



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

USO DE MEDIOS BIORRELEVANTES PARA PREDECIR LA
BIODISPONIBILIDAD DE MELOXICAM

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. AMAYRANI MAYEN MORENO

M. en C. JUAN MANUEL RODRÍGUEZ
DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUÍMICA

Ciudad de México, enero 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

USO DE MEDIOS BIORRELEVANTES PARA PREDECIR LA
BIODISPONIBILIDAD DE MELOXICAM

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

(Q.F.B. AMAYRANI MAYEN MORENO)

M. en C. JUAN MANUEL RODRÍGUEZ
DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUÍMICA



Ciudad de México, enero 2023

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	Dra. Raquel López Arellano
VOCAL	Dra. Helgi Helen Francisca Jung Cook
VOCAL	Dra. Luz María Melgoza Contreras
VOCAL	Dra. María Josefa Bernad Bernad
SECRETARIA	Dra. Elizabeth Piñón Segundo

LUGAR DÓNDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 112 del “conjunto E” correspondiente al Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

M. en C. Juan Manuel Rodríguez
Tutor

Q.F.B. Amayrani Mayen Moreno
Sustentante

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, porque a través de su programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas me permite dar un paso muy importante en mi formación académica.

Al **M. en C. Juan Manuel Rodríguez**, quien en estos años no ha dudado en compartir sus conocimientos conmigo y a través de su guía, apoyo y disposición hizo posible la realización de este proyecto.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada para hacer posible mis estudios de posgrado (CVU 1084659).

A las integrantes del jurado, por la revisión y correcciones a este trabajo.

A Emmanuel Zeno, por ser mi compañero de vida y apoyarme incondicionalmente.

A mis amigos y familia, por motivarme siempre.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
3	ANTECEDENTES.....	2
3.1	Disolución de formas farmacéuticas orales.....	2
3.2	Perfiles de disolución.....	3
3.3	Medios biorrelevantes	4
3.4	Correlación <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i>	5
3.5	Meloxicam	6
3.6	Validación de métodos analíticos	7
4	JUSTIFICACIÓN.....	8
5	OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	9
5.1	Objetivos	9
5.2	Hipótesis.....	9
6	METODOLOGÍA	10
6.1	Equipos, instrumentos y reactivos.....	10
6.2	Preparación de soluciones	11
6.3	Método analítico para la cuantificación de meloxicam.	12
6.3.1	Validación del método con medio biorrelevante	14
6.4	Perfiles de disolución.....	14
6.5	Estudio de correlación <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i>	15
7	Resultados.....	16
7.1	Método analítico para la cuantificación de meloxicam por HPLC.....	16
7.1.1	Validación del método analítico en medio biorrelevante.	17
7.2	Perfiles de disolución de meloxicam	19
7.3	Estudio de correlación <i>in vitro-in vivo</i>	21
7.3.1	Correlación <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i> con datos obtenidos de perfil de disolución en medio farmacopéico.....	21
7.3.2	Correlación <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i> con datos obtenidos de perfil de disolución en medio biorrelevante.....	23
7.3.3	Comparación entre los modelos de correlación.....	24
8	CONCLUSIONES	26
9	REFERENCIAS.....	27
10	ANEXOS	I
A.	Validación del sistema para método de cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución para meloxicam.	I
B.	Perfiles de disolución.	III

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de algunos medios de disolución biorrelevantes de acuerdo con Biorrelevant.com	4
Tabla 2. Composición del medio de disolución FaSSIF (5)	11
Tabla 3. Soluciones para curva de calibración	12
Tabla 4. Condiciones cromatográficas (15)	12
Tabla 5. Condiciones para perfiles de disolución.	14
Tabla 6. Parámetros farmacocinéticos (17).	15
Tabla 7. Parámetros cromatográficos obtenidos.	16
Tabla 8. Error estándar debido a la regresión, coeficiente de correlación y coeficiente de determinación correspondientes con la linealidad del método.	17
Tabla 9. Resultados correspondientes con la exactitud y repetibilidad del método para producto de referencia de meloxicam en medio FaSSIF.	18
Tabla 10. Porcentajes recuperados de dos días distintos de trabajo para evaluar la reproducibilidad intradía del método.	18
Tabla 11. Promedio de porcentajes disueltos obtenidos de los perfiles de disolución de producto de referencia de meloxicam, tabletas de 15 mg en dos distintos medios de disolución.	19
Tabla 12. Comparación de dos perfiles de meloxicam; R = meloxicam en medio de disolución de fosfatos pH de 7.5; T = meloxicam en medio de disolución FaSSIF de pH 6.5.	20
Tabla 13. Concentración plasmática obtenida de la simulación con datos obtenidos de la literatura.	21
Tabla 14. Valores observados para la correlación in vitro- in vivo en medio farmacopéico obtenidos en el paquete ivivc de R (20)	22
Tabla 15. Valores predichos obtenidos de la correlación in vitro-in vivo en medio farmacopéico.	22
Tabla 16. Valores observados para la correlación in vitro- in vivo en medio biorrelevante.	23
Tabla 17. Valores predichos obtenidos de la correlación in vitro-in vivo en medio biorrelevante.	24
Tabla 18. Comparativa de los datos de correlación in vitro-in vivo.	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del meloxicam.	6
Figura 2. Pico de una inyección de estándar de meloxicam obtenido con el método de cuantificación previamente validado.	16
Figura 3. Pico de una inyección de estándar de meloxicam reproduciendo las condiciones del método de cuantificación previamente validado.	16
Figura 4. Curva de calibración promedio de producto de referencia de meloxicam en medio FaSSIF.	17
Figura 5. Perfiles de disolución de producto de referencia de meloxicam.	20
Figura 6. Correlación in vitro-in vivo (Fracción absorbida vs Fracción disuelta) de meloxicam obtenida con datos de disolución en medio A: farmacopéico (fosfatos pH de 7.5) y B: biorrelevante (FaSSIF pH 6.5).	25

ABREVIATURAS

%	Porcentaje	h	Hora
% CV	Porcentaje de coeficiente de variación.	HPLC	High performance liquid chromatography
%PE	Porcentaje de error de la predicción	Ka	Constante de velocidad de absorción.
≥	Mayor o igual que	Ke	Constante de velocidad de eliminación.
≤	Menor o igual que	µg	Microgramo
±	Más o menos que	µg/mL	Microgramos por mililitro
σ	Desviación estándar	m	Pendiente
°C	Grado Celsius	M	Concentración molar
#	Número	min	Minutos
ABC	Área bajo la curva	mg	Miligramos
ABC^{0-Inf}	Área bajo la curva del tiempo cero a infinito	mg/mL	Miligramos por mililitro
ANOVA	Análisis de varianza	mL	Mililitro
b	Ordenada al origen	mL/min	Mililitro por minuto
bar	Presión en bares	mm	Milímetro
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución.	nm	Nanómetro
cm	Centímetro	mUA	Miliunidades de absorbancia
Cmax	Concentración plasmática máxima.	n	Número de muestras
Cp	Concentración plasmática	NOM	Norma Oficial Mexicana
CR	Con refrigeración	pH	Menos logaritmo de la concentración de hidrógeno
COX	Ciclooxigenasa	pKa	Logaritmo negativo de la constante de disociación de acidez.
DE	Desviación estándar	r	Coficiente de correlación
F	Biodisponibilidad	R²	Coficiente de determinación
FaSSIF	Fluido intestinal simulado en estado de ayuno	rpm	Revoluciones por minuto
ERR	Error relativo a la regresión	SR	Sin refrigeración
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.	USP	United States Pharmacopeia
FR	Factor respuesta	UV	Ultra visible
f2	Factor de similitud	vs.	Contra
g	Gramo		

1 INTRODUCCIÓN

En las formas farmacéuticas orales, los estudios de disolución pueden utilizarse para respaldar la bioexención de estudios de bioequivalencia, en aquellos productos donde se realizan cambios en la formulación o en la concentración del principio activo; aunque actualmente se realizan este tipo de estudios, las condiciones farmacopéicas en las que se llevan a cabo no permiten la descripción adecuada del desempeño del producto farmacéutico *in vivo*.

Los medios biorrelevantes son una alternativa viable, ya que están basados en la composición de los fluidos de la luz gastrointestinal, por lo que pueden resultar importantes para predecir, con ayuda de las correlaciones *in vitro* - *in vivo*, el comportamiento del fármaco en condiciones fisiológicas; medicamentos de clase biofarmacéutica II, como el meloxicam, pueden ser sometidos a este tipo de correlaciones con el fin de conocer cómo sería su biodisponibilidad.

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de que el uso de los medios biorrelevantes ha aumentado en los últimos años, son escasos los estudios de disolución en éstos medios para formas farmacéuticas orales de meloxicam que, al pertenecer al sistema de clasificación biofarmacéutica II, tiene una biodisponibilidad limitada por la disolución. Los estudios de disolución *in vitro*, al ser realizados en medios farmacopéicos, no muestran cómo podría ser el desempeño del producto *in vivo*.

Realizar estudios de disolución en medios que simulen las condiciones del tracto gastrointestinal, permitiría conocer la aplicabilidad del uso de medios biorrelevantes sobre la predicción de algunos parámetros farmacocinéticos, para ello se requiere generar un modelo de correlación *in vitro* - *in vivo* que permita predecirlos y así poder evaluar si de esta forma se puede apoyar la bioexención, en los casos donde haya cambios en la formulación del medicamento o se plantee una nueva dosis del mismo.

3 ANTECEDENTES

3.1 Disolución de formas farmacéuticas orales

Cuando se administran formas farmacéuticas sólidas orales hay una serie de pasos que ocurren para que el fármaco llegue a la circulación sistémica, en primer lugar se libera de su forma farmacéutica, en un segundo paso ocurre la disolución que puede ocurrir en el estómago y/o intestino delgado, la tercera parte se conoce como absorción y consiste en la permeación a través de la membrana gastrointestinal, posteriormente pasa al hígado y finalmente llega a la circulación sistémica (1).

La disolución es un proceso muy importante ya que de esta depende que el fármaco se absorba adecuadamente, hay diferentes factores que pueden afectarla y podrían dividirse de la siguiente forma:

- Los relacionados con las propiedades fisicoquímicas de las sustancias.
 - Solubilidad, tamaño de partícula, estado cristalino.
- Los relacionados con la formulación y proceso de fabricación.
 - Formulación, tipo de diluentes y desintegrantes, lubricantes, método de granulación, fuerza de compresión, si son formas de liberación modificada.
- Factores relacionados con la prueba de disolución.
 - Equipo: Velocidad de agitación, automatización, calibración.
 - Medio de disolución: pH, tensión superficial, viscosidad, desgasificación, fuerza iónica (2).

Los estudios de disolución proporcionan información sobre el comportamiento del fármaco en condiciones *in vitro*, son reconocidos como pruebas de desempeño, son sensibles a cambios en la formulación y a variaciones en los procesos de manufactura, como la fuerza de compresión en la producción de tabletas. Los ensayos de disolución a un solo punto forman parte de las pruebas de rutina en el control de calidad de medicamentos (3).

Estos estudios también tienen un uso regulatorio, las pruebas comparativas se han usado para exentar los requisitos de bioequivalencia en concentraciones bajas de

una forma farmacéutica (3) a esto se le conoce como bioexención, permite ahorrar dinero y tiempo en el desarrollo de nuevos productos y tiene un impacto positivo en el costo final.

Es importante tomar en cuenta que los estudios de disolución se realizan en medios compendiales, incluyen soluciones amortiguadoras que no necesariamente van a reflejar el desempeño del fármaco *in vivo*, para resolver este inconveniente, se han desarrollado medios biorrelevantes, los cuáles tienen una composición que tiene por objetivo simular las condiciones del tracto gastrointestinal a las que queda expuesto el fármaco después de su administración; esto permite estudiar principios activos en términos de su solubilidad fisiológica y comportamiento de disolución *in vitro* de tal forma que se pueda predecir el comportamiento *in vivo* (4).

También se debe considerar que los principios activos actuales tienden a ser menos solubles, más grandes y sensibles a las condiciones de la luz intestinal, el conocimiento de cómo será el efecto de estas condiciones sobre la forma de dosificación, facilitará el desarrollo de formulaciones óptimas que permitan a los fármacos avanzar hacia los ensayos clínicos de forma más rápida (5).

En el caso de los medicamentos genéricos, la FDA indica que la prueba de disolución depende de la existencia de dicha prueba en compendios farmacopéicos, así como de su uso en el control de calidad para el medicamento de referencia, es decir, se debe realizar la prueba descrita en la USP, en caso de que exista (3).

3.2 Perfiles de disolución

De acuerdo con la NOM-177-SSA1-2013, se conoce como perfil de disolución a la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a diferentes tiempos, en condiciones experimentales controladas, a partir de una forma farmacéutica; de acuerdo con esta norma, los perfiles de disolución se utilizan como prueba de intercambiabilidad entre medicamentos de liberación inmediata.

Otro uso de los perfiles de disolución es apoyar la bioexención cuando un laboratorio pretende lanzar un producto con una nueva concentración, el producto de prueba que se pretende bioexentar debe tener las mismas proporciones en las

concentraciones de sus componentes, su perfil de disolución debe mostrar similitud con el producto de prueba que ya mostró bioequivalencia.

La FDA menciona que la comparación por perfiles de disolución permite conocer la uniformidad de un producto cuando este ha tenido cambios a escala posteriores a su aprobación (SUPAC por sus siglas en inglés); también permite evitar los estudios de bioequivalencia cuando se pretende lanzar un producto cuya concentración es más baja de una forma de dosificación previamente aprobada. Así mismo se pueden apoyar exenciones para otros requisitos de bioequivalencia (3).

3.3 Medios biorrelevantes

Los medios biorrelevantes se han diseñado para imitar la condición de los fluidos presentes en el intestino en los estados de ayuno y alimentación, presentan ventajas en comparación con los amortiguadores farmacopéicos y pueden ser utilizados durante el desarrollo y ciclo de vida del producto (6). Existen diferentes medios biorrelevantes:

- Fluido gástrico simulado en ayunas (FaSSGF, por sus siglas en inglés)
- Fluido gástrico simulado en estado alimentado (FeSSGF)
- Fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FaSSIF)
- Fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) (5)

La composición de algunos de ellos se ilustra en la siguiente tabla 1.

Tabla 1. Composición de algunos medios de disolución biorrelevantes de acuerdo con *Biorrelevant.com*

	FaSSGF	FaSSIF	FeSSIF
Taurocolato (mM)	0.08	3	15
Fosfolípidos (Lectina) (mM)	0.02	0.75	3.75
Hidróxido de sodio (mM)	34	148	319
Cloruro de sodio. (mM)	59	106	203
Fosfato (mM)	-----	29	----
Ácido acético (mM)	-----	-----	144
pH	1.6	6.5	5.0

Actualmente se encuentran disponibles las actualizaciones (versiones 2) de estos medios que simulan con mayor precisión las condiciones fisiológicas, sin embargo, las primeras versiones siguen siendo ampliamente utilizadas.

Los datos de disolución en medios biorrelevantes son obtenidos del uso de aparatos farmacopéicos, los que se obtienen del aparato 2 USP (paletas) junto con las técnicas de modelado farmacocinético de base fisiológica, han sido útiles para predecir los efectos de la formulación y los alimentos sobre los niveles plasmáticos en compuestos de baja solubilidad. Con menor frecuencia se utiliza el aparato 3 USP, cuya hidrodinamia favorece la solubilización del fármaco en el estado alimentado, por otro lado, el aparato 4 USP que ha sido útil para pronosticar el perfil plasmático de fármacos poco solubles (5).

Los tres aparatos mencionados también son bastante útiles para evaluar la formulación y el efecto de los alimentos en fármacos de liberación prolongada, los aparatos 3 y 4 pueden ser utilizados para evaluar el rendimiento luminal sin modelado farmacocinético (5).

3.4 Correlación *in vitro* – *in vivo*

Una correlación *in vitro* - *in vivo*, *IVIVC* por sus siglas en inglés, es un modelo matemático predictivo que describe la relación entre una propiedad *in vitro* de una forma de dosificación, por ejemplo, la velocidad de disolución, con una respuesta *in vivo* relevante, como podría ser la concentración plasmática (7). De forma simple se puede decir que el objetivo es usar los datos *in vitro* para predecir el rendimiento *in vivo*, lo cual podría servir como un sustituto de la prueba de biodisponibilidad *in vivo*, de esta forma se pueden respaldar las bioexenciones (8).

Se considera que algunas aplicaciones de *IVIVC* son: cuantificar la liberación *in vivo* y relacionarlo con la absorción, establecer las especificaciones para la prueba de disolución, así como la relevancia clínica de la prueba *in vitro* y apoyar la bioexención (8).

De acuerdo con las guías de la FDA, se establecen niveles de correlación, estos son:

- Nivel A: Relación punto a punto entre la velocidad de disolución y la velocidad de absorción del fármaco desde una forma de dosificación.

- Nivel B: Se basa en el análisis estadístico de momentos, por ejemplo, se puede comparar el tiempo medio de disolución *in vitro* contra el tiempo medio de residencia *in vivo*.
- Nivel C: Establece la relación de un solo punto entre un parámetro de disolución, por ejemplo, el porcentaje de fármaco disuelto en cuatro horas, y un parámetro farmacocinético, como ABC, C_{max}, TC_{max}.
- C múltiple: Relaciona uno o varios parámetros farmacocinéticos de interés con la cantidad de fármaco disuelto en varios puntos del tiempo de perfil de disolución.

De los niveles mencionados, se considera que el nivel A es el que da más información y por lo tanto es el más recomendado (9).

3.5 Meloxicam

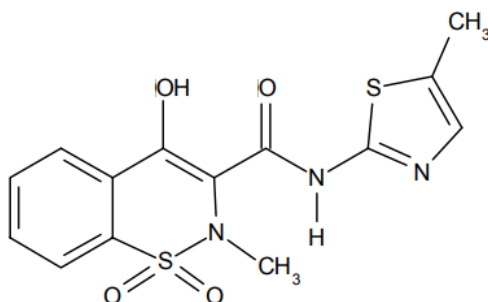


Figura 1. Estructura química del meloxicam.

El meloxicam pertenece al grupo de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos, es un inhibidor de las ciclooxigenasas, su uso terapéutico es para tratar la osteoartritis (10) y también se ha reportado su uso para artritis reumatoide. Está considerado como un fármaco de clase II, de acuerdo con el sistema de clasificación biofarmacéutica.

Con respecto a la farmacocinética del meloxicam, se conoce que después de su administración oral, tiene una biodisponibilidad del 89 %, sufre metabolismo por citocromo P450, CYP2C9 y en menor medida por CYP3A4; forma cuatro metabolitos inactivos y se considera que su farmacocinética es lineal en un rango de dosis de 7.5 a 30 mg, permanece de una dosis única a una dosis múltiple; tiene

un aclaramiento de 7 a 8 mL min⁻¹ y tiene un tiempo de vida media de eliminación de 20 horas (11).

De acuerdo con lo que se menciona en la literatura, no tiene interacciones clínicamente relevantes con alimentos ricos en grasas (12) esto quiere decir que no hay un efecto de los alimentos sobre la biodisponibilidad de meloxicam.

3.6 Validación de métodos analíticos

Para realizar perfiles de disolución, la NOM-177-SSA1-2013 establece los siguientes requerimientos en la validación del método a utilizar:

Validación con el fármaco:

- Linealidad: se establece un coeficiente de correlación mayor o igual que el 0.99 y con un error relativo a la regresión no mayor que el 2 %, para una curva de calibración por duplicado y con cinco puntos como mínimo.
- Precisión: Se calcula el factor respuesta y % CV no deberá ser mayor que el 2 %.
- Estabilidad: para ello se establecen condiciones de temperatura y tiempo, la diferencia entre el porcentaje cuantificado al inicio y al final no deben diferir en más del 3%.
- Influencia del filtro: La diferencia absoluta entre los promedios de 6 muestras filtradas y 6 muestras sin filtrar deberá ser menor del 2 %.

Validación con el medicamento:

- Linealidad: Se demuestra con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor del 3 % para tres curvas de calibración con al menos cinco puntos.
- Exactitud: Los porcentajes de recuperación de cada punto de los datos de linealidad, no deben variar en más del 3 % con la concentración nominal.
- Precisión:
 - Repetibilidad: Con los datos de exactitud se calcula el % CV que debe ser menor o igual que el 3 %.

- Reproducibilidad: Para cada analista que participe se realizan curvas de calibración por triplicado, se calcula el % CV global que debe ser menor o igual que el 3 %.
- Selectividad: Se debe demostrar que cualquier interferencia no produce un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.

La guía de la ICH (International Conference on Harmonisation) establece que una revalidación puede ser necesaria en las siguientes circunstancias:

- Cuando hay cambios en la síntesis del fármaco
- Cambios en la composición del producto terminado
- Cambios en el procedimiento analítico (13)

4 JUSTIFICACIÓN

Existen algunos trabajos sobre disolución de meloxicam en medios biorrelevantes, en uno modificaron la composición de los medios cambiaron el vaso usado en método de disolución (14), en otros trabajos muestran el uso de medios biorrelevantes para probar el éxito que podrían tener nuevas matrices en las formulaciones de meloxicam.

Como se mencionó anteriormente, los perfiles de disolución se utilizan para apoyar la bioexención, cuando se pretende comercializar una nueva concentración de un producto que ya demostró bioequivalencia. Este trabajo pretende saber si realizar una correlación *in vitro-in vivo* a partir de disolución biorrelevante permite lograr una mejor predicción sobre el desempeño de meloxicam *in vivo*, lo anterior podría ofrecer una alternativa en la presentación de nuevos productos de meloxicam.

5 OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

5.1 Objetivos

- Realizar perfiles de disolución de producto de referencia de meloxicam, utilizando un medio biorrelevante y el medio farmacopéico con la finalidad de comparar la influencia de la composición del medio en la disolución del fármaco.
- A partir de los perfiles de disolución, realizar correlaciones *in vitro* - *in vivo*, utilizando datos de bioequivalencia de meloxicam disponibles en la literatura, para conocer con qué medio se obtiene un mejor modelo.
- Comparar los modelos de correlación y determinar qué medio permite una mejor predicción del desempeño de meloxicam *in vivo*.

5.2 Hipótesis

Conocer el comportamiento de formas farmacéuticas orales de meloxicam en medios biorrelevantes, permitirá hacer una mejor predicción sobre el desempeño del producto *in vivo*.

6 METODOLOGÍA

6.1 Equipos, instrumentos y reactivos

Equipos

- Disolutor Labindia DS 8000
- Parrilla con agitación magnética Thermo scientific
- Baño de ultrasónico Cole Parmer 8894

Instrumentos

- Potenciómetro Hanna H1221
- Balanza analítica Denver instrument
- Termómetro
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Hewlett Packard 1050
- Columna WAT045905 (15 cm X 4.6 mm empacada con C18 de 5µm)

Reactivos

- NaOH pellets J. T. Baker
- FaSSIF Biorelevant®
- MeOH grado HPLC J. T. Baker
- Isopropanol Meyer®
- Fosfato monobásico de potasio Meyer® al 99 %
- Fosfato monobásico de sodio monohidrogenado Meyer® al 98 %
- Cloruro de sodio Meyer® 99%
- Estándar de meloxicam obtenido por donación del laboratorio productor del producto de referencia, tiene una pureza declarada de 99.8% en base húmeda y 99.8% base seca.
- Producto de referencia de meloxicam, Mobicox® se compraron dos cajas con:
 - Lote: 960786
 - Fecha de caducidad: junio 2022

6.2 Preparación de soluciones

Medio de disolución farmacopéico

Para preparar un litro de medio se midieron 6.8 g de fosfato monobásico de potasio, se colocaron en un recipiente y se agregaron a 800 mL de agua destilada para su agitación, se fijó el pH a 7.5 con solución de NaOH 0.5 N. Finalmente se aforó a volumen de 1 L con agua destilada.

Preparación de solución tampón de fosfatos pH= 6.5

Para un litro de solución tampón se midieron los siguientes reactivos: 0.420 g de lentejas de NaOH, 4.0347 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 6.186 g de NaCl. Posteriormente se colocaron en el mismo recipiente agregando 900 mL de agua destilada y se colocaron en parrilla de agitación; se ajustó el pH a un valor de 6.5 con soluciones de NaOH y HCl 1 M, una vez ajustado el pH se aforó a 1 L con agua destilada.

Medio biorrelevante FaSSIF

Por cada litro de medio se midieron 2.240 g de medio FaSSIF Biorelevant® se colocaron en matraz aforado de 1 L, se agregaron 900 mL de solución tampón de fosfatos de pH 6.5 y se agitó suavemente, una vez disuelto el medio biorrelevante se aforó a 1 L con el mismo tampón; una vez preparado, el medio se dejó reposar al menos 2 horas antes de su uso, y se evitó su uso después de las 48 horas de preparación.

En la tabla 5 se muestra la composición del medio biorrelevante FaSSIF de acuerdo con el proveedor.

Tabla 2. Composición del medio de disolución FaSSIF (5)

Taurocolato de sodio (mM)	3
Lectina (mM)	0.75
NaOH (mM)	148
Cloruro de sodio (mM)	106
pH	6.5
Fosfato de sodio (mM)	29
Capacidad buffer (mmol/L/ Δ pH)	10
Osmolaridad (mOsmoles/kg)	180 \pm 10

Solución madre de meloxicam [100 µg/mL]

Se pesaron 10 mg de estándar de meloxicam los cuales se colocaron en matraz aforado de 100 mL, se agregaron 2 mL de metanol y 0.5 mL de NaOH 0.1 N, se colocó el matraz en baño de ultrasonido durante cinco minutos para, posteriormente, aforar a volumen con medio de disolución (biorrelevante o de fosfatos).

Curva de calibración

A partir de la solución madre se prepararon las soluciones de la curva de calibración de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 3. Soluciones para curva de calibración

Nivel	Vol. De solución madre [mL]	Aforo [mL]	Concentración [µg/mL]
1	0.5	25	2
2	1	25	4
3	2	25	8
4	4	25	16
5	5	25	20

El aforo se realizó con medio de disolución de fosfatos o con medio biorrelevante FaSSIF dependiendo de la determinación.

6.3 Método analítico para la cuantificación de meloxicam.

Respecto al método analítico, se utilizó el método optimizado y validado en 2018 por Mayen (15) para la cuantificación para meloxicam por cromatografía de líquidos de alta resolución, las condiciones son las siguientes:

Tabla 4. Condiciones cromatográficas (15)

Columna	C18 con tamaño de partícula de 5 µm, 250 x 4.5 mm a temperatura ambiente
Volumen de inyección	20 µL
Flujo	0.5 mL/min
Detector	UV
Longitud de onda	361 nm
Tiempo de retención	4 min

Este método contempla una fase móvil formada por metanol, isopropanol y solución de fosfatos 0.05M a pH de 5.9 en proporción 51:9:40.

Se reprodujeron las condiciones antes mencionadas y se realizaron tres inyecciones de estándar de meloxicam con concentración de 8 µg/mL, esto se realizó con la finalidad de conocer si el método podía ser aplicado en este proyecto.

Validación del sistema

El método de cuantificación mencionado fue validado de acuerdo con los criterios establecidos por la NOM-177-SSA1-2013, para meloxicam en medio farmacopéico, donde se demostró que el método analítico tiene la capacidad de arrojar resultados directamente proporcionales con la concentración de meloxicam (15). Los resultados de esa validación se muestran en el anexo B de este escrito.

Influencia del filtro

Al trabajar con medios biorrelevantes se debe tomar en cuenta que el uso de una matriz más compleja podría reducir el tiempo de vida de la columna cromatográfica, para ello, el mismo proveedor del medio biorrelevante sugiere el uso de filtros de membrana, previo a la cuantificación por cromatografía de líquidos; se recomiendan aquellos de disco con un tamaño de poro de 0.45 µm y con un diámetro de 25 mm pueden ser PP, PTFE (hidrófilos) y PVDF (16).

Para evaluar si hay adherencia de meloxicam en estos filtros de membrana se realizó lo siguiente:

Se prepararon dos soluciones de estándar de meloxicam con concentraciones de 2 y 20 µg/ mL, estas concentraciones corresponden con los niveles 1 y 5 de la curva de calibración; para cada solución se tomaron seis muestras, que se midieron, sin filtrar, por cromatografía de líquidos. Posteriormente, para cada solución se tomaron otras seis muestras y cada una de ellas se pasó por filtro de membrana PVDF de 0.45 µm antes de su cuantificación.

6.3.1 Validación del método con medio biorrelevante

La validación del método con medio farmacopéico, se realizó anteriormente, los parámetros y su cumplimiento con la NOM-177-SSA1-2013 se muestran en el anexo B de este trabajo.

En este proyecto solo se validó el método con medio biorrelevante de acuerdo con la siguiente metodología:

Linealidad: Se prepararon tres curvas de calibración de acuerdo con la tabla 3, cada muestra se pasó por filtro de membrana de 0.45 µm PVDF y se midió posteriormente por HPLC.

Reproducibilidad: En un día diferente a la determinación de la linealidad, se prepararon tres curvas de calibración de las cuales se obtuvieron muestras que se pasaron por filtro de membrana y se midieron por HPLC.

6.4 Perfiles de disolución

Se utilizó el método de disolución utilizado por Mayen (15) para realizar perfiles de disolución de tabletas que contienen 15 mg de meloxicam, el método se basa en las condiciones de disolución descritas en la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos y contempla las condiciones descritas en la tabla 5. Previamente se realizaron pruebas con tabletas de meloxicam en medio biorrelevante para revisar la aplicabilidad del método en este proyecto, a partir de ello se decidió realizar un muestreo adicional a los 60 minutos, quedando el método que se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Condiciones para perfiles de disolución.

Volumen de medio	900 mL
Aparato	II (paletas)
Rotación	75 rpm
Volumen de muestra	5 mL
Reposición del medio de disolución	No
Tiempos de muestreo	5, 10, 20, 30, 45 y 60 min.
Reposición del medio de disolución	No
Unidades	12 tabletas

Al trabajar con medio FaSSIF se tuvo especial cuidado de no formar burbujas que pudieran interferir con la disolución del fármaco, por lo que este medio no se filtró, sólo se calentó a 38 °C y se utilizó para realizar los perfiles.

Se realizó un perfil de 12 tabletas de meloxicam en medio FaSSIF, y se realizó un perfil de 6 tabletas de meloxicam en medio farmacopeico. Ambos perfiles fueron comparados mediante el factor de similitud F2 con ayuda del complemento de *exel DD solver 1.0 in vitro profile comparison*. Se consideró que los perfiles son similares si estos tienen una F2 mayor a 50

6.5 Estudio de correlación *in vitro* - *in vivo*

Se realizó búsqueda en la literatura de estudios de bioequivalencia que incluyeran al producto de referencia de meloxicam; se encontró un estudio que contempló una dosis de 15 mg de fármaco y partiendo de éste, se tomaron los parámetros farmacocinéticos mostrados en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros farmacocinéticos (17).

F	0.89
C _{max}	1.18 mg/L
T _{max}	5 h
t _½	22.68 h ⁻¹
C _p a las 4, 6, 8, 12 y 24 horas	0.98, 0.93, 0.86, 0.75 y 0.84 mg/L

A partir de datos de C_p y t del mismo estudio se calculó la K_{el} (0.0299 h⁻¹) y con ella se realizó una simulación utilizando el modelo abierto de un compartimento para la administración oral, mostrado en la ecuación 1, la finalidad fue sustituir diferentes valores de K_a hasta encontrar el valor que arrojara la C_{max} reportado en el estudio de bioequivalencia. El volumen de distribución utilizado fue de 10 L (18).

$$C_p = \frac{K_a F D}{V_d (K_a - K_e)} (e^{-K_e t_{max}} - e^{-K_a t_{max}}) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Una vez conocido el valor de K_a, se procedió a calcular las concentraciones plasmáticas de meloxicam a las 0.08, 0.16, 0.33, 0.5, 0.75 y 1 horas. A partir de estos datos, se realizó la correlación *in vitro* - *in vivo* en R.

7 Resultados

7.1 Método analítico para la cuantificación de meloxicam por HPLC.

En la figura 2 se muestra el cromatograma de una muestra con concentración de 8 µg/mL de estándar de meloxicam obtenido cuando recién se validó el método, la figura 3 corresponde con un cromatograma reciente que reproduce las condiciones del método analítico validado.

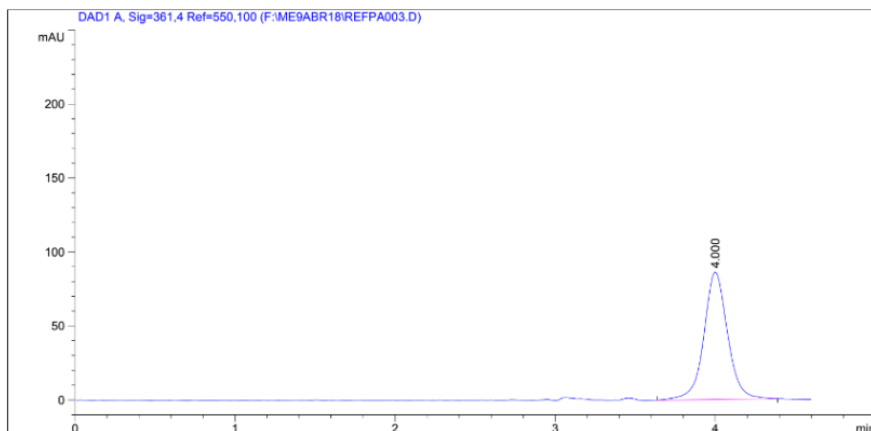


Figura 2. Pico de una inyección de estándar de meloxicam obtenido con el método de cuantificación previamente validado.

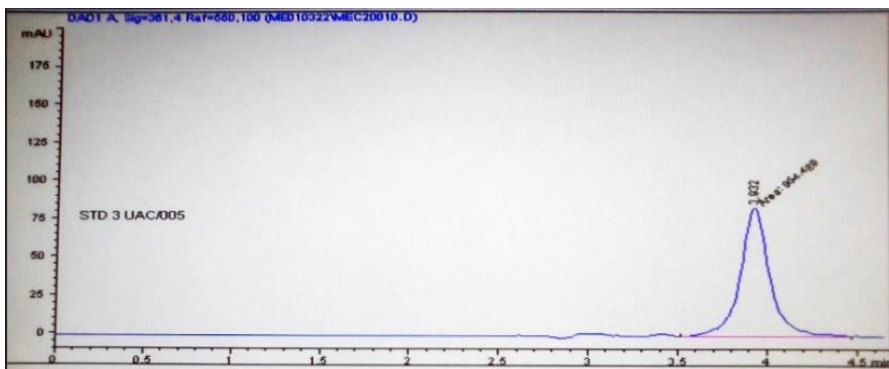


Figura 3. Pico de una inyección de estándar de meloxicam reproduciendo las condiciones del método de cuantificación previamente validado.

Tabla 7. Parámetros cromatográficos obtenidos.

	TR (min)	Simetría	# PT
	3.932	0.96	4105
	3.933	0.98	3753
	3.932	0.96	3643
Promedio	3.932	0.97	3833.67
DE	0.001	0.012	241.332
%CV	0.015	1.195	6.295

Al realizar las inyecciones de estándar de meloxicam, reproduciendo las condiciones del método validado, se observa en la tabla 7 que el tiempo de retención promedio fue de 3.932 minutos éste se acerca al esperado en dicho método; otros parámetros como la simetría, indican que el pico presenta una simetría cercana a 1, recomendada para tener un pico simétrico y con escaso coleo; los platos teóricos son mayores que 2000.

7.1.1 Validación del método analítico en medio biorrelevante.

La figura 4 muestra la curva de calibración promedio obtenida con el producto de referencia de meloxicam en medio biorrelevante, por otra parte, en la tabla 8 se observa que el error estándar debido a la regresión es de 0.8572, este valor es menor que el 3 % indicado en la NOM-SSA1-2013. El coeficiente de correlación mayor que 0.99 indica que el método puede arrojar resultados directamente proporcionales con la concentración de meloxicam.

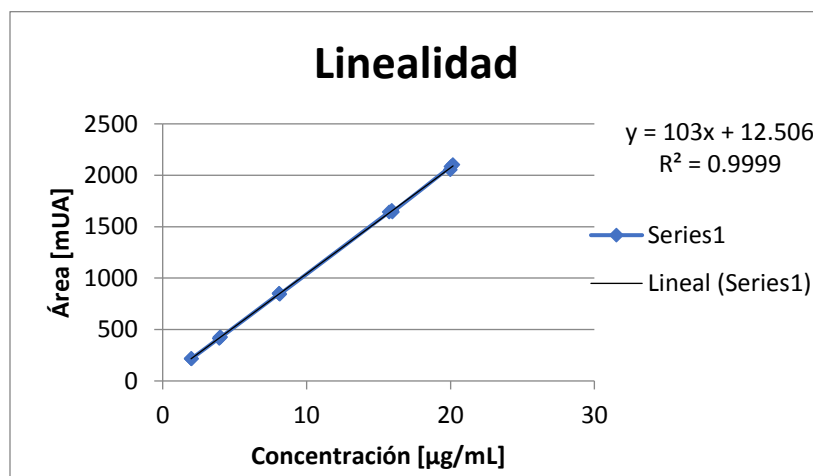


Figura 4. Curva de calibración promedio de producto de referencia de meloxicam en medio FaSSIF.

Tabla 8. Error estándar debido a la regresión, coeficiente de correlación y coeficiente de determinación correspondientes con la linealidad del método.

ERR	0.8572
Coeficiente de correlación [r]	0.9999
Coeficiente de determinación [r ²]	0.9999

La tabla 9 muestra los porcentajes recuperados que corresponden al primer día de trabajo para la determinación de la exactitud y repetibilidad del método, se puede observar que la media de porcentajes recuperados para cada nivel de la curva indica

que en ninguno de los niveles hay una variación mayor al 3% con respecto al valor nominal.

Tabla 9. Resultados correspondientes con la exactitud y repetibilidad del método para producto de referencia de meloxicam en medio FaSSIF.

Co. nominal [µg/mL]	% recuperado			Media	DE	% CV
	Día 1					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2	99.3296	98.5263	99.3645	99.0735	0.47	0.48
4	100.4744	99.4668	98.0628	99.3346	1.21	1.22
8	101.0491	101.2394	101.6251	101.3045	0.29	0.29
16	98.3304	99.5111	99.8413	99.2276	0.79	0.80
20	100.8890	100.1543	99.9183	100.3205	0.51	0.50

Por otro lado, el porcentaje de coeficiente de variación para cada nivel de la curva es menor que el 3 %, con lo anterior se prueba que el método es exacto y repetible para cuantificar muestras de meloxicam en medio biorrelevante FaSSIF.

En la tabla 10 se muestran los porcentajes recuperados de dos días distintos de trabajo con el fin de evaluar la reproducibilidad del método. La media global de porcentajes recuperados muestra que, en ninguno de los niveles hay variación mayor al 3 % con respecto al valor nominal. En ningún nivel de la curva el porcentaje de coeficiente de variación es mayor al 3 %, por lo que se concluye que el método es reproducible en diferentes días de trabajo si se trabaja en condiciones similares.

Tabla 10. Porcentajes recuperados de dos días distintos de trabajo para evaluar la reproducibilidad intradía del método.

Co. nominal [µg/mL]	Nivel %	Porcentajes recuperados [µg/mL]						Media gobar	DE	%CV
		Día 1			Día 2					
		Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2	12	99.0664	100.3586	100.6153	100.7870	100.5180	98.1441	99.9149	1.06	1.07
4	24	98.5355	99.5190	100.0681	98.2452	98.0190	99.5261	98.9855	0.83	0.84
8	48	101.4615	100.3112	99.8619	101.3444	101.8556	101.3825	101.0362	0.77	0.76
16	96	99.7783	99.8208	99.7927	99.3017	98.8922	99.4456	99.5052	0.37	0.37
20	120	99.9672	100.0843	100.1458	100.2969	100.4798	100.1719	100.1910	0.18	0.18

7.2 Perfiles de disolución de meloxicam

Los porcentajes disueltos de meloxicam se muestran en la tabla 11, el primer tiempo de muestreo tiene un porcentaje de coeficiente de variación menor que 20 %, en los tiempos subsecuentes el mismo parámetro es menor que 10 %, por lo que los perfiles de disolución pudieron ser comparados mediante el factor de similitud.

Tabla 11. Promedio de porcentajes disueltos obtenidos de los perfiles de disolución de producto de referencia de meloxicam, tabletas de 15 mg en dos distintos medios de disolución.

Solución de fosfatos pH de 7.5				
Tiempo	Mínimo (%)	Máximo (%)	Promedio (%)	%CV
5	15.2271	19.1154	16.8017	8.2904
10	40.6487	45.8757	43.1759	5.4170
20	70.0201	71.5184	70.6665	0.8576
30	78.2816	84.1924	82.1442	2.7223
45	87.5800	92.0510	89.9383	2.2775
60	90.4894	95.9410	93.4567	2.2766
FaSSIF pH de 6.5				
Tiempo	Mínimo (%)	Máximo (%)	Promedio (%)	%CV
5	9.8547	17.0483	13.2820	14.6549
10	28.4966	39.0853	33.6105	8.4735
20	56.6032	64.7159	60.8960	3.6508
30	71.9327	77.6245	75.2957	2.3122
45	83.1219	89.6778	86.0101	1.9902
60	89.2883	92.7584	90.9524	1.0802

La figura 5 muestra ambos perfiles de disolución y se puede apreciar que, aunque el proceso de disolución parece ser ligeramente más lento en el medio biorrelevante durante los primeros tiempos de muestreo, en ambos medios se alcanza más del 90 % de disolución a los 60 minutos.

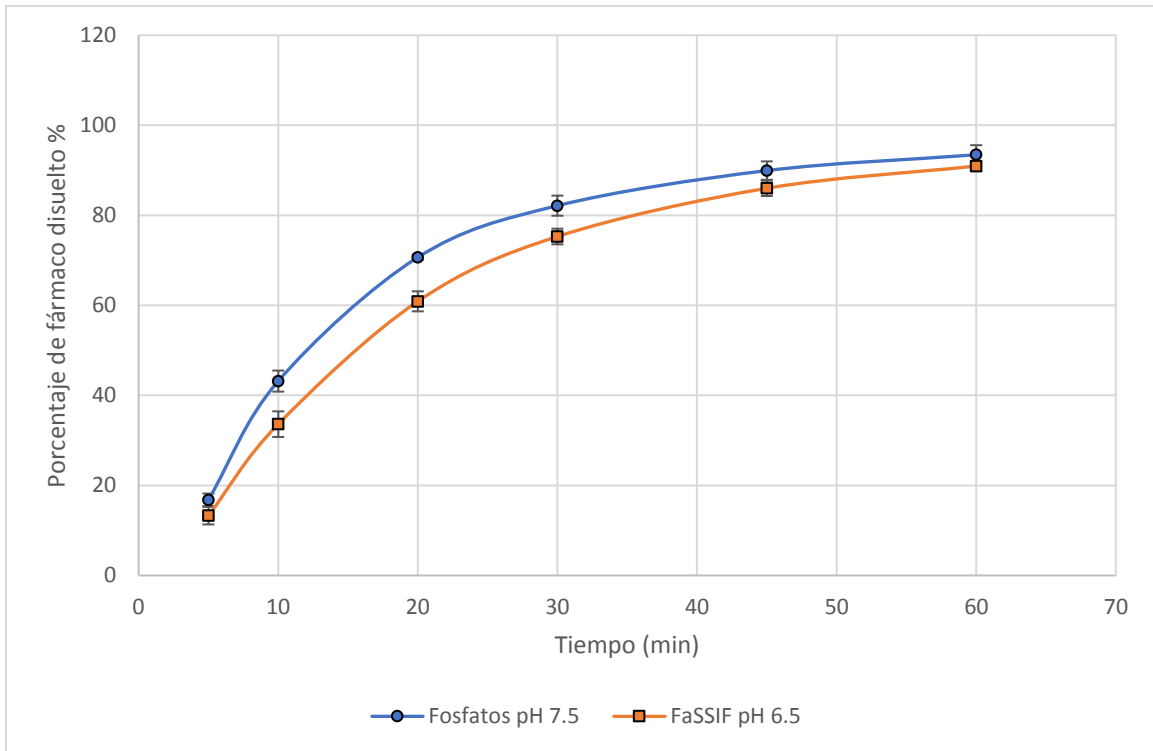


Figura 5. Perfiles de disolución de producto de referencia de meloxicam.

El factor de similitud se calculó con ayuda del complemento *DD solver 1.0 (in vitro profile comparison)* de Excel (19) y arrojó los resultados mostrados en la tabla 12.

Tabla 12. Comparación de dos perfiles de meloxicam; R = meloxicam en medio de disolución de fosfatos pH de 7.5; T = meloxicam en medio de disolución FaSSIF de pH 6.5.



Se puede observar que el factor de similitud fue mayor que 50, esto quiere decir que los perfiles de meloxicam en ambos medios de disolución son similares indicando que el meloxicam en medio biorrelevante presenta disolución similar comparado con el perfil obtenido con medio de disolución de fosfatos, se puede decir que el medio biorrelevante no tiene influencia sobre el proceso de disolución *in vitro*.

7.3 Estudio de correlación *in vitro-in vivo*.

Respecto a las simulaciones realizadas, se encontró que una K_a de 1.08 h^{-1} reproduce el valor de $C_{p_{\max}}$ reportado en el estudio de bioequivalencia citado anteriormente, con este valor de K_a se realizó la segunda simulación asumiendo el modelo abierto de un compartimento y se obtuvieron los valores de concentración plasmática de 0 a 5 y 91 horas, mostrados en la tabla 13, los valores restantes fueron tomados directamente del trabajo de bioequivalencia.

Tabla 13. Concentración plasmática obtenida de la simulación con datos obtenidos de la literatura.

T (h)	Cp (mg/L)	T (h)	Cp (mg/L)
0	0	5	1.18
0.08	0.11	6	0.93
0.16	0.21	8	0.86
0.33	0.40	12	0.75
0.5	0.55	24	0.54
0.75	0.73	91	0.09
1	0.87		

A partir de los datos anteriores y con los porcentajes disueltos obtenidos de los perfiles de disolución, se realizó la correlación *in vitro - in vivo* en el paquete de análisis *IVIVC* para R.

7.3.1 Correlación *in vitro - in vivo* con datos obtenidos de perfil de disolución en medio farmacopéico.

Para la correlación *in vitro - in vivo* se consideraron los datos de concentración plasmática de la tabla 13, se consideró una K_{el} de 0.0299 h^{-1} y un volumen de distribución de 10 L (18).

La tabla 14 muestra los valores observados para la correlación *in vitro - in vivo*, en cambio la tabla 15 muestra los valores predichos que se obtienen a partir de datos de disolución en medio farmacopéico.

Tabla 14. Valores observados para la correlación in vitro- in vivo en medio farmacopéico obtenidos en el paquete ivivc de R (20)

Observados						
Tiempo (h)	Concentración [mg/L]	ABC [mgh/L]	F (velocidad de absorción)	Fracción absorbida acumulada %	Fracción disuelta %	ABC ^{0-inf} [mgh/L]
0	0	0	0	0	0	42.53
0.08	0.11	0.004	0.11	8.66	16.8	
0.16	0.21	0.02	0.21	16.55	43.18	
0.33	0.40	0.07	0.40	31.62	70.67	
0.5	0.55	0.15	0.55	43.60	82.14	
0.75	0.73	0.31	0.74	58.13	89.94	
1	0.87	0.51	0.89	69.61	93.46	
5	1.18	4.61	1.32	103.63	100	
6	0.93	5.66	1.10	86.45	100	
8	0.86	7.45	1.08	85.16	100	
12	0.75	10.67	1.07	84.08	100	
24	0.54	18.41	1.09	85.76	100	
91	0.09	39.52	1.27	100.00	100	

Tabla 15. Valores predichos obtenidos de la correlación in vitro-in vivo en medio farmacopéico.

Predichos				
Tiempo [h]	Fracción absorbida acumulada %	Concentración [mg/L]	ABC [mgh/L]	ABC ^{0-inf} [mgh/L]
0	0.00	0.00	0.00	41.02
0.08	2.61	0.04	0.00	
0.16	27.68	0.41	0.02	
0.33	53.82	0.80	0.12	
0.5	64.72	0.96	0.27	
0.75	72.13	1.07	0.53	
1	75.48	1.11	0.80	
5	81.70	1.07	5.16	
6	81.70	1.04	6.21	
8	81.70	0.98	8.23	
12	81.70	0.87	11.93	
24	81.70	0.60	20.77	
91	81.70	0.00	41.02	

El modelo de correlación arrojado por el *IVIVC* en R indica un coeficiente de correlación de 0.9193 esto indica que hay una fuerte relación entre la fracción absorbida y la disuelta; al realizar análisis de varianza con el software STAT GRAPHICS, se obtiene un valor de p menor que 0.05 ($p = 0.0000$), esto indica que hay una relación estadísticamente significativa entre las variables, con un 95 % de confianza.

7.3.2 Correlación *in vitro* - *in vivo* con datos obtenidos de perfil de disolución en medio biorrelevante.

La tabla 16 muestra los valores observados y la tabla 15 muestra los valores predichos obtenidos a partir de la correlación *in vitro* – *in vivo* a partir de datos de disolución de meloxicam en medio biorrelevante.

Tabla 16. Valores observados para la correlación *in vitro*- *in vivo* en medio biorrelevante.

Observados						
Tiempo (h)	Concentración (mg/L)	ABC [mgh/L]	F (velocidad de absorción)	Fracción absorbida acumulada %	Fracción disuelta %	ABC ^{0-inf} [mgh/L]
0	0	0	0	0	0	42.53
0.08	0.11	0.004	0.11	8.66	13.28	
0.16	0.21	0.02	0.21	16.55	33.61	
0.33	0.40	0.07	0.40	31.62	60.9	
0.5	0.55	0.15	0.55	43.60	75.3	
0.75	0.73	0.31	0.74	58.13	86.01	
1	0.87	0.51	0.89	69.61	90.95	
5	1.18	4.61	1.32	103.63	100	
6	0.93	5.66	1.10	86.45	100	
8	0.86	7.45	1.08	85.16	100	
12	0.75	10.67	1.07	84.08	100	
24	0.54	18.41	1.09	85.76	100	
91	0.09	39.52	1.27	100.00	100	

Tabla 17. Valores predichos obtenidos de la correlación in vitro-in vivo en medio biorrelevante.

Predichos				
Tiempo [h]	Fracción absorbida acumulada %	Concentración [mg/L]	ABC [mgh/L]	ABC^{0-inf} [mgh/L]
0	0.00	0.00	0.00	42.28
0.08	2.21	0.03	0.001	
0.16	21.43	0.32	0.02	
0.33	47.24	0.71	0.10	
0.5	60.85	0.91	0.24	
0.75	70.98	1.05	0.48	
1	75.65	1.11	0.75	
5	84.21	1.11	5.19	
6	84.21	1.08	6.29	
8	84.21	1.01	8.37	
12	84.21	0.90	12.20	
24	84.21	0.63	21.34	
91	84.21	0.00	42.28	

El modelo de correlación obtenido con datos de disolución en medio biorrelevante FaSSiF arrojó un coeficiente de correlación de 0.9482, que también indica una estrecha relación entre las variables, lo cual se confirma con análisis de varianza, que arroja un valor de p menor que 0.05 ($p = 0.0000$), indicando una relación estadísticamente significativa al 95 % de confianza.

7.3.3 Comparación entre los modelos de correlación

Tabla 18. Comparativa de los datos de correlación in vitro-in vivo.

	Medio farmacopéico	Medio biorrelevante
Pendiente	0.9506	0.9456
- Límite inferior	0.6805	0.7354
- Límite superior	1.2207	1.1558
Intercepción	-13.3636	-10.3527
- Límite inferior	-35.9266	-27.4849
- Límite superior	9.1994	6.7795
Coeficiente de determinación [r^2]	0.8451	0.8991
Coeficiente de correlación [r]	0.9193	0.9482
Cmax observado	1.18	1.18
Cmax predicho	1.10832988	1.1122266
% PE Cmax	6.07	5.74
ABC observado	42.52983	42.52983
ABC predicho	41.01895	42.28041
% PE ABC	3.55	0.59

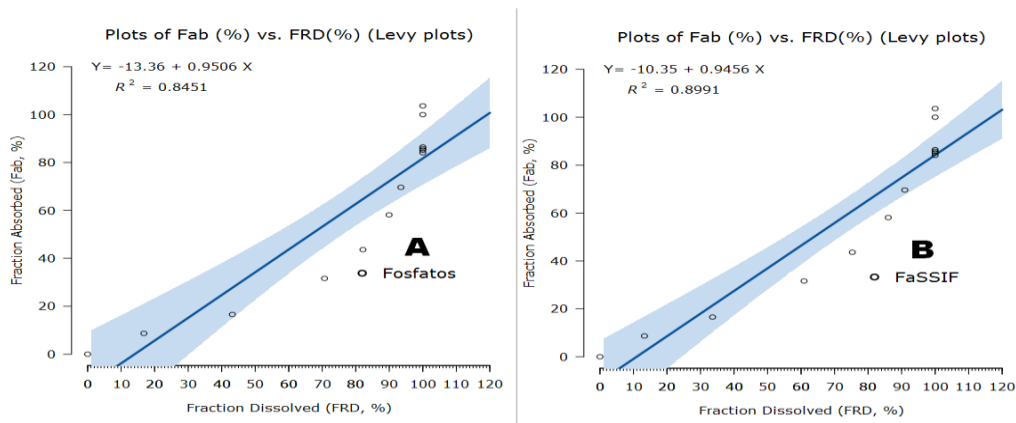


Figura 6. Correlación *in vitro-in vivo* (Fracción absorbida vs Fracción disuelta) de meloxicam obtenida con datos de disolución en medio **A**: farmacopéico (fosfatos pH de 7.5) y **B**: biorrelevante (FaSSIF pH 6.5).

En la tabla 18 se muestran los datos de ambas correlaciones con el fin de comparar entre ambos modelos, se muestra que el obtenido a partir de datos de disolución con medio biorrelevante, muestra una mejor correlación, esto quiere decir que puede predecir mejor el desempeño del fármaco *in vivo*, esto posiblemente se debe a que la composición del medio biorrelevante tiene una mejor representación de las condiciones del tracto gastrointestinal, en comparación con el medio farmacopéico.

El cálculo del porcentaje de error de la predicción fue calculado por el paquete *IVIVC* para R y se muestran en la tabla 18, se observa que para C_{max} y ABC son menores en el modelo de correlación obtenido a partir de la disolución biorrelevante, aunque para ambos modelos se cumple con la recomendación de la FDA, menor que 10 %, para decir que un modelo es aceptable y puede lanzar una buena predicción del desempeño *in vivo*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede decir que el uso de medios biorrelevantes, permite tener mejores modelos de correlación que aporten a la bioexención de productos de meloxicam, en casos donde algún laboratorio pretenda comercializar una nueva concentración de algún producto que ya mostró bioequivalencia; sin embargo, a pesar mostrar una mejor correlación, el uso de estos medios podría ser limitado pues su preparación es más costosa, en comparación con la preparación del medio farmacopéico que, como se obtuvo en este trabajo, también arroja un modelo de correlación aceptable en términos de los criterios de la FDA.

8 CONCLUSIONES

Con la finalidad de obtener datos de disolución *in vitro*, para posteriormente usarlos en correlaciones *in vitro-in vivo*, se realizaron dos perfiles de disolución, uno con medio farmacopéico, y otro con el medio biorrelevante FaSSIF, al realizar una comparación entre ambos perfiles, por factor de similitud, se obtuvo que, en ambos medios, el meloxicam presenta una disolución similar.

A partir de los perfiles de disolución y con datos de bioequivalencia encontrados en la literatura, se realizaron dos correlaciones *in vitro-in vivo*, y se compararon para determinar qué medio de disolución arroja una mejor correlación.

De los modelos de correlación *in vitro-in vivo*, el obtenido con datos de disolución biorrelevante, muestra mejor coeficiente de correlación, así como menores %PE para ABC y Cmax, se puede decir que este modelo permite tener una mejor predicción del desempeño del producto *in vivo* con respecto al modelo obtenido con medio farmacopéico.

Finalmente se puede decir que, aunque los perfiles de disolución en medio biorrelevante podrían ser una alternativa que permita contribuir a la bioexención de nuevos productos de meloxicam, aunque su uso no resultaría tan atractivo para los laboratorios debido a que con medio farmacopéico se puede obtener un modelo de correlación aceptable y con un menor costo.

9 REFERENCIAS

1. Krishna R, Yu L. Biopharmaceutics Applications in Drug Development. In. USA; 2008. p. 29.
2. Rivas F. Equipos utilizados en las pruebas de disolución, ventajas y desventajas. In.: Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México; 1997. p. 4,6.
3. FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). [Online].; 1997 [cited 2019 marzo 11]. Available from: <https://www.fda.gov/media/70936/download>.
4. Fuchs A, Leigh M, Kloefer B, B. Dressman J. Advances in the design of fasted state simulating intestinal fluids: FaSSIF-V3. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2015 Mayo; 94: p. 229-240.
5. Reppas C, Vertzoni M. Biorelevant in-vitro performance testing of orally administered dosage forms. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2012 Marzo; 64: p. 919-930 doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01474.x.
6. Jamil R, Xu T, Shah H, Adhikari A, Sardhara R, Najar K, et al. Similarity of dissolution profiles from biorelevant media: Assessment of interday repeatability, interanalyst repeatability, and interlaboratory reproducibility using ibuprofen and ketoconazole tablets. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2021 Enero; 156(105573).
7. Gomes M, Rossi D, De Oliveira P. In vitro – In vivo correlation in the development of oral drug formulation: A screenshot of the last two decades. International Journal of Pharmaceutics. 2020 Marzo; 580(119210): p. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119210>.
8. González I, Mangas V, Merino M, Bermejo M. In vitro-in vivo correlations: general concepts, methodologies and regulatory applications. Drug development and industrial pharmacy. 2015 Julio; 41(12): p. 1935-1947 DOI: 10.3109/03639045.2015.1054833.
9. FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). [Online].; 1997 [cited 2021 Enero 31]. Available from: <https://www.fda.gov/media/70939/download>.
10. Goodman & Gilman's. Manual of Pharmacology and Therapeutics. In. USA: McGraw Hill; 2008. p. 453.
11. Meineke I, Türck D. Population pharmacokinetic analysis of meloxicam in rheumatoid arthritis patients. [Online]. [cited 2021 Enero 31. Available from: <https://doi.org/10.1046%2Fj.1365-2125.2003.01753.x>.
12. Türck D, Roth W, Busch U. A REVIEW OF THE CLINICAL PHARMACOKINETICS OF MELOXICAM. British Journal of Rheumatology. 1996; 35(Suplemento 1): p. 13-16.
13. International conference on harmonisation. European Medicine Agency, ICH: Q 2 (R1): Validation of analytical procedures: Text and methodology - Step 5. [Online].; 1995 [cited

2021 Diciembre 12. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology>.

14. Dumitrescu I, Dragoicea I, Lupuleasa D, Draganescu D, Ciolan F, Miron D, et al. ADJUSTMENTS OF THE BIORELEVANT DISSOLUTION TESTING IN CASE OF OXICAMS. *Farmacia*. 2012; 60(5): p. 740-748.
15. Mayen A. Monitoreo de productos en el mercado que contienen meloxicam en forma de tabletas de 15 mg mediante perfiles de disolución cuantificando por cromatografía de líquidos de alta resolución. 2019. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.
16. Biorelevant.com. Biorelevant.com. [Online].; 2021 [cited 2021 Enero 31. Available from: https://biorelevant.com/learning_center/.
17. Del Tacca M, Pasqualetti G, Gori G, Pepe P, Di Paolo A, Lastella M, et al. Comparative pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of branded and generic formulations of meloxicam in healthy male volunteers. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2013 Julio; 9: p. 303-311.
18. Boehringer Ingelheim International GmbH. Mobic ABCD. [Online].; 2003 [cited 2022 Agosto 26. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2003/020938s007lbl.pdf.
19. Zhang Y, Huo M. DDSolver 1.0. 2010. Complemento para Excel (in vitro profile comparison).
20. Lee H, Lee Y. ivivc: A Data Analysis Tool for In Vitro-In Vivo Correlation (IVIVC). 2020. R package version 0.3.3.

10 ANEXOS

A. Validación del sistema para método de cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución para meloxicam.

PARÁMETRO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO		DICTAMEN
Linealidad del sistema	ERR \leq 2 %	0.7659	1.0792	CUMPLE
	$r \geq$ 0.99	1.0000	1.0000	CUMPLE
Precisión del sistema	CV del FR \leq 2 %	1.41		CUMPLE
Estabilidad	Diferencia absoluta del promedio del porcentaje cuantificado en el análisis inicial y final debe ser menor o igual a 3%.	SR	CR	CUMPLE
		0.84	0.94	
Influencia del filtro	La diferencia absoluta entre el promedio de los datos de por lo menos 6 muestras de solución filtrada y sin filtrar debe ser igual o menor al 2%.	0.59		CUMPLE

Para esta validación se realizaron dos curvas de calibración de estándar de meloxicam, cuyas concentraciones fueron 2, 4, 8, 16 y 20 $\mu\text{g/mL}$. La estabilidad se determinó con una muestra de 8 $\mu\text{g/mL}$ la cual se fraccionó y en tres partes, la primera se cuantificó al instante, la segunda se almacenó 24 horas a temperatura ambiente y la tercera se almacenó en refrigeración. La influencia del filtro sólo evaluó la adherencia del filtro en línea que se adapta al colector de muestras y se utilizaron muestras de una solución de meloxicam de 4 $\mu\text{g/mL}$.

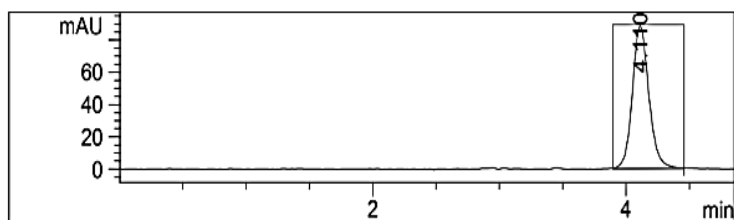
LOTE	Criterio de aceptación	M75	Aceptación
ERR	\leq 3 %	0.2655	Cumple
Coeficiente de correlación [r]	$>$ 0.99	1.0000	Cumple
Coeficiente de determinación [r ²]	NA	1.0000	NA

- Exactitud y precisión

Conc. Nominal [µg/mL]	Repetibilidad (día de trabajo 1)		Reproducibilidad	
	Media	% CV	Media global	% CV global
2	100.0134	0.83	100.0895	0.80
4	99.3742	0.78	99.5125	0.52
8	100.5449	0.82	100.4373	0.57
16	99.7973	0.02	99.7769	0.28
20	100.0658	0.09	100.0895	0.18

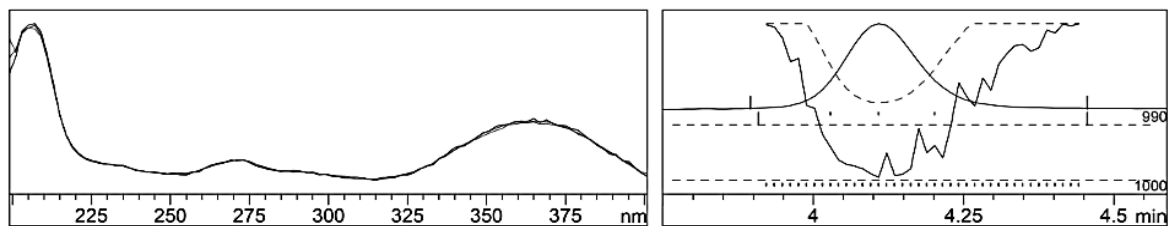
Para el día 1 de trabajo se obtuvo que: para cada nivel, no excede en más de 3 % el valor de la concentración nominal de meloxicam y que el %CV es menor que el 3 %. Esto quiere decir que el método es exacto. Respecto a la reproducibilidad, se muestran la media y %CV globales obtenidos de dos días de trabajo, se obtuvo que en ningún nivel de la curva, la media excede el 3% de variación con respecto al valor nominal de concentración; el % CV en todos los niveles de la curva es menor que el 3 %. Esto quiere decir que el método es reproducible.

- Selectividad



Data : VALP0010.D
 Signal : DAD1 A
 Peak : 1 at 4.110 min
 Date : 28-Nov-17, 18:35:04

Pico cromatográfico del medicamento de referencia REF.



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

Espectro del medicamento de referencia REF.

La selectividad se determinó mediante la determinación de la pureza del pico cromatográfico, la cuál es determinada con el software ChemStation integrado al HPLC utilizado. Esta pureza indica que no hay interferencias de la matriz en el pico cromatográfico.

B. Perfiles de disolución.

Porcentajes disueltos de tabletas de 15 mg de producto de referencia de meloxicam, medio de disolución FaSSIF, n = 12 tabletas.

Tiempo	5	10	20	30	45	60
Tableta 1	12.8186	33.7280	59.8950	74.7791	85.4805	91.2278
Tableta 2	12.2527	32.8444	58.9523	74.2431	86.0158	92.2949
Tableta 3	13.1047	34.7330	63.0199	77.1099	88.3908	92.7584
Tableta 4	13.6749	33.9742	61.1080	76.3151	85.7972	91.1687
Tableta 5	14.6471	35.8565	63.0711	76.4061	86.7033	91.0720
Tableta 6	10.2362	28.7837	56.6032	71.9327	83.1219	89.2883
Tableta 7	13.9229	33.4383	59.3954	73.4570	85.1668	90.5418
Tableta 8	17.0483	39.0853	64.7159	77.6245	85.5825	90.0404
Tableta 9	12.9908	33.0520	60.6478	74.7602	86.3084	91.2739
Tableta 10	14.6090	34.9733	62.5087	75.0972	85.5224	91.3012
Tableta 11	14.2239	34.3604	61.3941	74.2990	84.3535	90.6670
Tableta 12	9.8547	28.4966	59.4404	77.5248	89.6778	89.7944
Promedio	13.28	33.61	60.90	75.30	86.01	90.95
Desvest	1.95	2.85	2.22	1.74	1.71	0.98
%CV	14.65	8.47	3.65	2.31	1.99	1.08
MIN	9.8547	28.4966	56.6032	71.9327	83.1219	89.2883
MAX	17.0483	39.0853	64.7159	77.6245	89.6778	92.7584

Porcentajes disueltos de tabletas de 15 mg de producto de referencia de meloxicam, medio de disolución de fosfatos indicado en la FEUM, n = 6 tabletas.

Tiempo	5	10	20	30	45	60
Tableta 1	16.9563	45.2023	71.5184	82.5305	87.9607	92.6987
Tableta 2	17.5103	44.6264	70.0892	80.8957	88.7993	91.8582
Tableta 3	15.8281	41.9856	71.1470	84.0299	91.8344	95.3749
Tableta 4	19.1154	45.8757	70.0201	78.2816	87.5800	90.4894
Tableta 5	16.1733	40.6487	70.3645	82.9350	91.4047	94.3782
Tableta 6	15.2271	40.7167	70.8599	84.1924	92.0510	95.9410
Promedio	16.80	43.18	70.67	82.14	89.94	93.46
Desvest	1.39	2.34	0.61	2.24	2.05	2.13
%CV	8.29	5.42	0.86	2.72	2.28	2.28
MIN	15.2271	40.6487	70.0201	78.2816	87.5800	90.4894
MAX	19.1154	45.8757	71.5184	84.1924	92.0510	95.9410