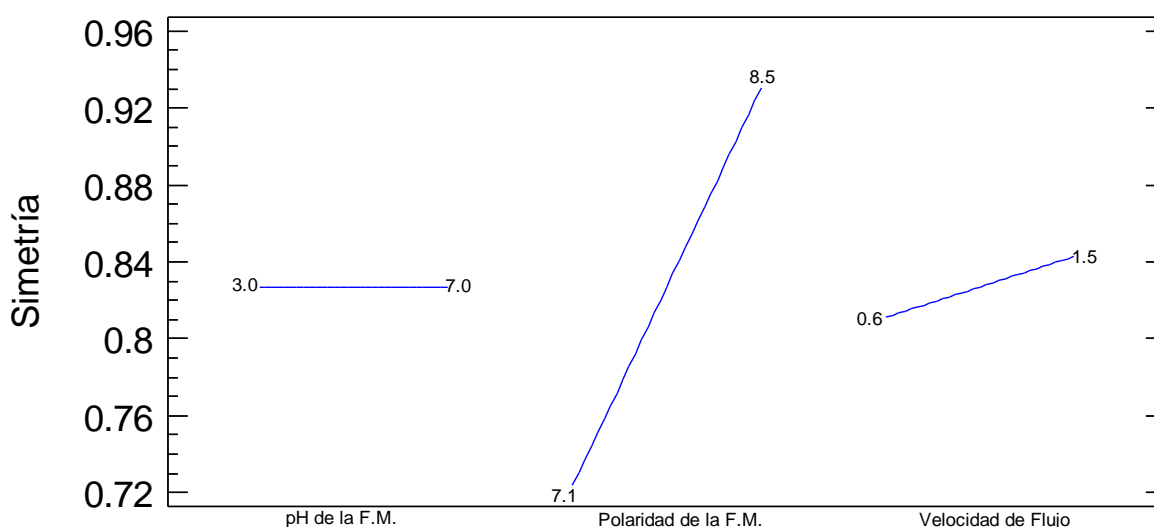


Figura 19. Gráfica de efectos principales para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Al igual que con el tiempo de retención, se elaboró un gráfico de cubo para la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib (ver Figura 20. Gráfico de cubo para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib) donde se observa que existen vértices que cumplen con el criterio de aceptación de simetría < 1.2 , por lo que diseño realizado cumple con las especificaciones de simetría deseadas.

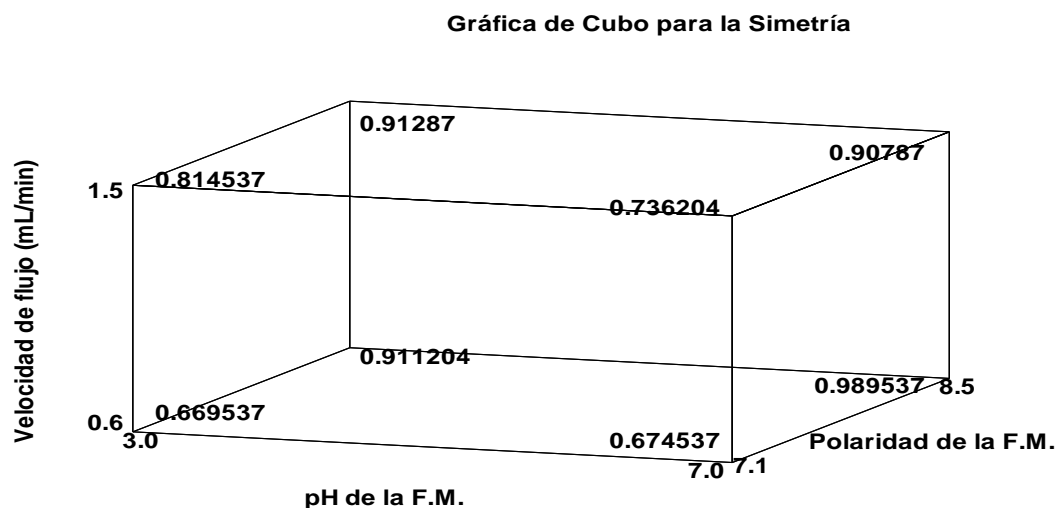


Figura 20. Gráfico de cubo para la simetría de los picos cromatográficos del Etoricoxib.

Para la simetría de los picos cromatográficos del etoricoxib se obtuvo el siguiente modelo matemático:

$$\text{Simetría} = -0.903816 - 0.0778373 \cdot \text{pH de la F.M.} + 0.201587 \cdot \text{Polaridad de F.M.} + 1.03823 \cdot \text{Velocidad de Flujo} + 0.0130952 \cdot \text{pH de la F.M.} \cdot \text{Polaridad de F.M.} - 0.0231481 \cdot \text{pH de la F.M.} \cdot \text{Velocidad de Flujo} - 0.113757 \cdot \text{Polaridad de F.M.} \cdot \text{Velocidad de Flujo}$$

Al verificar que es posible tener respuestas de tiempo de retención y simetría de los picos cromatográficos que cumplen con los criterios de aceptación (tiempo de retención < 7 min y simetría < 1.2) se elaboró un gráfico de contornos para obtener un tiempo de retención de 5.5 min y una simetría del pico cromatográfico de 0.9 (ver Figura 21. Gráfico de contornos para pH de la F.M. y Polaridad de F.M., se mantiene constante la Velocidad de Flujo = 1.2 mL/min, donde TR = tiempo de retención (min) y Simetría = simetría de picos cromatográficos) donde se observa que hay intersección entre ambas respuestas, por lo que se puede extrapolar los valores de pH de la fase móvil, polaridad de la fase móvil y velocidad de flujo para obtener tiempo de retención y simetría de los picos que cumplan con el criterio de

aceptación; para obtener dichos valores se utilizó el software Statgraphics, donde se obtuvo que los valores de los factores son: pH de la fase móvil 3.0, polaridad de la fase móvil de 8.5, velocidad de flujo de 1.2 mL/min, manteniendo los factores constantes de longitud de la columna de 15 cm y volumen de inyección de 10 µL, el tiempo de retención y la simetría de los picos cromatográficos tienen un intervalo de confianza del 95 %, por lo que se aceptan valores de 4.4 min – 6.3 min para el tiempo de retención y valores de 0.8 – 0.9 para la simetría de los picos cromatográficos.

Utilizando el software Statgrafics se obtuvieron los valores de cada factor evaluado para obtener un tiempo de retención de 5.5 min y una simetría de los picos cromatográficos de 0.9, se obtuvieron los siguientes valores con un intervalo de confianza de 95 %:

Tabla 33. Valor de los factores para obtener respuestas deseadas de tiempo de retención y simetría del pico cromatográfico del Etoricoxib.

Factor	Óptimo	Tiempo de retención	Simetría del pico cromatográfico
pH de la F.M.	3.0	5.5 min (4.4 min – 6.3 min)	0.9 (0.8 – 1.0)
Polaridad F.M.	8.5		
Velocidad de Flujo	1.2 mL/min		
Longitud de Columna	150 mm		
Volumen de inyección	10 µL		

Se realizó un gráfico de contornos, donde se observa de manera gráfica las condiciones experimentales de polaridad de F.M. y pH de la F.M., manteniendo constante la velocidad de flujo a 1.2 mL/min:

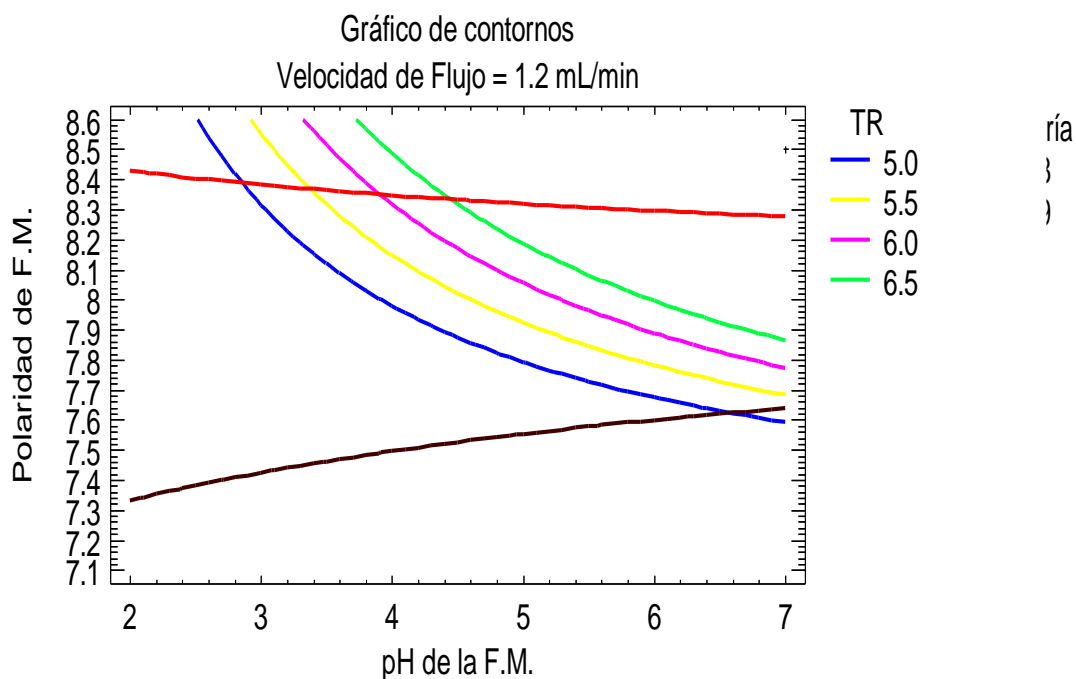
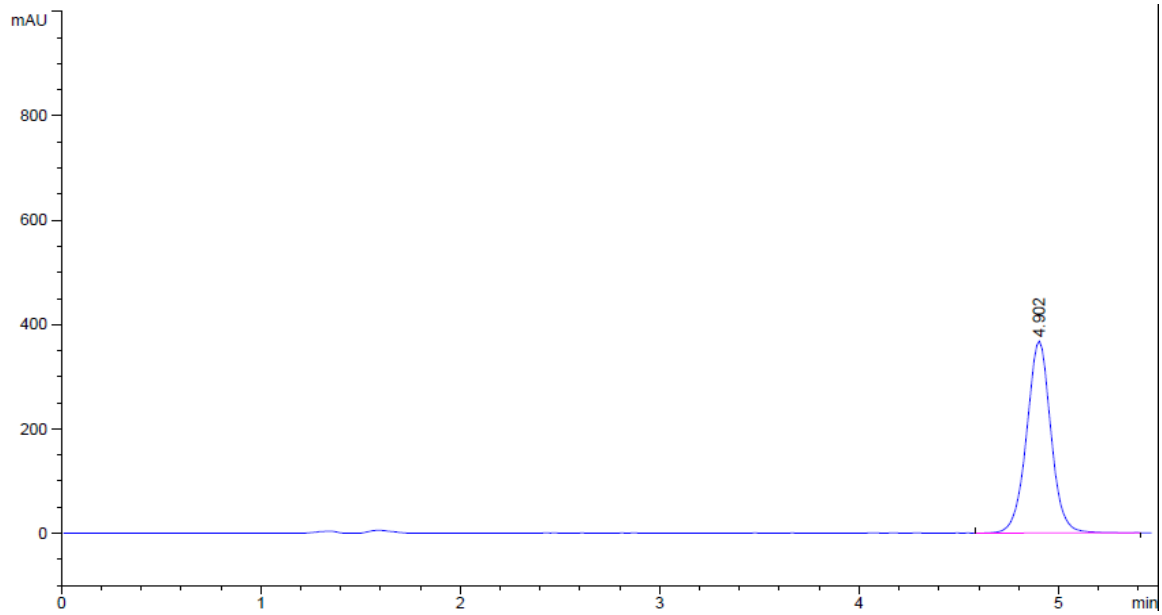


Figura 21. Gráfico de contornos para pH de la F.M. y Polaridad de F.M., se mantiene constante la Velocidad de Flujo = 1.2 mL/min, donde TR = tiempo de retención (min) y Simetría = simetría de picos cromatográficos.

Se realizó la inyección de una muestra de etoricoxib bajo los parámetros de operación previamente mencionados y se obtuvo que el Etoricoxib tiene un tiempo de retención de 4.902 min y una simetría del pico cromatográfico de 0.99 (ver Figura 22. Pico cromatográfico del etoricoxib), por lo que al tener valores dentro de los intervalos de confianza previamente mencionados, se demuestra que el método desarrollado funciona para el objetivo para el cual fue desarrollado y por lo tanto es adecuado para cuantificar Etoricoxib en tabletas de 120 mg.



RetTime [min]	k'	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Symm.	Width [min]	Plates	Resol ution	Signal /Noise
4.902	2.47	3107.60498	368.37610	0.99	0.1257	8425	-	-

Figura 22. Pico cromatográfico del etoricoxib.

6.3. Tratamiento de la muestra del método de disolución (condiciones de disolución)

En la siguiente tabla se muestran los perfiles de disolución obtenidos de cada experimento evaluado; considerando los siguientes factores en sus valores nominales:

- Volumen del medio de disolución es de 900 mL.

Tabla 34. Resultados de los perfiles de disolución.

Experimento	pH del M.D.	V.A. (r/min)	Tiempo de muestreo (min)	Resultado (n = 2 tabletas por experimento / 2 vasos)														
1	1.2	100	10, 20, 30, 45, 60	<table border="1"> <caption>Data for Experiment 1 Graph</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>10</td><td>100</td></tr> <tr><td>20</td><td>98</td></tr> <tr><td>30</td><td>98</td></tr> <tr><td>45</td><td>98</td></tr> <tr><td>60</td><td>98</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	10	100	20	98	30	98	45	98	60	98
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
10	100																	
20	98																	
30	98																	
45	98																	
60	98																	
2	1.2	100	5, 15, 30, 45, 60	<table border="1"> <caption>Data for Experiment 2 Graph</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>5</td><td>105</td></tr> <tr><td>15</td><td>102</td></tr> <tr><td>30</td><td>102</td></tr> <tr><td>45</td><td>100</td></tr> <tr><td>60</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	5	105	15	102	30	102	45	100	60	100
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
5	105																	
15	102																	
30	102																	
45	100																	
60	100																	

Experimento	pH del M.D.	V.A. (r/min)	Tiempo de muestreo (min)	Resultado (n = 2 tabletas por experimento / 2 vasos)														
3	4.5	100	5, 15, 30, 45, 60	<p>The graph for Experiment 3 shows the percentage of dissolved Etoricoxib over time. The x-axis represents the sampling time in minutes, ranging from 0 to 65. The y-axis represents the percentage of dissolved Etoricoxib, ranging from 0 to 120. The data points are as follows:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>5</td><td>60</td></tr> <tr><td>15</td><td>90</td></tr> <tr><td>30</td><td>97</td></tr> <tr><td>45</td><td>98</td></tr> <tr><td>60</td><td>97</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	5	60	15	90	30	97	45	98	60	97
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
5	60																	
15	90																	
30	97																	
45	98																	
60	97																	
4	4.5	100	10, 20, 30, 45, 60	<p>The graph for Experiment 4 shows the percentage of dissolved Etoricoxib over time. The x-axis represents the sampling time in minutes, ranging from 0 to 70. The y-axis represents the percentage of dissolved Etoricoxib, ranging from 0 to 120. The data points are as follows:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>10</td><td>68</td></tr> <tr><td>20</td><td>85</td></tr> <tr><td>30</td><td>92</td></tr> <tr><td>45</td><td>95</td></tr> <tr><td>60</td><td>97</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	10	68	20	85	30	92	45	95	60	97
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
10	68																	
20	85																	
30	92																	
45	95																	
60	97																	

Experimento	pH del M.D.	V.A. (r/min)	Tiempo de muestreo (min)	Resultado (n = 2 tabletas por experimento / 2 vasos)														
5	1.2	75	10, 20, 30, 45, 60	<table border="1"> <caption>Data for Experiment 5: % Disuelto de Etoricoxib vs. Tiempo de muestreo [min]</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>10</td><td>100</td></tr> <tr><td>20</td><td>102</td></tr> <tr><td>30</td><td>100</td></tr> <tr><td>45</td><td>100</td></tr> <tr><td>60</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	10	100	20	102	30	100	45	100	60	100
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
10	100																	
20	102																	
30	100																	
45	100																	
60	100																	
6	4.5	75	10, 20, 30, 45, 60	<table border="1"> <caption>Data for Experiment 6: % Disuelto de Etoricoxib vs. Tiempo de muestreo [min]</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>10</td><td>62</td></tr> <tr><td>20</td><td>82</td></tr> <tr><td>30</td><td>92</td></tr> <tr><td>45</td><td>96</td></tr> <tr><td>60</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	10	62	20	82	30	92	45	96	60	100
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib																	
0	0																	
10	62																	
20	82																	
30	92																	
45	96																	
60	100																	

Experimento	pH del M.D.	V.A. (r/min)	Tiempo de muestreo (min)	Resultado (n = 2 tabletas por experimento / 2 vasos)
7	1.2	75	5, 15, 30, 45, 60	<p>Graph showing the percentage of Etoricoxib dissolved over time for Experiment 7. The y-axis is labeled '% Disuelto de Etoricoxib' and ranges from 0 to 120. The x-axis is labeled 'Tiempo de muestreo [min]' and ranges from 0 to 65. The data points are approximately: (0, 0), (5, 100), (10, 108), (15, 100), (30, 100), (45, 100), (60, 100).</p>
8	4.5	75	5, 15, 30, 45, 60	<p>Graph showing the percentage of Etoricoxib dissolved over time for Experiment 8. The y-axis is labeled '% Disuelto de Etoricoxib' and ranges from 0 to 120. The x-axis is labeled 'Tiempo de muestreo [min]' and ranges from 0 to 65. The data points are approximately: (0, 0), (5, 48), (15, 88), (30, 98), (45, 99), (60, 99).</p>

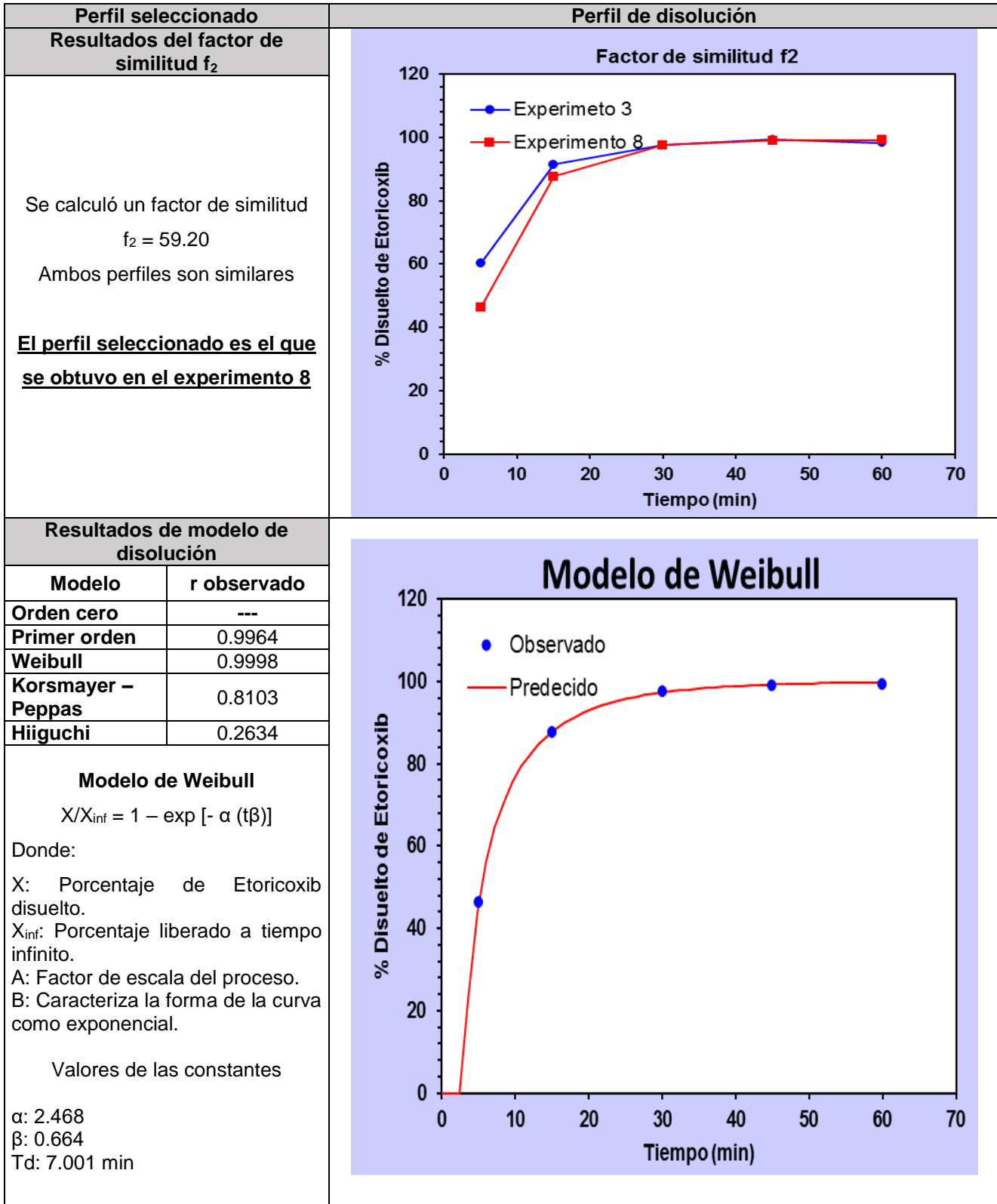
Selección del perfil de disolución

En la siguiente tabla se resumen los perfiles de disolución que fueron seleccionados, en la Tabla 35. Selección del perfil de disolución, se resume el tratamiento que se realizó a ambos perfiles para verificar si hay efecto de la velocidad de agitación, además del resultado de factor de similitud f_2 .

Tabla 35. Selección del perfil de disolución

Perfil seleccionado	Perfil de disolución														
<p style="text-align: center;">Experimento 3</p> <p>pH del medio de disolución: 4.5 Velocidad de agitación: 100 r/min Tiempo de muestreo: 5, 15, 30, 45 y 60 min</p>	<table border="1" style="margin: auto;"> <caption>Datos para Experimento 3</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>5</td><td>60</td></tr> <tr><td>15</td><td>90</td></tr> <tr><td>30</td><td>98</td></tr> <tr><td>45</td><td>100</td></tr> <tr><td>60</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	5	60	15	90	30	98	45	100	60	100
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib														
0	0														
5	60														
15	90														
30	98														
45	100														
60	100														
<p style="text-align: center;">Experimento 8</p> <p>pH del medio de disolución: 4.5 Velocidad de agitación: 75 r/min Tiempo de muestreo: 5, 15, 30, 45 y 60 min</p>	<table border="1" style="margin: auto;"> <caption>Datos para Experimento 8</caption> <thead> <tr> <th>Tiempo de muestreo [min]</th> <th>% Disuelto de Etoricoxib</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>5</td><td>45</td></tr> <tr><td>15</td><td>88</td></tr> <tr><td>30</td><td>98</td></tr> <tr><td>45</td><td>100</td></tr> <tr><td>60</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib	0	0	5	45	15	88	30	98	45	100	60	100
Tiempo de muestreo [min]	% Disuelto de Etoricoxib														
0	0														
5	45														
15	88														
30	98														
45	100														
60	100														

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Nota: El modelo de disolución se elaboró a partir de los resultados obtenidos experimentalmente (n = 2 tabletas / 2 vasos).

Se verificó el efecto que tiene el pH del medio de disolución, tiempo de muestreo y volumen del medio de disolución en el perfil de disolución de tabletas de Etoricoxib de 120 mg, se observa que a pH del medio de disolución de 1.2 la liberación del etoricoxib es de 100 % a los 10 min, para los experimentos 1, 2, 5 y 6 (ver Tabla 34. Resultados de los perfiles de disolución).

Para los experimentos 3, 4, 6 y 8, se observa que son perfiles de disolución que presentan una fase de ascenso definida así como la meseta; sin embargo por la manera en cómo define el punto de muestreo de 5 minutos la fase de ascenso, se descartan los perfiles obtenidos en los experimentos 4 y 6, dejando únicamente los perfiles de los experimentos 3 y 8, el único factor que difiere entre estos dos perfiles es la velocidad de agitación del disolutor.

Se realizó una prueba de factor de similitud f_2 que resultó de comparar el perfil del experimento 3 con el perfil del experimento 8, tiene un valor de $f_2 = 59.20$; al demostrar que no hay efecto de la velocidad de agitación por lo cual se puede trabajar con los dos perfiles de disolución, sin embargo se seleccionó el perfil del experimento 8 (ver Tabla 35. Selección del perfil de disolución).

Se demostró que el modelo de Weibull es el modelo de disolución que tiene mejor ajuste al perfil de disolución con un valor de $r = 0.9998$, al tener un valor de $\beta < 1.0$, en el modelo se tiene que el etoricoxib se libera de la tableta en un principio con una pendiente exponencial y posteriormente consistente con la exponencial, por otra parte se tiene que el valor de $T_d = 7.001$ min que representa el tiempo en el que el 62.3 % de las moléculas de Etoricoxib se encuentran en el medio de disolución.

6.4. Validación del método analítico**6.4.1. Validación del Sistema****6.4.1.1. Adecuabilidad del Sistema**

En la siguiente tabla se muestran los resultados de adecuabilidad del sistema de una curva de calibración:

Tabla 36. Resultados de adecuabilidad del sistema.

Inyección	Área
1	3543.34131
2	3612.10571
3	3553.27075
4	3599.35669
5	3596.1416
6	3578.59619
Promedio	3580.46871
DE	27.2946
% CV	0.8

Los resultados indican que el sistema no presenta una variación mayor a 2% al inyectar una misma concentración por lo que el sistema es adecuado y confiable para dar lecturas de concentración de Etoricoxib.

6.4.1.2. Linealidad del sistema

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos de las tres curvas de calibración, para la linealidad del sistema, además como control adicional se calculó el intervalo de confianza para la pendiente (m) y la ordenada al origen (b).

Tabla 37. Resultados de linealidad del sistema.

Nivel	Concentración (µg/mL)	Área mAU*s
1	6	206.0088
	6	207.6316
	6	205.4705
2	45	1594.1377
	45	1542.1045
	45	1553.7334
3	90	3110.7188
	90	3089.7112
	90	3107.6050
4	120	4184.9600
	120	4173.2305
	120	4206.9170
5	150	5143.7915
	150	5119.2554
	150	5195.6426
Coeficiente de correlación (r)		0.9999
Coeficiente de determinación (r ²)		0.9997

Tabla 38. Resultados de tratamiento de los datos de linealidad del sistema.

n	15
m	34.4968
b	7.0946
Sm	0.1617
t _{0.95,n-2}	2.1604
LS (m)	34.8460
LI (m)	34.1475
Sb	15.6834
LS (b)	40.9767
LI (b)	-26.7874
% S y/x	1.1349
Intervalo de confianza para la pendiente (m)	
34.1475 < 34.4968 < 34.8460	
Intervalo de confianza para la ordenada al origen (b)	
-26.78.74 < 7.0946 < 40.9767	

Linealidad del Sistema

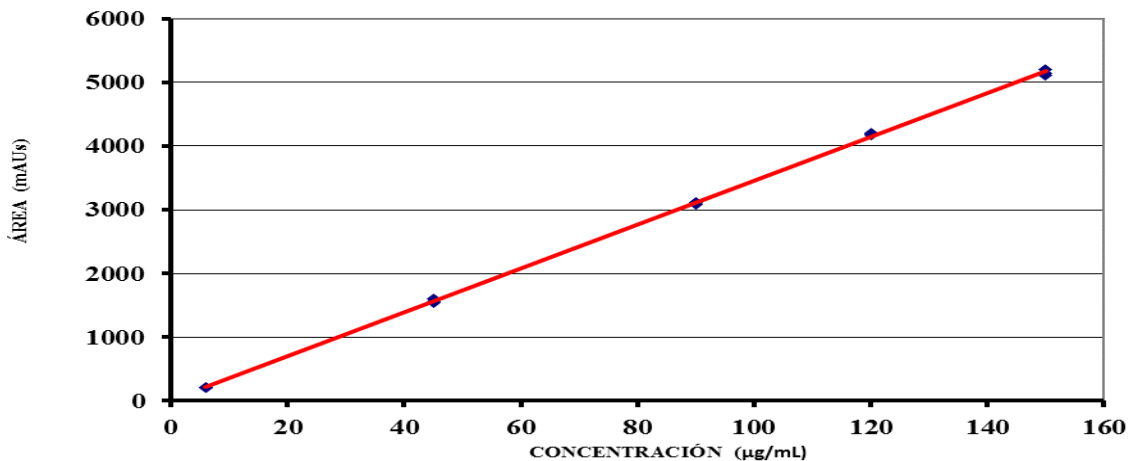


Figura 23. Gráfico de linealidad del sistema.

Se demostró que el sistema se comporta de manera lineal al tener un coeficiente de variación $r = 0.9999$, por lo que la respuesta obtenida es directamente proporcional a la concentración, además se obtuvo un porcentaje de error relativo debido a la regresión de 1.1349, por lo que se cumplen los criterios de aceptación para la linealidad del método (ver Tabla 14. Criterios de aceptación para la linealidad del sistema).

Por otra parte se calculó el intervalo de confianza de la pendiente ($34.1475 < \mathbf{34.4968} < 34.8460$) y de la ordenada al origen ($-26.78.74 < \mathbf{7.0946} < 40.9767$) a un intervalo de confianza del 95 %.

6.4.1.3. Precisión del sistema

Se calculó el factor de respuesta (FR) utilizando las áreas que se obtenidas en la linealidad del sistema. Posteriormente se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación, y se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 39. Resultados de precisión del sistema.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	FR
206.0088	34.3348
207.6316	34.6053
205.4705	34.2451
1594.1377	35.4253
1542.1045	34.2690
1553.7334	34.5274
3110.7188	34.5635
3089.7112	34.3301
3107.6050	34.5289
4184.9600	34.8747
4173.2305	34.7769
4206.9170	35.0576
5143.7915	34.2919
5119.2554	34.1284
5195.6426	34.6376
Promedio	34.5731
DE	0.35

Concentración (µg/mL)	FR
CV %	1.0

Se demostró que el factor de respuesta para evaluar la precisión del sistema tiene un coeficiente de variación de 1.0 %, por lo que cumple con el criterio de aceptación de CV % \leq 2.0 %, por lo que el sistema es preciso.

6.4.1.4. Estabilidad de la muestra

En la siguiente tabla se observa que el fármaco es estable durante 3 días en las condiciones de temperatura ambiente sin protección a la luz y a una temperatura de refrigeración de 4 °C sin protección a la luz. Para calcular la concentración de cada muestra se utilizó la curva de calibración obtenida en el tiempo 0.

- Tubo A: Temperatura ambiente sin protección a la luz.
- Tubo B: Temperatura de refrigeración sin protección.

Tabla 40. Resultados de estabilidad de concentración alta

Concentración del Día 0: 146.2395 (µg/mL)			
Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
A	145.3421	143.7721	143.3441
% D_{abs}	0.6	1.7	2.0
Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
B	146.1662	145.9010	145.6698
% D_{abs}	0.1	0.2	0.4

Tabla 41. Resultados de estabilidad de concentración baja.

Concentración del Día 0: 12.0133 [µg/mL]			
Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
A	11.9552	11.5898	11.5873
% D_{abs}	0.5	3.5	3.5
Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
B	11.9922	11.9917	11.9871
% D_{abs}	0.2	0.2	0.2

Se demostró que la muestra es estable a temperaturas de refrigeración (4 °C) al menos 3 días para concentraciones de bajas de 12.0133 µg/mL y concentraciones altas de 146.2395 µg/mL al no tener valores de % $D_{abs} > 3.0$ %.

La muestra no es estable a temperatura ambiente ya que para la muestra baja de 12.0133 µg/mL se tiene que para el día 2 del estudio ya presenta un valor de % $D_{abs} = 3.5$ %.

6.4.1.5. Influencia del filtro

Se preparó una concentración alta de 127 µg/mL de etoricoxib y otra de concentración baja de 7 µg/mL. Se calculó el promedio de concentración para cada muestra filtrada y sin filtrar, posteriormente se calculó el porcentaje retenido de fármaco.

Tabla 42. Resultados de influencia del filtro.

Muestra		Concentración alta	Concentración baja
Filtro	1	127.6997	7.3682
	2	127.6299	7.3674
	3	128.0920	7.3778
	4	127.6825	7.2405
	5	127.3335	7.3252
	6	125.5319	7.3202
Promedio		127.3283	7.3332
Sin filtro	1	127.7203	7.3682
	2	126.7546	7.3674
	3	127.7487	7.3860
	4	127.7792	7.2405
	5	126.4374	7.2855
	6	127.6785	7.1806
Promedio		127.3531	7.3047
% Retenido		0.02	0.39

Se demostró que no hay influencia del filtro, en la cuantificación del etoricoxib al tener un % Retenido para concentraciones altas de 0.02 % y para concentraciones bajas un valor de 0.39 % por lo que cumplen el criterio de aceptación de % Retenido ≤ 2.0 %.

6.4.2. Validación del método

6.4.2.1. Linealidad del método

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos de las tres curvas de calibración, para la linealidad del método, además como control adicional se calculó el intervalo de confianza para la pendiente (m) y la ordenada al origen (b).

Tabla 43. Resultados de linealidad del método.

Nivel	Concentración (µg/mL)	Área mAU*s
1	6	198.7053
	6	201.6058
	6	201.3700
2	45	1605.4600
	45	1611.6001
	45	1609.5159
3	90	3240.0972
	90	3270.8215
	90	3269.4387
4	120	4302.2329
	120	4320.6279
	120	4331.6606
5	150	5403.9707
	150	5483.2578
	150	5458.9282
Coeficiente de correlación (r)		0.9999
Coeficiente de determinación (r ²)		0.9999

Tabla 44. Resultados de tratamiento de los datos de linealidad del método.

n	15
m	36.3752
b	-22.7586
Sm	0.1180
t _{0,95,n-2}	2.1604
LS (m)	36.6302
LI (m)	36.1203
Sb	11.4496
LS (b)	1.9768
LI (b)	-47.4940
% S y/x	0.7938
Intervalo de confianza para la pendiente (m)	
36.1203 < 36.3752 < 36.6302	
Intervalo de confianza para la ordenada al origen (b)	
-47.4940 < -22.7586 < 1.9768	

Linealidad del Método

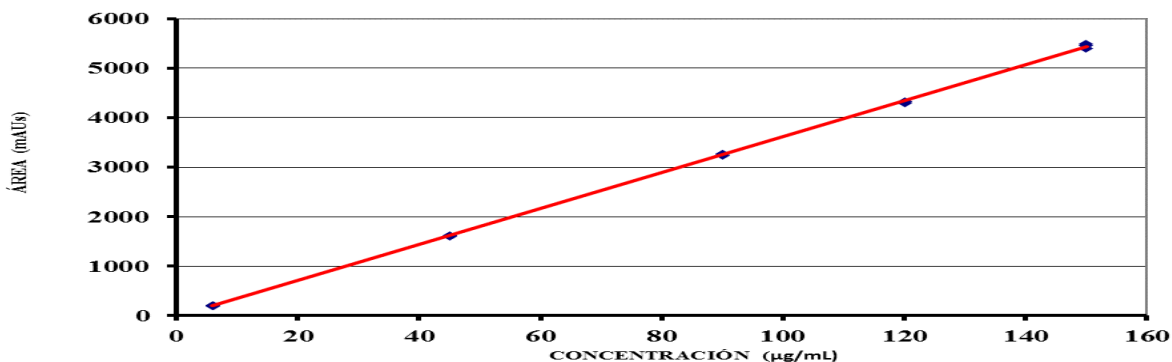


Figura 24. Gráfico de linealidad del método.

Se demostró que el método se comporta de manera lineal al tener un coeficiente de variación $r = 0.9999$, por lo que la respuesta obtenida es directamente proporcional a la concentración, además se obtuvo un porcentaje de error relativo debido a la regresión de 0.7938, por lo que se cumplen los criterios de aceptación para la linealidad del método (ver Tabla 19. Criterios de aceptación para la linealidad del método).

Por otra parte se calculó el intervalo de confianza de la pendiente ($36.1203 < \mathbf{36.3752} < 36.6302$) y de la ordenada al origen ($-47.4940 < \mathbf{-22.7586} < 1.9768$) a un intervalo de confianza del 95 %.

6.4.2.2. Exactitud

Utilizando los datos de linealidad del método, se calculó el % Recuperado para conocer la exactitud del método, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Tabla 45. Resultados de exactitud del método.

Concentración nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	% Recuperado
6	6.0883	101.47
6	6.1681	102.80
6	6.1616	102.69
45	44.7618	99.47
45	44.9306	99.85
45	44.8733	99.72
90	89.7000	99.67
90	90.5447	100.61
90	90.5066	100.56
120	118.8995	99.08
120	119.4052	99.50
120	119.7085	99.76
150	149.1876	99.46
150	151.3673	100.91
150	150.6985	100.47
Máximo		102.80
Mínimo		99.08

Se demostró que el método es exacto al tener valores % Recuperado con valores de 99.08 % - 102.80 %, que son valores que cumplen con el criterio de aceptación de 97 % - 103 %.

6.4.2.3. Precisión del método

La precisión del método se evaluó en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

6.4.2.3.1. Repetibilidad

Con los datos de exactitud se calculó el promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación del % Recuperado. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 46. Resultados de repetibilidad del método.

Concentración nominal (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	% Recuperado
6	6.0883	101.47
6	6.1681	102.80
6	6.1616	102.69
45	44.7618	99.47
45	44.9306	99.85
45	44.8733	99.72
90	89.7000	99.67
90	90.5447	100.61
90	90.5066	100.56
120	118.8995	99.08
120	119.4052	99.50
120	119.7085	99.76
150	149.1876	99.46
150	151.3673	100.91
150	150.6985	100.47
Promedio		100.40
DE		1.15
CV %		1.1

Se demostró que el coeficiente de variación del % Recuperado tiene un coeficiente de variación de 1.1 %, por lo que cumple con el criterio de aceptación de $CV \% \leq 3.0 \%$ demostrando que el método tiene repetibilidad.

6.4.2.3.2. Reproducibilidad

Se calculó el promedio de % recuperado para cada curva y posteriormente el promedio general, desviación estándar y el coeficiente de variación para los resultados obtenidos de la curva preparada en el día 1 y de la curva preparada en el día 2. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 47. Resultados de reproducibilidad del método.

Concentración nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Curva día 1 % Recuperado	Curva día 2 % Recuperado
6	102.32	102.25
45	99.68	99.59
90	100.28	100.20
120	99.45	99.56
150	100.28	100.17
Promedio	100.38	
DE	1.05	
CV %	0.01	

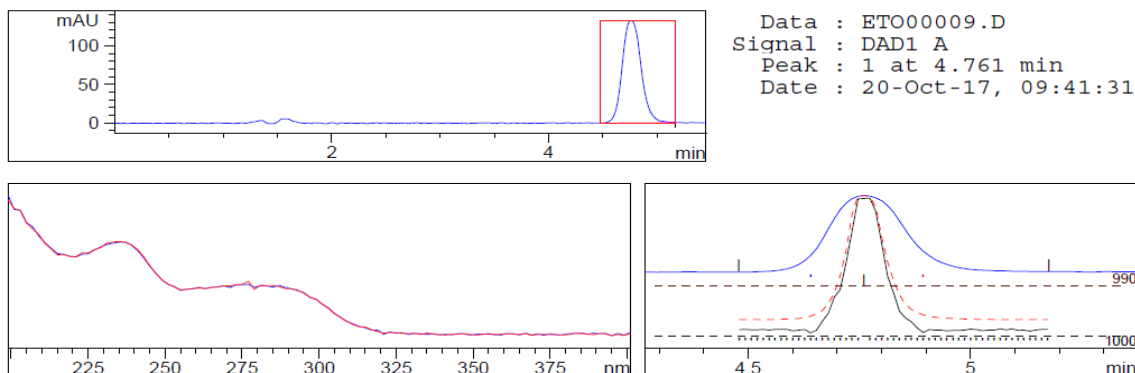
Se demostró que el método es reproducible al tener un coeficiente de variación del % Recuperado de dos curvas de calibración que se elaboraron por triplicado en dos días diferentes de 0.01 %, por lo que se cumple el criterio de aceptación de $CV \% \leq 3.0 \%$ y se verificó que el método es reproducible.

6.4.3. Selectividad/Especificidad del método

Se verificó la pureza de un pico cromatográfico para demostrar que el método desarrollado es selectivo hacia el etoricoxib y no a alguna impureza existente. Los resultados se muestran que el factor calculado para el límite de pureza del pico de

etoricoxib está dentro de los límites establecidos, por lo que el método es selectivo.

Purity results peak 1 at 4.761 min.



-> The purity factor is within the calculated threshold limit. <-

Figura 25. Resultado de selectividad del método, donde se indica que “El factor de pureza está dentro el límite de umbral calculado”.

Se demostró que la pureza de un pico cromatográfico del etoricoxib, para verificar que el método desarrollado es selectivo/específico hacia el etoricoxib y no a alguna impureza existente. Los resultados se muestran que el factor calculado para el límite de pureza del pico de etoricoxib está dentro de los límites establecidos, por lo que el método es selectivo (ver Figura 25. Resultado de selectividad del método, donde se indica que “El factor de pureza está dentro del límite de umbral calculado”).

7. Aplicación del método de disolución al producto innovador

7.1. Perfil de disolución

Se realizó un perfil de disolución utilizando 4 tabletas de Etoricoxib de 120 mg, siguiendo el método de disolución desarrollado y validado (ver Anexo F), los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 48. Resultados del perfil de disolución de etoricoxib.

Tiempo (min)	% Disuelto de Etoricoxib				Promedio	DE	CV %
	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4			
0	---	---	---	---	---	---	---
5	41	42	44	45	43	1.8	4.1
15	76	74	78	77	76	1.5	1.9
30	94	91	94	95	93	1.3	1.4
45	101	98	100	100	100	1.3	1.3
60	104	100	102	102	102	1.2	1.2

A continuación se muestra el perfil de disolución que se obtiene para las tabletas de etoricoxib de 120 mg.

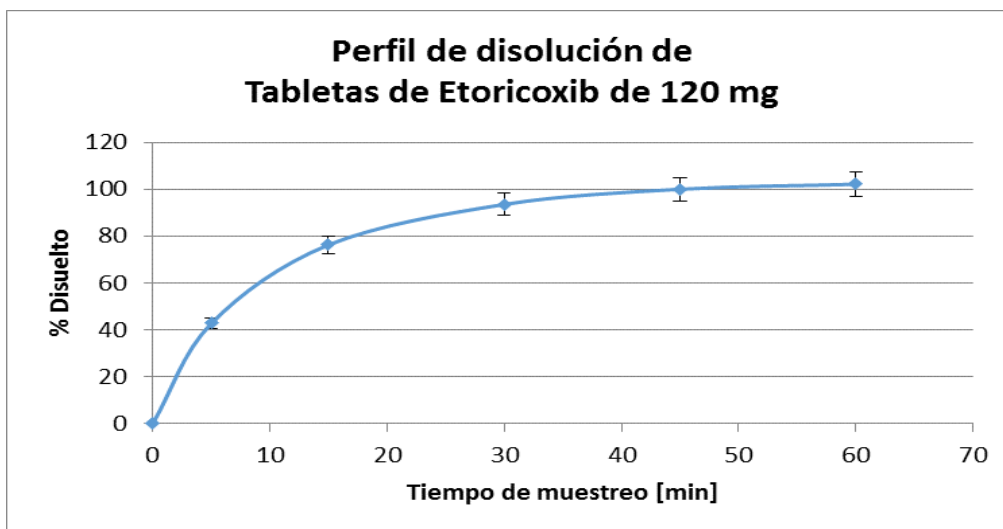


Figura 26. Perfil de disolución para tabletas de etoricoxib de 120 mg.

El perfil de disolución cumple con los criterios de aceptación ya que en el primer muestreo el coeficiente de variación es menor a 20% y en los posteriores es menor a 10%, de igual manera se observa un perfil bien definido con cuatro puntos en su fase de ascenso y un punto en su meseta.

8. CONCLUSIÓN

Se desarrolló y validó un método de disolución y perfil de disolución para tabletas de Etoricoxib de 120 mg por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a un detector UV-VIS, demostrando que el método es rápido, sensible y selectivo hacia el Etoricoxib contenido en tabletas de 120 mg.

El método de cuantificación y el método para la elaboración del perfil de disolución se validaron en base a los criterios que establece la NOM-177-SSA1-2013 y se demostró que sistema es: lineal, preciso, estable y no existe influencia del filtro, de la misma manera se demostró que el método es: lineal, exacto, preciso (repetibilidad y reproducibilidad) y selectivo.

El método de disolución ya validado se aplicó adecuadamente al producto innovador mediante un perfil de disolución.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. DAVID RODRIGUES, R. A. (2002). ABSORPTION, METABOLISM, AND EXCRETION OF ETORICOXIB, A POTENT AND SELECTIVE CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITOR, IN HEALTHY MALE VOLUNTEERS. DRUG METABOLISM AND DISPOSITION, 224–232.

Arthur Okumu, M. D. (2009). Computer simulations using GastroPlus™ to justify a biowaiver for etoricoxib solid oral drug products. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 91-98.

Bente Steffansen, B. B. (2010). Molecular Biopharmaceutics. London: Pharmaceutical Press.

Bhaskar Chauhan, 1. S. (2005). Preparation and Characterization of Etoricoxib Solid Dispersions Using Lipid Carriers by Spray Drying Technique. AAPS PharmSciTech, 405 - 412.

Birbal Singh, R. S. (2014). Development and Validation of RP-HPLC Method for the Dissolution and Assay of Etoricoxib in Pharmaceutical Dosage Forms. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance, 1-7.

Colaboradores., “. E. (2016). Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. España.

Cynthia K. Brown, H. P. (2014). Acceptable Analytical Practices for Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. Pharmaceutical Technology, 56-65.

Daniel J. Phillips, S. R. (2012). Overcoming sink limitations in dissolution testing: a review of traditional methods and the potential utility of biphasic systems. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1549–1559.

Drugbank. (Diciembre de 2017). Drugbank. Obtenido de <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01628>

Duglas A. Skoog, F. J. (2008). Principios de análisis instrumental. Estados Unidos: Cengage learning.

Felipe Rebello Lourenço, D. D. (2013). Comparison of dissolution profile of extended-release oral dosage forms – Two one-sided equivalence test. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 367-371.

- FEUM. (2014). FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. México: FEUM.
- GUIDELINE, I. H. (2005). Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2(R1).
- Harris, D. C. (2007). Análisis químico cuantitativo. Barcelona: Reverté.
- Jennifer Dressman, J. K. (2005). Pharmaceutical Dissolution Testing . United States of America: Taylor & Francis .
- Jody K. Takemoto, J. K.-V. (2008). Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Etoricoxib. Clin Pharmacokinet, 703-720.
- López, D. A. (2017). Estudio de perfiles de disolución de tres lotes de tabletas de azatioprina, cuantificados por espectrofotometría UV. Tesis , 1-74.
- Lourdes Mayet C., a. H.-C. (2008). Estudio comparativo de perfiles de disolución de tabletas de albendazol del mercado nacional. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 4-8.
- Martinez, R. F. (2007). Desarrollo y validación de un método analítico para determinar un nuevo profármaco de naproxeno (naproxenato de naproxenilo) por cromatografía de líquidos de alta resolución en plasma de ratas y plasma de humanos. México .
- Merck. (2007). ARCOXIA™ (Etoricoxib) 30 and 60 mg, For Symptomatic Treatment of Osteoarthritis.
- Molina, S. C. (2017). Evaluación de perfiles de disolución de productos genéricos en el mercado que contienen glipizida (10 mg). Tesis , 1-71.
- Montgomery, D. C. (2001). Design and Analysis of Experiment. New York: Jhon Wiley & Sons.
- Nancy G. B. Agrawal, P. C. (2004). The Effects of Modifying In Vivo Cytochrome P450 3A (CYP3A) Activity on Etoricoxib Pharmacokinetics and of Etoricoxib administration on CYP3A Activity. Journal of Clinical Pharmacology, 1125-1131.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos. (2015).
- NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. . (2013).
- Om Anand, 1. L. (2011). Dissolution Testing for Generic Drugs: An FDA Perspective. The AAPS Journal.
- PLM. (14 de Noviembre de 2017). PLM Lider en información sobre ciencias de la Salud. Obtenido de http://www.medicamentosplm.com/Home/productos/arcoxia_comprimidos_recubiertos/114/101/6364/31
- Robles, L. V. (2011). Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 18-36.
- Swarbrick, J. (2007). Enciclopedia of pharmaceutical thechnology. New York: Informa Healthcare USA.
- U.S. Department of Health and Human Services, F. a. (Diciembre de 2017). Obtenido de <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>

10. ANEXOS

ANEXO A. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Solución stock de 300 µg/mL de Etoricoxib.

Pesar con exactitud y precisión 15.0 mg de estándar de Etoricoxib y transferir la masa pesada a un matraz volumétrico de 50.0 mL, disolver en aproximadamente 20 mL de Metanol grado R.A. y colocar la solución en el sonicador y sonicar por 15 min, esperar a que la solución llegue a temperatura ambiente y llevar a volumen con medio de disolución de acetatos 50 mM ajustado a pH 4.50.

Solución stock equivalente a 300 µg/mL de Etoricoxib utilizando el medicamento de referencia.

Pesar con exactitud individualmente 10 tabletas de Etoricoxib de 120 mg y obtener el peso promedio de las tabletas; con un mortero y su pistilo, moler las tabletas de Etoricoxib hasta tener un polvo fino. Pesar una masa de polvo equivalente a 15.0 mg de Etoricoxib y transferir la masa pesada a un matraz volumétrico de 50.0 mL, disolver en aproximadamente 20 mL de Metanol grado R.A. y colocar la solución en el sonicador y sonicar por 15 min, esperar que la solución llegue a temperatura ambiente y llevar a volumen con medio de disolución de acetatos 50 mM ajustado a un pH 3.00.

Fase móvil (F.M.) Solución de Acetonitrilo:Agua (80:20).

Para preparar 1000.0 mL de F.M. se mezclaron 200.0 mL de Agua desionizada grado HPLC con 800.0 mL de Acetonitrilo grado HPLC filtrado por una membrana de 0.45 µm. Finalmente se desgasificar la solución colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Fase móvil (F.M.) Solución de Acetonitrilo:Agua (60:40).

Para preparar 1000.0 mL de F.M. se mezclaron 400.0 mL de Agua desionizada grado HPLC con 600.0 mL de Acetonitrilo grado HPLC filtrado por una membrana

de 0.45 μm . Finalmente se desgasificar la solución colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Fase móvil (F.M.) Solución de Acetonitrilo.

Para preparar 1000.0 mL de F.M. se filtra el Acetonitrilo grado HPLC por una membrana de 0.45 μm de tamaño de poro. Finalmente se desgasificar la solución colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Fase móvil (F.M.) Agua grado HPLC

Se toma un volumen de 1000.0 mL de agua grado HPLC y se desgasificar colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Fase móvil (F.M.) Solución amortiguadora de fosfatos 50 mM a pH 3.00.

Para preparar 1000.0 mL de F.M. se pesan 6.2236 g de fosfato monobásico de sodio y se transfiere la masa pesada a un matraz volumétrico de 1000.0 mL y se disuelve en aproximadamente 500 mL de agua desionizada grado HPLC; con micropipeta se agrega 360 μL de ácido fosfórico concentrado (85 % m/v) y utilizando un potenciómetro calibrado se ajusta la solución a pH 3.00 utilizando una solución de hidróxido de sodio 0.5 N y se lleva a volumen con agua desionizada grado HPLC. Finalmente filtrar la solución por una membrana de 0.45 μm de tamaño de poro y desgasificarla colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Fase móvil (F.M.) Solución amortiguadora de fosfatos 50 mM a pH 5.00.

Para preparar 1000.0 mL de F.M. se pesan 6.9302 g de fosfato monobásico de sodio y se transfiere la masa pesada a un matraz volumétrico de 1000.0 mL. Se pesa 0.0541 g de fosfato dibásico de sodio y se coloca al mismo matraz de 1000.0 mL, se disuelven en aproximadamente 500 mL de agua desionizada grado HPLC y utilizando el potenciómetro calibrado ajusta la solución a pH 5.00 utilizando una solución de hidróxido de sodio 0.5 N y se lleva a volumen con agua desionizada grado HPLC. Finalmente filtrar la solución por una membrana de 0.45 μm de

tamaño de poro y desgasificarla colocándola a vacío con agitación vigorosa por 20 min.

Medio de disolución de acetatos 0.05 M a pH 4.50.

Para preparar 1000.0 mL de medio de disolución se pesan 1.3108 g de acetato de amonio y se transfiere la masa pesada a un matraz volumétrico de 1000.0 mL y se disuelve en aproximadamente 500 mL de agua destilada, utilizando una pipeta volumétrica se agrega 2.0 mL de ácido acético glacial. Se ajusta el pH con una solución de hidróxido de sodio 0.5 N y se lleva a volumen con agua destilada. Para desgasificar el medio de disolución se utiliza el método descrito en la FEUM 11^a edición, el medio de disolución se calienta a una temperatura de 45 °C y posteriormente es filtrado por una membrana de 0.45 µm de tamaño de poro e inmediatamente el medio de disolución filtrado se agita vigorosamente durante 10 min a vacío y el medio de disolución se debe utilizar inmediatamente.

Medio de disolución de fluido gástrico simulado sin enzima

Se prepara como está descrito en la FEUM 11^a edición. Pesar 2.0 g de cloruro y transferir la masa pesada a un matraz volumétrico de 1000.0 mL y se disuelve en aproximadamente 500 mL de agua destilada, posteriormente se agregan 7.0 mL de ácido clorhídrico y esta solución tiene un pH aproximado de 1.2. Para desgasificar el medio de disolución se utiliza el método descrito en la FEUM 11^a edición, el medio de disolución se calienta a una temperatura de 45 °C y posteriormente es filtrado por una membrana de 0.45 µm de tamaño de poro e inmediatamente el medio de disolución filtrado se agita vigorosamente durante 10 min a vacío y el medio de disolución se debe utilizar inmediatamente.

ANEXO B. GROMATOGRAMAS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN NIVEL 1 DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

```

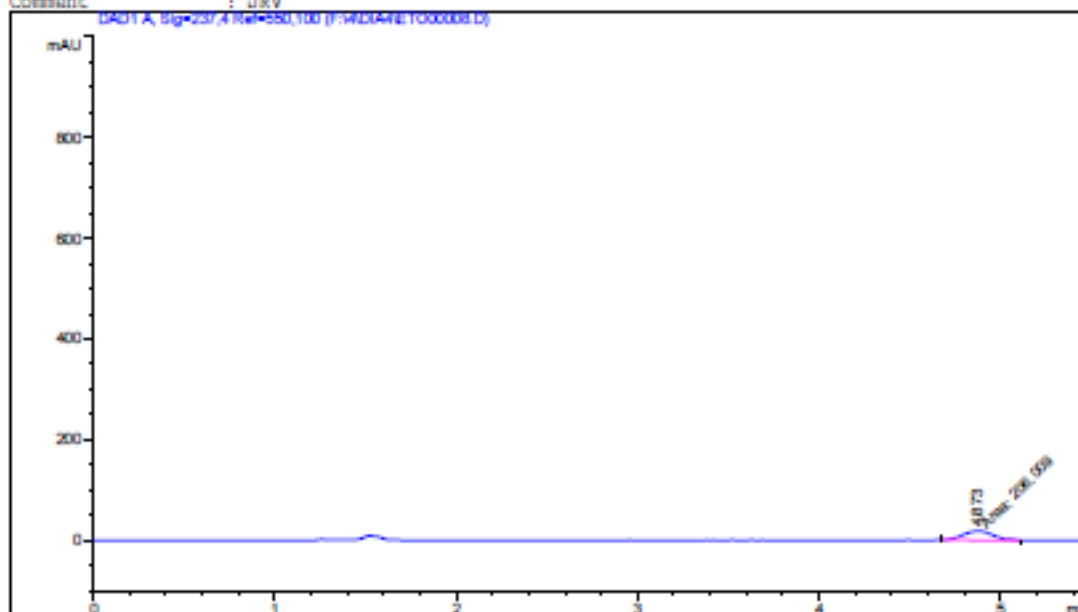
=====
Injection Date : 10/19/2017 2:55:03 PM      Seq. Line : 8
Sample Name    : CINI                       Vial : 1
Acq. Operator  : JRV                       Inj : 1
Acq. Instrument : Desarrollo Analitico      Inj Volume : 10 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\STORICO.M
Last changed   : 10/19/2017 12:28:05 PM by JRV
Analysis Method : F:\MEDLINE\STORICO.M
Last changed   : 10/19/2017 12:28:05 PM by JRV
=====

```

```

Column Description : Phenomenex
Product#          :                               Batch#: UAC/003
Serial#          : 516478/7
Diameter         : 4.6 mm                       Length : 150.0 mm
Particle size    : 5.0 µm                       Void volume : 68.0 %
Maximum Pressure : 400 bar                       Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 40 °C
Comment         : JRV

```



Area Percent Report with Performance and Noise

```

Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000

```

```

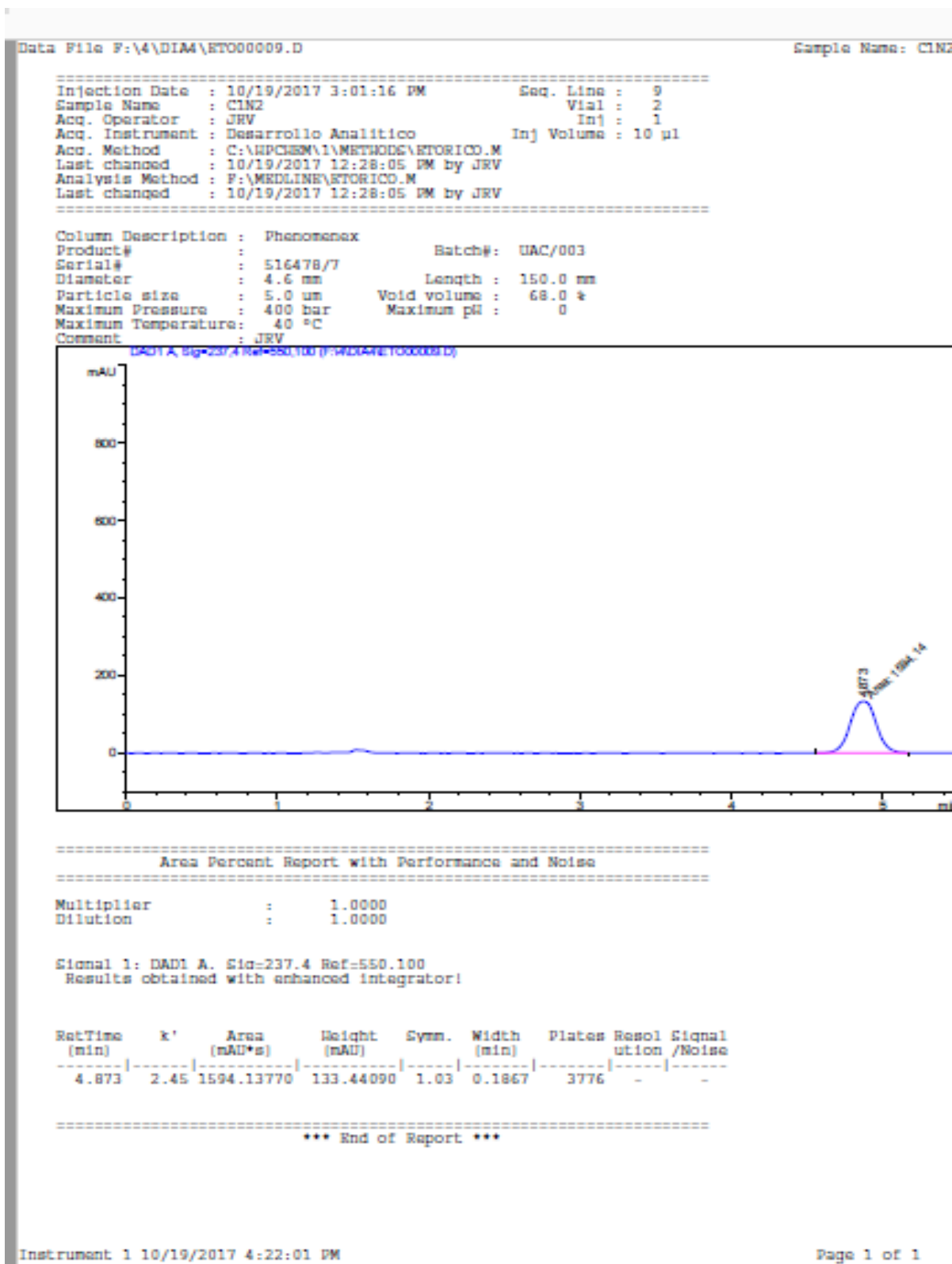
Signal 1: DAD1 A, Sig=237.4 Ref=550.100
Results obtained with enhanced integrator!

```

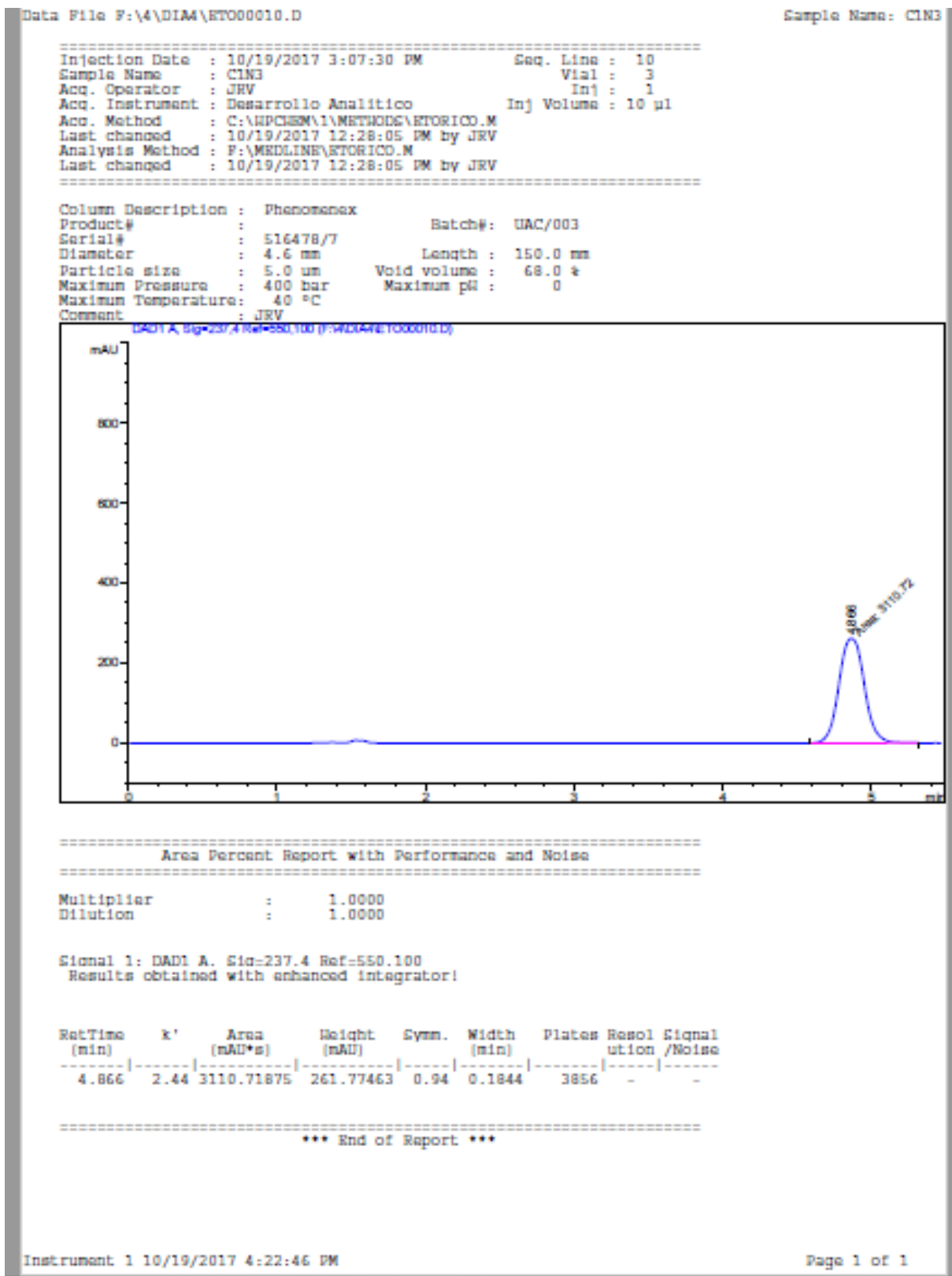
RetTime (min)	k'	Area (mAU*s)	Height (mAU)	Symm.	Width (min)	Plates	Resol	Signal /Noise
4.873	2.45	206.00880	17.66838	0.91	0.1822	3962	-	-

*** End of Report ***

NIVEL 2 DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN



NIVEL 3 DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN



NIVEL 4 DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Data File F:\4\DIAM\STO00011.D

Sample Name: CIN4

```

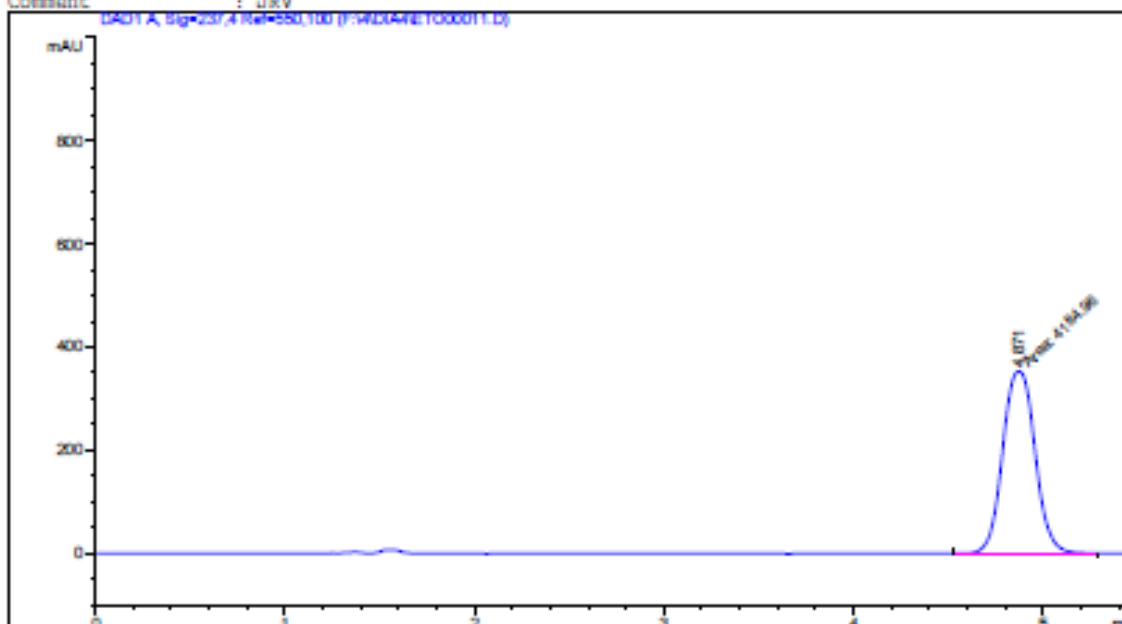
=====
Injection Date : 10/19/2017 3:13:43 PM      Seq. Line : 11
Sample Name   : CIN4                        Vial      : 4
Acq. Operator : JRV                         Inj       : 1
Acq. Instrument : Desarrollo Analitico      Inj Volume: 10 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\STORICO.M
Last changed  : 10/19/2017 12:28:05 PM by JRV
Analysis Method : F:\MSDLINK\STORICO.M
Last changed  : 10/19/2017 12:28:05 PM by JRV
=====

```

```

=====
Column Description : Phenomenex
Product#           :                               Batch#: UAC/003
Serial#            : 516478/7
Diameter           : 4.6 mm                       Length : 150.0 mm
Particle size      : 5.0 µm                       Void volume : 68.0 %
Maximum Pressure   : 400 bar                       Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 40 °C
Comment            : JRV
=====

```



```

=====
Area Percent Report with Performance and Noise
=====

```

```

Multiplier      : 1.0000
Dilution         : 1.0000

```

```

Signal 1: DAD1 A, Sig=237.4 Ref=550.100
Results obtained with enhanced integrator!

```

RetTime (min)	k'	Area (mAU*s)	Height (mAU)	Symm.	Width (min)	Plates	Resol	Signal
4.871	2.45	4184.95996	353.62119	0.95	0.1844	3864	-	-

```

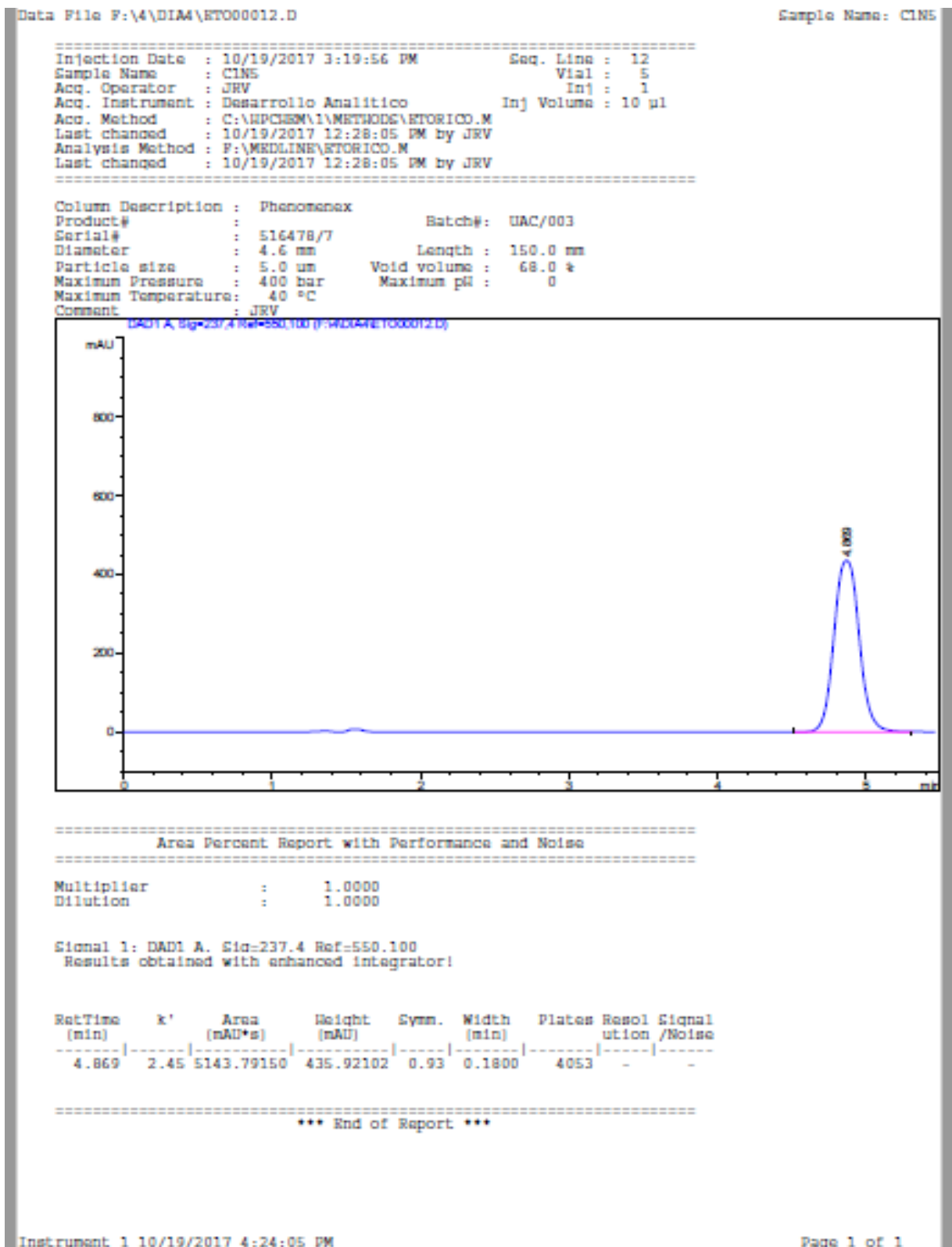
=====
*** End of Report ***
=====

```

Instrument 1 10/19/2017 4:23:34 PM

Page 1 of 1

NIVEL 5 DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN



**ANEXO C. DATOS CRUDOS PARA DESARROLLO DEL PERFIL DE
DISOLUCIÓN**

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

1

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
10	482626652	507112987
20	494059512	487382686
30	494382779	491837453
45	487315125	489664699
60	486592285	485558649

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

2

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
5	555497002	508384211
15	515368450	509936973
30	519887891	506393154
45	505345156	505186086
60	502473620	501470233

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

3

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
5	295732473	302424564
15	456202397	452699022
30	480644666	489118456
45	485538926	501117547
60	482403906	495148315

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

4

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
10	339810545	337374817
20	427995655	426038915
30	461465316	457498416
45	481379723	476031531
60	486218829	482889386

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

5

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
10	501402642	504754610
20	511152466	504272088
30	507311601	502498247
45	507423640	499509441
60	501638568	494695349

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

6

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
10	318393212	300635395
20	415803089	404297015
30	457513282	448949178
45	480611012	477805797
60	524430694	488361640

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

7

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
5	496675181	493518164
15	499993091	498898495
30	499884299	498535970
45	497050984	496591906
60	494186712	493295435

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL EXPERIMENTO

8

Tiempo (min)	Área (mAU*s)	
	Área 1	Área 2
5	220425695	238998126
15	434788032	437016857
30	485321122	485161062
45	491386027	493301918
60	491109729	494688770

ÁREAS OBTENIDAS PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE CONTROL FARMACÉUTICO

Tiempo (min)	Área (mAU*s)			
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
5	1871.33447	1912.35938	2012.23657	2075.43652
15	3493.50879	3406.69922	3584.51636	3551.4248
30	4331.11572	4202.77686	4338.56494	4353.84912
45	4673.51465	4512.12549	4619.27734	4631.55469
60	4776.77832	4619.80566	4711.6792	4723.76855

ANEXO D. EJEMPLO DE CÁLCULO PARA EL PERFIL DE DISOLUCIÓN

Para el siguiente ejemplo se toman como ejemplo las áreas del perfil de disolución del control farmacéutico.

Tiempo (min)	Área (mAU*s)			
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
5	1871.33447	1912.35938	2012.23657	2075.43652
15	3493.50879	3406.69922	3584.51636	3551.4248
30	4331.11572	4202.77686	4338.56494	4353.84912
45	4673.51465	4512.12549	4619.27734	4631.55469
60	4776.77832	4619.80566	4711.6792	4723.76855

- 1) Se obtiene la ecuación de la recta de la curva de calibración, para el perfil de disolución de ese día se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\text{Área} = 34.3 * \text{Concentración } (\mu\text{g/mL}) + 14.061 (\mu\text{g/mL})$$

- 2) Se despeja la concentración para cada área obtenida:

$$\text{Concentración } (\mu\text{g/mL}) = [\text{Área} - 14.061 (\mu\text{g/mL})]/(34.3)$$

Tiempo (min)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)			
	1	2	3	4
5	54.1487	55.3447	58.2566	60.0992
15	101.4430	98.9121	104.0963	103.1316
30	125.8634	122.1217	126.0806	126.5262
45	135.8460	131.1407	134.2647	134.6227
60	138.8566	134.2801	136.9587	137.3111

- 3) Se calcula la cantidad extraída de fármaco en los 5 mL de alícuota muestreada en cada tiempo.

$$\text{Cantidad muestreada (mg)} = [5 * \text{concentración } (\mu\text{g/mL})] * (1 \text{ mg}/1000 \mu\text{g}) + \text{cantidad muestreada anterior (mg)}$$

Tiempo (min)	Cantidad extraída (mg)			
	1	2	3	4
5	0.2707	0.2767	0.2913	0.3005
15	0.7780	0.7713	0.8118	0.8162
30	1.4073	1.3819	1.4422	1.4488
45	2.0865	2.0376	2.1135	2.1219
60	2.7808	2.7090	2.7983	2.8085

4) Se calcula la cantidad de fármaco disuelto en el vaso de disolutor:

$$\text{Cantidad vaso de disolutor (mg)} = [\text{Volumen del vaso} * \text{concentración } (\mu\text{g/mL})] * \\ (1 \text{ mg}/1000 \mu\text{g})$$

Tiempo (min)	Cantidad en el vaso del disolutor (mg)			
	1	2	3	4
5	48.4630	49.5335	52.1397	53.7888
15	90.2843	88.0318	92.6457	91.7871
30	111.3891	108.0777	111.5813	111.9757
45	119.5445	115.4038	118.1530	118.4679
60	121.4996	117.4951	119.8389	120.1473

5) Se suma la cantidad extraída más la cantidad disuelta en el vaso del disolutor en el tiempo n.

$$\text{Cantitas total disuelta (mg)} = \text{Cantidad extraída en el tiempo n (mg)} + \\ \text{Cantidad vaso de disolutor en el tiempo n (mg)}$$

Tiempo (min)	Cantidad total disuelta (mg)			
	1	2	3	4
5	48.7338	49.8103	52.4310	54.0893
15	91.0622	88.8030	93.4575	92.6032
30	112.7964	109.4596	113.0235	113.4245
45	121.6310	117.4414	120.2664	120.5898
60	124.2804	120.2041	122.6371	122.9557

6) Se calcula el % disuelto del fármaco para cada tiempo de muestreo.

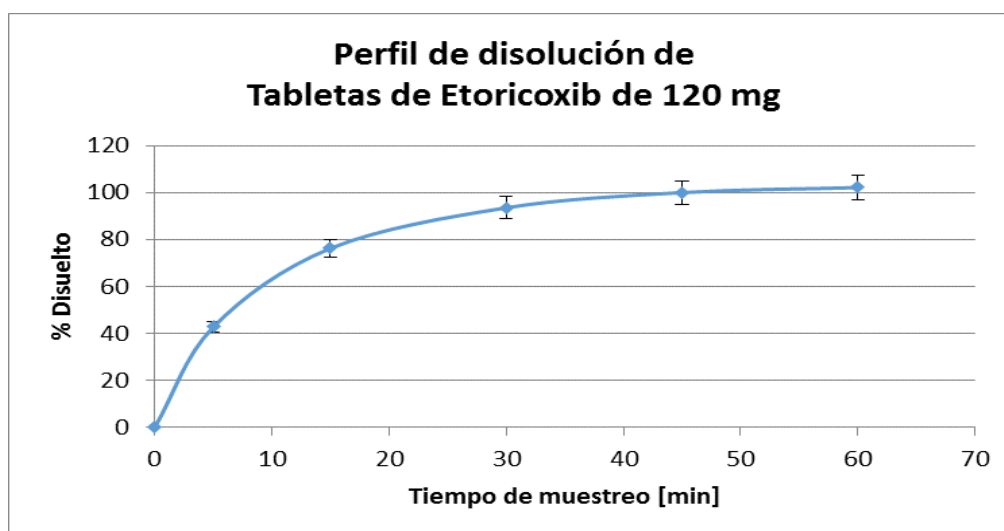
$\% \text{ Disuelto} = (\text{cantidad total disuelta en el tiempo } n \text{ (mg)} / 120 \text{ mg de Etoricoxib}) * 100 \%$

Tiempo (min)	% Disuelto			
	1	2	3	4
5	41	42	44	45
15	76	74	78	77
30	94	91	94	95
45	101	98	100	100
60	104	100	102	102

7) Se calcula el promedio de del % disuelto para cada punto de muestreo, desviación estándar y coeficiente de variación.

Tiempo (min)	% Disuelto de Etoricoxib				Promedio	DE	CV %
	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4			
5	41	42	44	45	43	1.8	4.1
15	76	74	78	77	76	1.5	1.9
30	94	91	94	95	93	1.3	1.4
45	101	98	100	100	100	1.3	1.3
60	104	100	102	102	102	1.2	1.2

8) Se grafica el % disuelto promedio vs tiempo (min):



ANEXO E. CÁLCULO DE LA POLARIDAD Y PROPORCIÓN DE DISOLVENTE

Para conocer la proporción de disolventes que se deben utilizar para obtener una disolución final con una polaridad requerida, se resolvió el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\% X * P_X + \% Y * P_Y + \% N * P_N = T \dots\dots\dots (1)$$

$$\% X + \% Y + \% N = 100 \% \dots\dots\dots (2)$$

Donde:

% X, Y y N: Porcentaje del disolvente X, Y y N en la mezcla de disolventes.

$P_{X,Y,N}$: Índice de Polaridad del disolvente X, Y y N.

Se utilizaron los índices de polaridad que se presentan en la siguiente tabla:

Disolvente	Índice de refracción ^a	Viscosidad, cP ^b	Punto de ebullición °C	Índice de polaridad, P'	Fuerza eluyente ^c
Fluoroalcanos ^d	1,27-1,29	0,4-2,6	50-174	<-2	-0.25
Ciclohexano	1.423	0.90	81	0.04	-0.2
n-Hexano	1.372	0.30	69	0.1	0.01
1-Clorobutano	1.400	0.42	78	1.0	0.26
Tetracloruro de carbono	1.457	0.90	77	1.6	0.18
iso-Propileter	1.365	0.38	68	2.4	0.28
Tolueno	1.494	0.55	110	2.4	0.29
Dietileter	1.350	0.24	35	2.8	0.38
Tetrahidrofurano	1.405	0.46	66	4.0	0.57
Cloroformo	1.443	0.53	61	4.1	0.40
Etanol	1.359	1.08	78	4.3	0.88
Acetato de etilo	1.370	0.43	77	4.4	0.58
Dioxano	1.420	1.2	101	4.8	0.56
Metanol	1.326	0.54	65	5.1	0.95
Acetonitrilo	1.341	0.34	82	5.8	0.65
Nitrometano	1.380	0.61	101	6.0	0.64
Etilenglicol	1.431	16.5	182	6.9	1.11
Agua	1.333	0.89	100	10.2	Grande

a= a 25°C

Ejemplo de cálculo 1:

Para tener una proporción de Agua:Acetonitrilo con polaridad de 7.1, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Agua} * P_{H_2O} + \% \text{ Acetonitrilo} * P_{ACN} = 7.1 \dots \dots \dots (1)$$

$$\% \text{ Agua} + \% \text{ Acetonitrilo} = 100 \% \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

% Agua: Porcentaje de agua en la mezcla de disolventes.

% Acetonitrilo: Porcentaje de Acetonitrilo en la mezcla de disolventes.

P_{H_2O} : Índice de Polaridad del Agua.

P_{ACN} : Índice de Polaridad del Acetonitrilo.

Al resolver el sistema de ecuaciones se tiene que se necesita una proporción de Agua:Acetonitrilo (30:70), para obtener una disolución final con polaridad de 7.1.

Ejemplo de cálculo 2:

Para tener una proporción de Agua:Acetonitrilo con polaridad de 8.5, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Agua} * P_{H_2O} + \% \text{ Acetonitrilo} * P_{ACN} = 8.5 \dots \dots \dots (1)$$

$$\% \text{ Agua} + \% \text{ Acetonitrilo} = 100 \% \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

% Agua: Porcentaje de agua en la mezcla de disolventes.

% Acetonitrilo: Porcentaje de Acetonitrilo en la mezcla de disolventes.

P_{H_2O} : Índice de Polaridad del Agua.

P_{ACN} : Índice de Polaridad del Acetonitrilo.

Al resolver el sistema de ecuaciones se tiene que se necesita una proporción de Agua:Acetonitrilo (61:39), para obtener una disolución final con polaridad de 8.5.

ANEXO F. MÉTODO DE DISOLUCIÓN Y PERFIL DE DISOLUCIÓN DE TABLETAS DE ETORICOXIB DE 120 mg

1. Preparación y desgasificación del medio de disolución:

1.1. Seguir los pasos descritos en el Anexo A, para la preparación de medio de disolución de acetatos 0.05 M a pH 4.50.

2. Aparato de disolución:

2.1. Realizar el método de disolución bajo las siguientes condiciones de disolución:

Equipo	Condición de Operación
Disolutor LABINDIA DS 8000	Producto: Etoricoxib tabletas 120 mg.
	Volumen de medio de disolución: 900 mL.
	Aparato de disolución: Tipo II de paletas.
	Velocidad de Agitación: 75 r/min.
	Temperatura del vaso: 37 ± 0.5 °C.
	Tiempo de Muestreo: 0, 5, 15, 30, 45 y 60 minutos.
	Volumen de la muestra: 5 mL (purgar con 3 mL y colocar en un vial para HPLC previamente identificado).

3. Elaboración de la curva de calibración de Etoricoxib:

3.1. Pesar con exactitud aproximadamente 15.0 mg de estándar de Etoricoxib y transferir la masa pesada a un matraz volumétrico de 50.0 mL, disolver en un volumen aproximado de 20 mL de MEOH grado R.A y sonicar la solución por 15 min.

3.2. Dejar que la solución llegue a temperatura ambiente y llevar a volumen con medio de disolución de acetatos 0.05 M ajustado a pH 4.50 (ver anexo A, preparación de medio de disolución de acetatos 0.05 M a pH 4.50), ésta solución stock tiene una concentración final de 300 µg/mL.

3.3. De la solución stock de 300 µg/mL de Etoricoxib, tomar las alícuotas utilizando pipetas volumétricas y llevar a volumen en matraces

volumétricos con medio de disolución de acetatos 0.05 M ajustado a pH 4.50 como se muestra en la siguiente tabla:

Nivel	Stock de Etoricoxib	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración (µg/mL)
1	300 µg/mL.	0.5	25	6
2		3.0	20	45
3		6.0	20	90
4		10.0	25	120
5		10.0	20	150

3.4. Colocar un volumen aproximado de 1.5 mL de cada nivel de la curva de calibración en un vial para su posterior inyección en el CLAR.

4. Cromatógrafo HPLC 1050:

4.1. Fase Móvil:

4.1.1. Fase Móvil A: seguir los pasos descritos en el Anexo A, para preparar 1 L de fase móvil de solución amortiguadora de fosfatos 50 mM a pH 3.00.

4.1.2. Fase Móvil B: seguir los pasos descritos en el Anexo A, para preparar 1 L de fase móvil de solución de Acetonitrilo.

4.2. Condiciones cromatográficas:

4.2.1. Ajustar el CLAR con las siguientes condiciones de operación:

Equipo	Condición de Operación
HPLC 1050	Longitud de onda: 237 nm.
	Columna: Phenomenex C18 4.6 x 150 mm, 5 µm.
	Fase Móvil: Indicar al cromatógrafo tomar una proporción de: - Fase Móvil A: 61 %. - Fase Móvil B: 39 %.
	Velocidad de Flujo: 1.2 mL/min
	Volumen de inyección: 10 µL
	Tiempo de corrida: 6.5 min.

4.3. Secuencia de inyección:

4.3.1. Adecuabilidad del sistema:

4.3.1.1. Realizar al menos 6 inyección consecutivas del nivel 3 de la curva de calibración.

4.3.1.2. A partir de la respuesta de cada inyección (Área del pico), obtener el área promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

4.3.1.3. El coeficiente de variación debe ser menor o igual al 2.0 %, para poder continuar con la inyección de las muestras.

4.3.2. Inyectar el blanco (medio de disolución).

4.3.3. Inyectar de la curva de calibración, de menor a mayor concentración.

4.3.4. Inyectar las muestras obtenidas de la disolución del medicamento, del menor al mayor tiempo de muestreo.

Nota: El pico cromatográfico que corresponde al etoricoxib se detecta de manera pronunciada en un rango de tiempo de 4.4 min – 6.3 min.

5. Tratamiento de los datos:

5.1. Integrar los picos de cromatográficos obtenidos.

5.2. Con los datos de la curva de calibración calcular el porcentaje de etoricoxib disuelto.

6. Cálculo del porcentaje de Etoricoxib disuelto:

6.1. Realizar el cálculo como se indica en el Anexo D.

