

25
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

"DESARROLLO DE UNA FORMULACION PARA
TABLETAS DE MELATONINA POR COMPRESION
DIRECTA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
GORDO RAMIREZ LETICIA
RODRIGUEZ PEÑA NANCY

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO MEMBRADO EN
DE NUESTRA INSTITUCION

ENERO 1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA | 1 |
| 2.1 Preformulación | 1 |
| 2.2 Formulación | 2 |
| 2.3 Generalidades sobre tabletas | 3 |
| 2.3.1. <i>Definición</i> | 3 |
| 2.3.2. <i>Métodos de fabricación</i> | 4 |
| 2.3.3. <i>Excipientes para tabletas por compresión directa</i> | 7 |
| 2.4. Caracterización de polvos | 11 |
| 2.4.1. <i>Parámetros reológicos</i> | 12 |
| 2.5 Validación de métodos analíticos | 15 |
| 2.6 Escalamiento | 20 |
| 2.6.1. <i>Factores a considerar en el escalamiento del mezclado</i> | 20 |
| 2.7 Generalidades sobre la melatonina | 22 |
| 2.7.1. <i>La melatonina y la glándula pineal</i> | 24 |
| 2.7.2. <i>Biosíntesis de la melatonina</i> | 25 |
| 2.7.3. <i>Influencia de la luz sobre la actividad pineal</i> | 26 |
| 2.7.4. <i>Metabolismo de la melatonina</i> | 28 |
| 2.7.5. <i>Usos terapéuticos</i> | 28 |
| III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 29 |
| IV. OBJETIVOS | 30 |
| V. HIPÓTESIS | 31 |
| VI. PARTE EXPERIMENTAL | 34 |
| 6.1 Materiales | 32 |
| 6.2 Metodología | 34 |
| 6.2.1. <i>Preformulación</i> | 35 |
| 6.2.2. <i>Formulación</i> | 39 |

| | |
|--|-----------|
| 6.2.3. Desarrollo y validación del método analítico..... | 41 |
| 6.2.4. Escalamiento..... | 45 |
| VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS..... | 46 |
| 7.1. Preformulación..... | 46 |
| 7.2. Elección de la formulación..... | 60 |
| 7.3. Desarrollo y validación del método analítico..... | 62 |
| 7.4. Escalamiento..... | 74 |
| VIII. CONCLUSIONES..... | 78 |
| IX. SUGERENCIAS..... | 79 |
| X. BIBLIOGRAFÍA..... | 80 |
| <i>Apéndice A.....</i> | <i>84</i> |
| <i>Apéndice B.....</i> | <i>86</i> |
| <i>Apéndice C.....</i> | <i>91</i> |

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la melatonina ha adquirido gran popularidad en el mercado naturista debido a las diversas propiedades que se le atribuyen, por ejemplo regulador del insomnio, retardador del envejecimiento y control del estrés entre otras, todo esto como consecuencia del efecto que posee esta hormona en la regulación de los ciclos biológicos en el organismo

La preparación de productos que contienen melatonina en el mercado naturista, al igual que la de tantos otros que se comercializan en este, no está regulada por norma alguna que permita asegurar su calidad, y a su vez evite riesgos al consumidor. Por esta razón, en el presente proyecto se desarrolló una formulación para tabletas de melatonina con base en la calidad establecida para productos farmacéuticos

El proyecto se estructuró en cuatro etapas: preformulación, formulación, desarrollo y validación del método analítico y escalamiento. La primera etapa (preformulación) consistió en pruebas de caracterización, estabilidad y compatibilidad de la melatonina. Para la etapa de formulación se propusieron nueve diferentes formulaciones empleando lactosa, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica y estearato de magnesio como excipientes. La concentración de melatonina y estearato de magnesio se mantuvieron constantes en las nueve formulaciones (0.86% y 1% respectivamente), mientras que la celulosa microcristalina se manejó a tres niveles (40%, 45%, 50%) al igual que la croscarmelosa sódica (0%, 4%, 8%). La lactosa se empleó como diluyente en todas las formulaciones.

El mezclado de los polvos se realizó durante 9 minutos a 24 r.p.m. en un mezclador de corazas gemelas. Estos parámetros se establecieron con base en una curva de mezclado empleando diferentes r.p.m. por periodos de mezclado de 30 minutos.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo y validación del método analítico fue necesario para la cuantificación de melatonina en las mezclas de polvos a lo largo del proceso y en las tabletas, garantizando de esta manera la especificidad, linealidad, precisión y exactitud del método.

Las tabletas se evaluaron de acuerdo a pruebas establecidas en FEUM 6a ed lo que permitió la elección de la formulación con el nivel medio tanto de celulosa microcristalina como de croscarmelosa sódica. La variable de respuesta comparada en todos los casos fue el tiempo de desintegración, evaluándose los datos mediante un análisis de varianza de dos factores.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. PREFORMULACIÓN

Los estudios de preformulación son el primer paso para el desarrollo de una forma farmacéutica y se puede definir como el proceso de caracterización de un principio activo así como de los posibles excipientes mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas consideradas importantes en la formulación de una forma farmacéutica estable y efectiva.^{(1),2}

Antiguamente los estudios de preformulación consistían en pruebas organolépticas tales como olor y sabor. Como resultado de estos estudios fue necesario realizar recubrimientos de azúcar para proteger las formas farmacéuticas obtenidas, dando origen al concepto de estabilidad. La evaluación de la estabilidad física y química de un fármaco, así como su interacción con posibles excipientes, son algunos de los aspectos más importantes a evaluar en un estudio de preformulación, ya que de esto dependerá la estabilidad del medicamento por periodos prolongados de tiempo.⁽⁴⁾

La información requerida para un estudio de preformulación dependerá en gran medida de la forma farmacéutica deseada, de esta manera a continuación se presentan algunos parámetros a considerar en la etapa de preformulación para una forma farmacéutica sólida.⁽⁵⁾

1. Perfil organoléptico, como color, olor y sabor
 2. Pureza, ésta se puede determinar mediante cromatografía en capa fina o de líquidos de alta resolución
 3. Solubilidad del producto en diferentes disolventes.
-

4. Tamaño de partícula, las técnicas generales para esta determinación son microscopía y tamizado.
5. Velocidad de Disolución
6. Parámetros que afectan la absorción como coeficiente de parteción y constante de ionización.
7. Propiedades del cristal y polimorfismo, estas características influyen directamente en la biodisponibilidad, estabilidad fisicoquímica y comportamiento del principio activo y excipientes durante la compresión.
8. Estabilidad del principio activo en estado sólido y en solución, estudios de compatibilidad, tipos y mecanismos de degradación.
9. Propiedades reológicas como densidad aparente, densidad compactada, ángulo de reposo, velocidad de flujo, índice de compactación, índice de Hausner e higroscopicidad.

2.2. FORMULACIÓN

Recordando que los excipientes que forman parte de una forma farmacéutica sólida deben ser inertes con el fin de evitar efectos indeseables en la estabilidad y biodisponibilidad de ésta, se debe de poner especial atención en la selección e inclusión de cada aditivo.

Los resultados obtenidos en los estudios de preformulación van a permitir seleccionar los excipientes más apropiados para tener una forma farmacéutica estable (1).

Los estudios de formulación son las pruebas que se realizan variando los porcentajes de las concentraciones de excipientes para ver el efecto que tienen en la formulación, hasta llegar a las concentraciones apropiadas para que la forma farmacéutica cumpla con todos los requerimientos establecidos para comprimidos (2).

A continuación se muestran una serie de criterios a considerar para la selección de excipientes en el desarrollo de una formulación :

1. No deben ser tóxicos
2. Deben ser comercialmente disponibles
3. El costo debe ser aceptablemente bajo
4. No deben ser contraindicados para la mayoría de la población
5. Deben ser fisiológicamente inertes
6. Deben ser física y químicamente estables en combinación con el principio activo
7. No debe de alterar la biodisponibilidad del principio activo en el producto
8. Proveedores disponibles

2.3. GENERALIDADES SOBRE TABLETAS

2.3.1. Definición

Las *tabletas* son formas farmacéuticas sólidas de dosificación única, elaboradas por compactación de una fórmula, la cual contiene el fármaco con o sin excipientes seleccionados que ayudan en el proceso y propiedades finales del producto.^(1,2)

2.3.2. Métodos de fabricación de tabletas

En la figura 1 se muestran las etapas a seguir en los diferentes métodos de fabricación de tabletas.^(2,6)

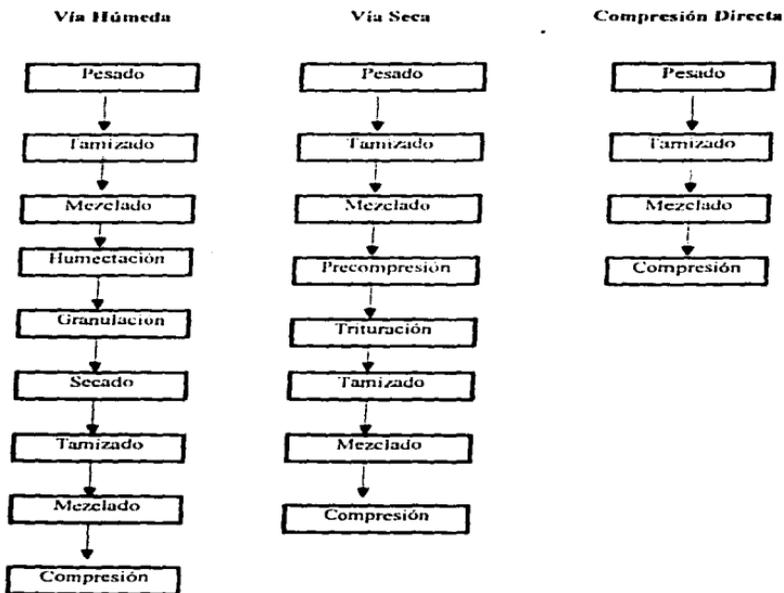
Métodos de Fabricación de tabletas

Fig. 1 Etapas de los diferentes métodos de fabricación para comprimidos (2)

Vía Húmeda

El método de compresión por vía húmeda es ampliamente empleado cuando se tienen polvos con malas características de flujo. La granulación se realiza mediante la adición de una solución aglutinante al polvo seco, de tal manera que permita la obtención de gránulos adecuados con propiedades de flujo aceptables.^(2,7)

Ventajas

- Mejora la fluidez de los polvos al incrementar el tamaño y forma de las partículas
- Pueden ser procesados sólidos con una gran variedad de tamaños de partícula
- Incrementa y mejora la uniformidad con respecto a la densidad de los polvos
- Pueden procesarse gran variedad de excipientes y principios activos

Desventajas

- Mayor número de operaciones unitarias en el proceso
- La disolución de gránulos se puede retardar por la presencia del aglutinante
- No pueden emplearse fármacos sensibles a la humedad y al calor
- Proceso de fabricación costoso
- Pérdida de materiales durante el proceso

Vía seca

Es una técnica alternativa cuando la dosis del fármaco en la formulación es alta lo cual impide llevar a cabo el proceso por compresión directa por malas propiedades reológicas. El proceso se caracteriza por tener una etapa de precompresión y posteriormente una trituración lo que origina un incremento en el tamaño de partícula de los polvos, facilitando el proceso de compresión.⁽¹¹⁾

Ventajas

- Se puede emplear para fármacos sensibles al calor y a la humedad
- El principio activo se puede compactar con menor cantidad de excipientes
- Menor cantidad de equipos
- Se evitan procesos de secado

Desventajas

- Se pueden presentar problemas de laminación y/o friabilidad
- Se requiere equipo especial para la compresión

Compresión directa

Es el método más sencillo en la elaboración de tabletas, y resulta ideal cuando se tienen mezclas de polvos con buenas características de flujo. En este proceso, a diferencia de los anteriores, las propiedades de los polvos no son modificadas para su compresión.

Ventajas

- Menor costo
- Involucra menos operaciones unitarias que los otros procesos
- Mayor estabilidad física y química
- Ahorro en tiempo y mano de obra

Desventajas

- En dosis grandes de principio activo, se pueden presentar problemas durante la compresión si el fármaco no se comprime fácilmente por sí solo.
 - Las diferencias en el tamaño de partícula y densidad aparente entre el principio activo y el diluyente pueden causar una pobre uniformidad de contenido principalmente
-

cuando el mezclado no es adecuado.

- Puede existir formación de cargas electrostáticas durante el proceso de tamizado y mezclado.^(1,2,3)

2.3.3. Excipientes empleados en la elaboración de tabletas por compresión directa :

- A. Diluentes
- B. Desintegrantes
- C. Lubricantes, antiadherentes y deslizantes

A. Diluentes

Son sustancias inertes cuya finalidad es dar volumen a la tableta cuando el principio activo, por sí solo, no es suficiente para producirlo. En algunas ocasiones la dosis del principio activo es tan alta que no se requiere el uso de diluentes. Algunos ejemplos de los diluentes comúnmente empleados se muestran en la tabla I.⁽⁶⁾

B. Desintegrantes

En general, los desintegrantes poseen una capacidad de hinchamiento al contacto con el agua, lo cual permite el rompimiento del comprimido para su posterior disolución y biodisponibilidad satisfactoria. En la tabla II se muestra una clasificación de los desintegrantes de acuerdo a sus características estructurales.^(6,7)

- ***Mecanismos de acción de los desintegrantes***

Se han reportado varios mecanismos que se explican por las propiedades físicas y químicas de los diferentes desintegrantes, estos mecanismos se describen a continuación:

Diluentes comúnmente empleados en la elaboración de tabletas

| | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
|--------------------------|---|---|---|---|---|---|
| Destrosa | 3 | 2 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| Lactosa Spray-dried | 3 | 5 | 4 | 1 | 2 | 4 |
| Lactosa de flujo rápido | 4 | 4 | 4 | 1 | 2 | 4 |
| Lactosa anhidra | 2 | 3 | 4 | 5 | 2 | 4 |
| Sacarosa | 4 | 3 | 5 | 4 | 1 | 4 |
| Almidón | 2 | 1 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Almidón pregelatinizado | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 4 |
| Fosfato dicálcico | 3 | 4 | 1 | 1 | 2 | 5 |
| Celulosa microcristalina | 5 | 2 | 0 | 2 | 4 | 5 |

Tabla 1. Propiedades comparativas de algunos diluentes. 5)excelente, 4)muy bueno, 3)bueno, 2)regular, 1) pobre, 0) malo.¹⁶⁶

| Categoría | Nombre Químico | Concentración (%) | Nombre comercial |
|--------------|---------------------------------|-------------------|--------------------------------------|
| Almidones | Almidón de maíz | 3-15 | Explotab Primogel Almidón 1500 |
| | Almidón glicolato de sodio | 1-8 | |
| | Almidón pregelatinizado | 5-10 | |
| Celulosa | Celulosa microcristalina | 5-15 | Avicel CMC Ac-di-sol ECG |
| | Carboximetilcelulosa | 2-6 | |
| | Croscarmelosa sódica | 1-5 | |
| | Carboximetilcelulosa de calcio | 1-20 | |
| Pirrolidonas | Crospovidona | 1-5 | Poliplasdone XL Kollidon CM |
| Arcillas | Silicato de aluminio y magnesio | 2-10 | Veegum |

Tabla II. Clasificación de desintegrantes comúnmente empleados. (6)

a. Absorción de agua

La facilidad que tienen las partículas de agua para penetrar los poros de la tableta por acción capilar, es esencial para la desintegración; por tanto la porosidad de la tableta, y la velocidad de absorción de agua son factores primordiales en este mecanismo de desintegración. (8, 9)

b. hinchamiento

Este mecanismo de acción es quizá el más ampliamente aceptado, debido a que casi todos los desintegrantes se hinchan. Bolhois y colaboradores (9) encontraron que el

hinchamiento y absorción del agua son mecanismos primarios para la desintegración, además reportaron que el rápido hinchamiento de las partículas, tales como almidón glicolato de sodio y croscarmelosa sódica es capaz de superar el efecto negativo de los componentes hidrofóbicos de la tableta.

c. Fuerza de repulsión partícula-partícula

Ringard y Guyot ⁽¹⁰⁾ propusieron la teoría de la repulsión entre partículas, basándose en la observación de partículas que parecen no humedecerse aún en la desintegración de la tableta.

d. Deformación

Hess ⁽¹¹⁾ demostró que las partículas desintegrantes se deforman durante el proceso de compresión y que regresan a su forma y tamaño normal cuando se exponen a la humedad.

C. Lubricantes, Antiadherentes y Deslizantes

a. Lubricantes

Previenen el desgaste de las piezas metálicas como punzones y matrices debido a fricciones durante el tableteado. A su vez reducen las fricciones interparticulares de los gránulos y facilitan la expulsión del comprimido de la matriz ⁽¹²⁾

Los lubricantes que más se emplean son los derivados del ácido esteárico, tales como el estearato de calcio y el de magnesio, los cuales son más efectivos y presentan mejores propiedades de lubricación que el ácido esteárico ^(1,6,7)

b. Antiadherentes

Evitan el pegado del material a comprimir en la superficie de la matriz y en los punzones durante la compresión y expulsión (2)

c. Deslizantes

Ayudan a mejorar el flujo del polvo así como el llenado de la matriz, originando mayor uniformidad en la masa de los comprimidos (13)

El mecanismo de acción de los deslizantes incluye:

1. La reducción de la fricción entre partículas y superficies rugosas por la adherencia del deslizante a la superficie de la granulación
2. La dispersión de las cargas electrostáticas sobre la superficie de la granulación.
3. La distribución del deslizante en la granulación.
4. Disminución de fuerzas de Vander Waals, por separación de los gránulos (2,6,13)

En la tabla III se muestran algunos de los lubricantes más comunes. (5)

2.4. CARACTERIZACIÓN DE POLVOS

Es de vital importancia conocer las características de los polvos para la elaboración de formas farmacéuticas sólidas en la etapa de preformulación, ya que los parámetros evaluados influyen directamente en la elección de una formulación así como en la elección del método de fabricación, disminuyendo problemas durante el proceso. Los parámetros comúnmente evaluados en la reología de polvos son: densidad aparente, densidad compactada, velocidad de flujo, ángulo de reposo, índice de compactación, e índice de Hausner.

| Lubrificantes solubles | Rango usual % | Lubrificantes insolubles | Rango usual % |
|----------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| Polietilenglicol 6000 | 1-5 | Estearato de magnesio | 0.25-2 |
| Polietilenglicol 8000 | 1-5 | Estearato de sodio | 0.25-2 |
| Lauril sulfato de sodio | 1-5 | Estearato de calcio | 0.25-2 |
| Lauril sulfato de magnesio | 1-2 | Ac. Esteárico | 0.25-2 |
| Benzoato de sodio | 5 | Talco | 1-5 |
| Oleato de sodio | 5 | Aceite mineral | 1-5 |
| | | Parafina | 1-5 |
| Deslizantes | Rango usual % | Antiadherentes | Rango usual % |
| Almidón | 5-10 | Almidón seco | 3-10 |
| Talco | 5 | Talco | 1-5 |
| Dioxido de silicio | 1-3 | Lauril sulfato de sodio | <1 |
| Silicato de calcio | 0.5-3 | | |

Tabla III. Agentes lubricantes, deslizantes y antiadherentes comúnmente utilizados. (6)

2.4.1. Parámetros reológicos

A. Densidad aparente.

Se define como la masa del polvo dividida por el volumen total ocupado por el mismo, incluye los espacios intra e interparticulares (3,5,14)

B. Densidad compactada

Se refiere a la masa de las partículas dividida por el volumen compactado, es decir excluyendo espacios interparticulares (1,13,14)

C. Velocidad de flujo

El flujo de polvo se puede determinar midiendo la cantidad de polvo que pasa a través del orificio de un embudo sólo bajo la acción de la fuerza gravitacional por unidad de tiempo. El flujo dependerá del tamaño de partícula así como de la humedad presente en el polvo.

Existen diferentes tipos de fuerzas que pueden afectar el flujo de partículas sólidas (1,3,5)

1. Fuerzas de fricción
2. Fuerzas de tensión superficial
3. Fuerzas de Vander Waals
4. Fuerzas electrostáticas

D. Ángulo de reposo

Permite observar la facilidad de flujo de un polvo, así como la cohesividad del mismo.

Se define como el ángulo formado entre la superficie de una pila de polvo y el plano horizontal. A menor tamaño de partícula o partículas irregulares, el ángulo de reposo tiende a aumentar.

La clasificación de los ángulos de reposo se describe a continuación:

| Interpretación del ángulo de reposo | |
|-------------------------------------|-----------|
| Ángulo de reposo (grados) | Flujo |
| 20-25 | Excelente |
| 25-30 | Bueno |
| 30-40 | Regular |
| > 40 | Pobre |

Tabla IV. Clasificación de los ángulos de reposo. (3,14)

E. Índice de compactación

Este factor corresponde a la aptitud de un polvo para modificar su densidad por el efecto de compactación ^(14,15). Es deseable que los valores de compactación sean superiores del 5% y menores al 23%, para alcanzar adecuadas propiedades de flujo. (tabla V)

| % de Compactación | Flujo |
|-------------------|-----------|
| 5-15 | Excelente |
| 12-16 | Bueno |
| 18-22 | Regular |
| 23-35 | Pobre |
| 33-38 | Muy pobre |
| > 40 | No fluye |

Tabla V. Clasificación del % de compactación. ^(11,14)

F. Índice de Hausner

Indica el grado de fluidez de un polvo, entre más compresible sea el material, menor fluidez tendrá, se calcula a partir de la densidad aparente y compactada.

| Índice de Hausner | Flujo |
|-------------------|-----------------|
| <1.25 | Flujo excelente |
| 1.25-1.5 | Buen flujo |
| > 1.5 | Pobre flujo |

Tabla VI. Clasificación de valores para índice de Hausner. ⁽¹⁴⁾

G. Distribución de tamaño de partícula

La distribución de tamaño de partícula es de gran importancia debido a que afecta el flujo de polvos, la homogeneidad de las mezclas y sobre todo la biodisponibilidad del fármaco.

Existen diferentes métodos para determinar tamaño de partícula, por ejemplo: tamizado, microscopía y centrifugación (sedimentación) (3,14). El más utilizado es el tamizado por ser un método rápido, sencillo y relativamente económico en relación a los demás.

2.5. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Dado que el objetivo de cualquier laboratorio farmacéutico es el de producir medicamentos con la calidad prediseñada, (inocuidad, estabilidad, y cumpliendo con normas establecidas por organismos regulatorios, FEUM) al menor costo posible, la validación se ha convertido en parte esencial para alcanzar dicho objetivo, además de ser hoy en día un requisito en la regulación gubernamental.

La validación de métodos analíticos forma parte integral de la validación de procesos, asegurando de esta manera que los métodos empleados en el análisis de materia prima, producto a granel, producto terminado, y/o productos en estudios de estabilidad, son precisos, exactos, específicos, lineales etc., ya que los métodos se aplican durante el desarrollo del proceso y no sólo en el producto final.

El tipo de información requerida para la validación del método analítico, dependerá de la naturaleza del estudio, por lo que los procedimientos de ensayo más comunes se han clasificado como se muestra en la tabla VII. (17,18)

| Parámetro | Indicadores de estabilidad | | | Revalidación del método | | |
|------------------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|--|--|
| | Control de Calidad | Bajas concentraciones | Altas concentraciones | Biodisponibilidad | sin cambio en condiciones de operación | con cambio en condiciones de operación |
| Linealidad y precisión del sistema | * | * | * | * | * | * |
| Límite de detección | | * | | * | | |
| Límite de cuantificación | | * | | * | | |
| Exactitud y repetibilidad al 100 % | * | * | * | * | * | * |
| Linealidad del método | * | * | * | * | * | * |
| Precisión reproducibilidad | * | * | * | * | * | * |
| Especificidad Control de calidad | * | * | * | * | * | * |
| Especificidad estabilidad | | * | * | | | |
| Tolerancia del sistema | | * | * | * | | * |
| Estabilidad de la muestra | * | * | * | * | | |

Tabla VII. Aplicaciones de la validación de métodos analíticos. *Parámetros a evaluar dependiendo de la aplicación del método

De acuerdo a lo anterior, los requisitos necesarios que debe cumplir un método de rutina para Control de Calidad se mencionan a continuación ⁽¹⁸⁾

Especificidad
Linealidad del sistema
Precisión del sistema
Linealidad del método
Exactitud
Repetibilidad
Reproducibilidad
Estabilidad de la muestra

A. Especificidad ^(17,18)

Se define como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente la sustancia de interés en presencia de otros componentes de la muestra (excipientes impurezas).

B. Linealidad del sistema ^(17,18,19)

La linealidad de un sistema es su capacidad para asegurar que los resultados analíticos obtenidos directamente, o bien mediante una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo. Este parámetro se caracteriza por estudiar la relación concentración vs respuesta analítica. En el caso de métodos espectrofotométricos, la linealidad del sistema se determina construyendo una curva de calibración de concentración vs absorbancia, empleando

cuando menos cinco diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo el análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

C. Precisión del sistema (17,18,19)

La precisión de un sistema es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. La precisión del sistema se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 % establecido en la linealidad del sistema.

Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

En otras palabras, la precisión se refiere a la distribución de los resultados individuales del análisis alrededor de su promedio.

D. Linealidad del método (17,18,19)

Establece la relación entre la cantidad adicionada vs la cantidad recuperada del analito. Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos tres diferentes cantidades de la muestra de interés, cada uno de manera independiente y haciendo el análisis por triplicado.

E. Exactitud (17,18,19)

La exactitud se puede definir como la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

La exactitud se expresa como el por ciento de recobro de cantidades conocidas de la sustancias adicionadas al placebo de la muestra.

F. Precisión del método (17,18,19)

Un requisito esencial de un método que tenga aplicaciones cuantitativas, es su capacidad para repetir y reproducir la medición.

Dentro de la precisión del método, existen dos maneras de expresar ésta:

- *Repetibilidad:* Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones.
- *Reproducibilidad:* Es la precisión del método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (días, analistas, laboratorios).

G. Estabilidad de la muestra (17,18)

Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

2.6. ESCALAMIENTO

La transferencia de tecnología a partir de lotes piloto de laboratorio a equipo de planta se denomina escalamiento.⁽²⁾ Este proceso se considera un paso crítico, debido a que el incremento de masa, generalmente trae consigo modificaciones en las condiciones de proceso.⁽¹⁾

El primer factor importante en el escalamiento, es la elección adecuada del equipo tanto para las pruebas de laboratorio como para el escalamiento, es decir, si el equipo piloto es muy pequeño, el proceso de escalamiento difícilmente se llevará a cabo adecuadamente o bien si es muy grande se incurrirá en gastos excesivos, principalmente si el principio activo es costoso. A su vez, para la elección del equipo a gran escala es fundamental considerar los requerimientos del producto en el mercado así como el equipo disponible para el proceso. En ambos casos se debe considerar el tipo de polvo que se esté manejando, es decir, pueden ser polvos secos o bien polvos húmedos ya que de esto dependerá muchas veces la elección del tipo de mezclador.⁽¹⁾

El siguiente paso es evaluar el proceso en forma detallada para determinar las variables críticas y en base a éstas realizar la optimización del proceso.

2.6.1. Factores a considerar en el escalamiento del mezclado

Para que una mezcla de polvos pueda ser comprimida, es necesario asegurar la adecuada distribución del fármaco en la mezcla. Un mezclado inadecuado puede generar variaciones importantes en la uniformidad de contenido, especialmente si el contenido de principio activo es bajo; de ahí la importancia de establecer la velocidad y tiempo óptimo de mezclado.

Durante el mezclado se debe evitar la formación de aglomerados, es por ello que previamente al mezclado se hace necesario el tamizado de los polvos.^(1,2)

Los factores generalmente importantes en la transferencia de tecnología para el mezclado de polvos son: (16)

- a. Tiempo de mezclado.
 - b. Velocidad de mezclado
 - c. Orden de adición
 - d. Humedad
- a. Tiempo de mezclado*

Se puede determinar para mezcladores de diferentes tamaños en función del volumen del lote referido al tamaño de la muestra.

Sin embargo, el grado de homogeneidad disminuye cuando aumentan las cantidades mezcladas, al menos si se quieren mantener tiempos de mezclado aceptables. (1,16)

b. Velocidad de mezclado

La velocidad adquirida por las partículas será tal que en la mayor parte de los casos el trayecto efectuado en el mezclador sea muy largo. Para cierto número de revoluciones por unidad de tiempo, esta velocidad depende de las dimensiones del aparato y crece del centro a la periferia; en ningún punto se deben alcanzar velocidades elevadas que provoquen la segregación. (1,16)

c. Orden de adición

El orden de adición de los diferentes componentes de la mezcla, la manera de adicionar los polvos en el mezclador y el procedimiento de vaciado de la mezcla, son factores que intervienen en el tiempo de mezclado y en la homogeneidad.

En particular, los fenómenos de formación de "puesta" pueden ser la causa de una segregación importante de las partículas. Estos fenómenos se acentúan con el aumento del tamaño de los equipos.⁽¹⁶⁾

d. Humedad

La humedad presente en los polvos y la humedad relativa ambiental son factores de cohesión entre partículas que se acentúan cuanto más elevada es la presión. Por consiguiente, es necesario definir y asegurar la reproducibilidad de los valores de estos parámetros en los diferentes lotes provenientes de una cantidad de polvo que se trabaje.⁽¹⁶⁾

El conocimiento de la repercusión que pueden tener estos parámetros durante el proceso así como en el producto final, son la base para una adecuada optimización.⁽¹⁾

2.7. GENERALIDADES SOBRE LA MELATONINA

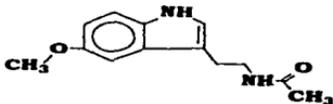


Fig. 2 Fórmula desarrollada de la melatonina (20,34).

Melatonina: n- Acetil-5-metoxi- triptamina

Fórmula condensada: $C_{13}H_{16}N_2O_2$

Descripción: polvo cristalino, inodoro, blanco.

Solubilidad: ligeramente soluble en benceno y tolueno , soluble en metanol. 0.2% soluble en agua a 20°C.

Punto de fusión: 115-119 °C

Reacción: Es neutro en solución acuoso/etanólica.

Productos de descomposición: Al calentarse emite vapores tóxicos de NO_2

Características: La melatonina está compuesta por un Indol sustituido en la posición 3 por una alquilamida y en la posición 6 por un grupo éter; los dobles enlaces conjugados en la molécula permiten su cuantificación por espectrofotometría U.V. El espectro U.V. muestra un máximo a 278 nm y otro a 222 nm ^(20,35), en rangos de concentraciones de 10-20 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y 2-10 $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectivamente en metanol.

La espectrofotometría de infrarrojo es otra posible vía de caracterización de la melatonina; partiendo de que los grupos éter exhiben una banda de alargamiento al enlace C-O, entrando en la región de 1050 - 1260 cm^{-1} .

Las aminas secundarias presentan la banda C=O en la región de 1640-1690 cm^{-1} , con alargamiento de N-H en el rango de 3050-3550 cm^{-1} ; mientras que las aminas aromáticas se caracterizan por presentar dos bandas intensas de 1180 a 1360 cm^{-1} .

^(21,22)

La calorimetría diferencial de barrido es otra opción para la identificación de melatonina, mediante termogramas, la presencia de exotérmicas o endotérmicas pueden proporcionar información como calor latente de fusión, pureza, temperatura de descomposición, formas cristalinas, solubilidad etc. ⁽¹⁴⁾

2.7.1. La melatonina y la Glándula pineal

La glándula pineal es una pequeña estructura en forma de cono truncado situada entre los hemisferios cerebrales del cerebro de los mamíferos; los griegos la denominaron *Konareiron* (en forma de cono), nombre que después fue latinizado a *conarium*. De aquí que se llamen nervios conarios a los nervios simpáticos que la inervan.^(23,24)

La glándula pineal es una evaginación de la parte posterodorsal del techo del tercer ventrículo. Se trata de un cuerpo pequeño y alargado de 100 a 200 mg de peso en el hombre, bañado por el líquido cefalorraquídeo.

La glándula produce una serie de derivados biológicamente activos del triptofano entre los que se encuentran la serotonina y la *melatonina*. Esta última es un metoxiindol (*N*-acetil-5-metoxitriptamina), aislada e identificada por Lerner y colaboradores en 1958.⁽²⁵⁾

2.7.2. Biosíntesis de la melatonina

La síntesis de la melatonina (fig 3), se realiza a partir del triptofano que se hidroxila para formar 5 hidroxitriptofano (por la triptofano-hidroxilasa). La descarboxilación de éste compuesto origina la serotonina (5-hidroxitriptamina). La serotonina es acetilada en los pinealocitos a *N*-acetilserotonina mediante la enzima *N*-acetiltransferasa. La etapa final en la producción de melatonina consiste en la metoxilación de la *N*-acetilserotonina por la acción de la enzima hidroxindol-*O*-metil-transferasa.^(23,24,26)

Biosíntesis de la melatonina

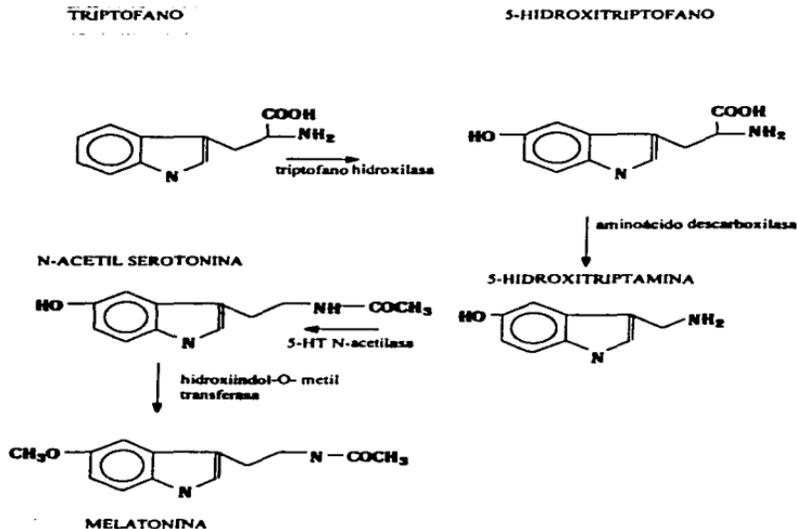


Fig. 3 Biosíntesis de la melatonina a partir del triptofano.^[24]

2.7.3. Influencia de la luz sobre la actividad pineal

En algunas especies, tales como los anfibios, la luz externa sirve de estímulo para la actividad pineal. En otras especies, entre ellas el hombre, la actividad pineal se realiza a través de la liberación de neurotransmisores por impulsos nerviosos que emanan de centros nerviosos, entre ellos el nervio óptico, es por ello que existe un ritmo circadiano pronunciado en la formación de melatonina, ya que ésta sólo tiene lugar en la oscuridad, es decir la melatonina se ve afectada por los ciclos luz oscuridad. (22,23,26)

La acción de la luz sobre los ritmos circadianos se ejerce a través de su inervación simpática, que proviene del ganglio cervical superior (fig. 4). La resección bilateral de este ganglio (desenervación simpática) provoca la desaparición de estos ritmos biológicos.

La vía nerviosa por la cual el efecto de la luz sobre la retina se transmite al ganglio es mediante el haz retinohipotalámico que lleva la señal luminosa al núcleo supraquiasmático del hipotálamo.

Estudios en animales han revelado que la melatonina incrementa la concentración de ácido aminobutírico y serotonina en el hipotálamo y cerebro e incrementa la actividad de la piridoxalquinasa una enzima involucrada en la síntesis de ácido aminobutírico, dopamina y serotonina. (27)

Así mismo la melatonina está involucrada en el desarrollo gonadal y el control del estro en ratas. (27)

Efecto de la luz en la actividad pineal.

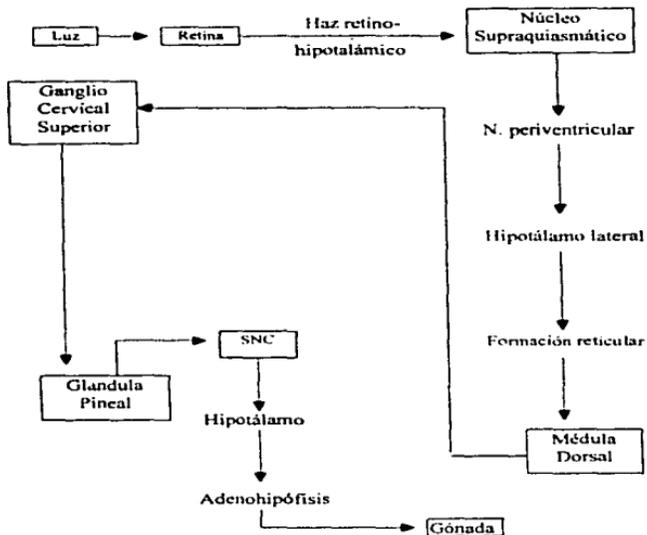


Fig. 4 Acción de la iluminación sobre la función del sistema nervioso central. Vías de transmisión. (23)

2.7.4. Metabolismo de la melatonina

La melatonina producida en la pineal es segregada a la sangre, que es la vía principal, y al líquido cefalorraquídeo.

La valoración de melatonina en fluidos biológicos se efectúa por radioinmunoensayo. La concentración plasmática de melatonina en humanos es de 10 a 300 pg/ml. Circula unida a la albúmina. En el hombre la concentración máxima de melatonina se observa en la época prepupal. La concentración en el líquido cefalorraquídeo es mayor que en el plasma.

En todos los vertebrados estudiados, la concentración de melatonina en sangre, líquido cefalorraquídeo y orina, exhibe un ritmo circadiano con valores nocturnos mucho más elevados que los diurnos. La exposición a la oscuridad aumenta la concentración de melatonina en el líquido cefalorraquídeo y el plasma (24,27,28)

La melatonina se metaboliza principalmente en el hígado y el cerebro. En el hígado se transforma en 6-hidroximelatonina, que es conjugada como sulfato o glucorónido. La 6-hidroximelatonina conjugada representa un 80% de la excreción urinaria de derivados de la melatonina. En el cerebro, la melatonina es oxidada a N-acetil-5-metoxiquinurenina.

2.7.5. Usos terapéuticos

Se ha reportado que la melatonina disminuye los efectos ocasionados por el jet-lag, esto es una desincronización de ritmos biológicos debido a cambios de horario que sufren los viajeros^(29,30,35). Así mismo, juega un papel importante en los procesos termorregulatorios, tanto en humanos como en animales, en las diferentes estaciones del año; este proceso se produce como respuesta a señales producidas por la melatonina al hipotálamo.⁽¹¹⁾

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La desincronización de los ritmos circadianos trae consigo una serie de efectos en el organismo, como son insomnio, irritabilidad, estrés, depresión entre otros. Estas alteraciones son frecuentes en personas que sufren cambios de horario resultantes de viajes a través del meridiano (jet-lag), sin embargo, los problemas de sincronización también suelen presentarse en personas de edad avanzada, esto puede atribuirse a que la glándula pineal llega a sufrir un proceso degenerativo, originando la disminución en la concentración de melatonina y con ello los efectos mencionados, es por ello, que la administración de esta hormona se plantea como una alternativa para disminuir los problemas asociados con la descompensación de esta hormona en el organismo. Además de las propiedades mencionadas, los productos con melatonina se han popularizado en el mercado naturista por su efecto antienviejamiento, sin embargo, esto no se ha demostrado científicamente.

Actualmente, la melatonina se comercializa en 4 marcas comerciales, de las cuales dos son de importación, originando un incremento en los costos de compra-venta, sin garantizar con esto la calidad del producto, ya que por pertenecer al mercado naturista, no es posible asegurar su calidad.

Adicionalmente a esto, la información técnica existente sobre melatonina, no es lo suficientemente amplia, de tal manera que permita soportar la elaboración de una forma farmacéutica con todas sus etapas de desarrollo como son la preformulación, la formulación y el escalamiento.

Por todo lo anterior, el presente proyecto plantea desarrollar una formulación para tabletas de melatonina como producto naturista con calidad farmacéutica, empleando materias primas de fácil adquisición a un precio accesible, de tal manera que pueda competir con los ya existentes en el mercado, cumpla con la expectativas del consumidor y a su vez permita conocer aspectos relevantes de este principio activo en el área farmacéutica como son estudios de caracterización, posibles incompatibilidades, métodos de cuantificación etc.

IV. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una formulación para tabletas de melatonina por compresión directa.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar estudios de preformulación que determinen:
 - Caracterización del principio activo
 - Estudios de compatibilidad fármaco-excipientes
 - Propiedades reológicas de excipientes así como de las mezclas propuestas
 2. Realizar estudios de formulación para la obtención de tabletas de melatonina de acuerdo a los estudios de preformulación
 3. Desarrollar y validar el método analítico para la cuantificación de melatonina durante el establecimiento de las condiciones de mezclado así como para su cuantificación en tabletas.
 4. Realizar el escalamiento con base en los estudios de formulación.
-

V. HIPÓTESIS

Si se consideran las propiedades fisicoquímicas del principio activo y se cumple adecuadamente con las etapas en el desarrollo de un medicamento (preformulación, formulación y escalamiento), se obtendrán las tabletas de melatonina con la calidad de diseño establecida para un producto farmacéutico.

VI. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. MATERIALES

MATERIAL

- Placas cromatográficas
- Cámara de elución
- Cámara de humedad 75% H.R.
- Micropipetas 10, 5 μ l
- Tubos de ensayo Pyrex
- Cámara de elución
- Frascos viales transparentes 5 ml
- Embudo de acero inoxidable No 6
- Embudo de vidrio talle corto Pyrex
- Probeta de 100 ml Pyrex con tapa esmerilada
- Matraces volumétricos 10, 25, 50, 100 ml Pyrex
- Pipetas volumétricas 1,2,3,5 ml Pyrex
- Pipetas graduadas 5, 10 ml Pyrex
- Anillo de hierro
- Soporte universal
- Vasos de precipitado 50, 100, 250, 500

EQUIPOS

- Estufas de estabilidad 40, 50, 60 °C
- CAISA
- Tableadora rotativa Modelo CY-RT-11
- Rotap Modelo B Tyler Industrial Products
- Desintegrador Técnica especializada maya
- Durómetro stokes
- Friabilizador Erweka
- Disolutor Elecsa
- Mezcladores de Corazas gemelas con capacidad para 1 y 5 Kg motor Erweka
- Lámpara U.V. CAMAG UV - Betrachter

INSTRUMENTOS

- Balanza Analítica Ohaus
- Fisher Jones, instrumento para determinar punto de fusión
- Lámpara I.R. AND AD-4714
- Espectrofotómetro UV/VIS Perkin-Elmer Lambda 2

ml Pyrex

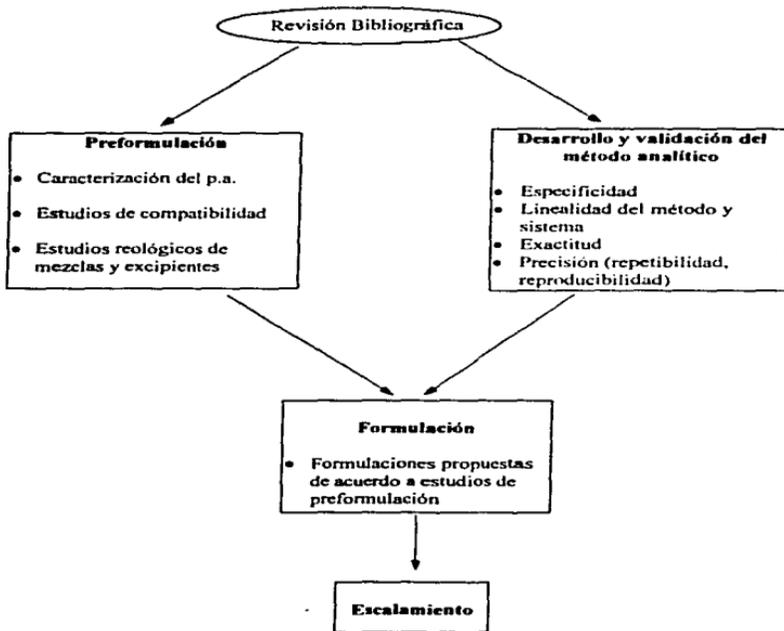
- Tripic
- Tela de asbesto
- Parrilla de calentamiento
- Mechero Bunsen

MATERIAS PRIMAS

- Melatonina, Helm de México
- Lactosa, (*Pharmatose DCL 11*)
Helm de México
- Celulosa Microcristalina, (*Helmcel*)
Helm de México
- Croscarmelosa sódica, Helm de México
- Estearato de Magnesio, Química del centro
- Talco, Química Valchem
- Fosfato dicálcico anhidro,
CEDROSA
- Ac. estéarico CEDROSA
- Metil celulosa, CEDROSA
- Polivinilpirrolidona, (P.V.P.)
CEDROSA
- Almidón de maíz, BASF
- Benzoato de sodio, BASF

DISOLVENTES Y REACTIVOS

- Cloroformo, J.T. Baker analyzed
- Alcohol Metílico, J.T. Baker analyzed
- Acetato de etilo, J.T. Baker analyzed
- Peróxido de Hidrógeno, JT Baker analyzed
- Hidróxido de sodio, J.T. Baker analyzed
- Ácido. Clorhídrico, J.T. Baker Analyzed
- Ácido. Sulfúrico, J.T. Baker analyzed
- Sílica Gel, 254 Merck
- Fosfato monobásico de potasio, J.T. Baker analyzed

6.2. METODOLOGÍA

Experimentalmente el proyecto se dividió en cuatro fases:

- 6.2.1. Preformulación
- 6.2.2 Formulación
- 6.2.3 Desarrollo y validación del método analítico
- 6.2.4. Escalamiento

6.2.1. Preformulación

6.2.1.1. Identidad del principio activo.

Para esta prueba se evaluaron los siguientes parámetros:

- Descripción (apéndice A)
- Solubilidad (apéndice A)
- Punto de fusión (apéndice A)
- pH (apéndice A)
- Pérdida por secado (apéndice A)
- Metales pesados (apéndice A)
- Cenizas(apéndice A)
- Cromatografía en capa fina (apéndice A)
- Espectro I.R. (apéndice C)
- Espectro U.V. (apéndice C)
- Termograma DSC (apéndice C)
- Densidad aparente (apéndice B)
- Densidad compactada (apéndice B)

6.2.1.2. Estabilidad del principio activo.

El estudio de estabilidad, se realizó sometiendo la melatonina a diferentes condiciones (40°C, 50°C, 60°C, 40°C/75% H.R., temperatura ambiente, y luz blanca) en frascos viales transparentes.

La estabilidad del principio activo se evaluó mediante cromatografía en capa fina con sistema de elución cloroformo-metanol (9:1) y sílica gel GF 254 como fase estacionaria. Los tiempos de muestreo se realizaron de acuerdo a la siguiente cédula de estabilidad:

| CONDICIONES | | | | | | |
|---------------------------|------|------|------|---------------|------|------------|
| Tiempos de muestreo(días) | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C/75% H.R. | T.A. | LUZ BLANCA |
| 15 | | | | | | |
| 30 | | | | | | |
| 45 | | | | | | |

Tabla VIII. Cédula de estabilidad para el principio activo. (T.A. = Temperatura Ambiente, H.R. Humedad Relativa)

6.2.1.3. Rutas degradativas.

Se colocaron 20 mg de melatonina en ampulas de vidrio transparentes, sometiéndose a condiciones ácidas, básicas y de oxidación todas a 90°C. La degradación del activo se siguió por cromatografía en capa fina con intervalos de muestreo de 1 hora. El sistema de elución así como la fase móvil fueron los empleados para la estabilidad del principio activo.

| Condiciones para la degradación del principio activo | |
|--|----------------------------------|
| ácidas | HCl 1N |
| básicas | NaOH 1N |
| oxidación | H ₂ O ₂ 3% |

Tabla IX. Condiciones empleadas para la degradación del principio activo a 80°C.

6.2.1.4. *Compatibilidad fármaco excipiente.*

El estudio de compatibilidad fármaco-excipiente se realizó sometiendo las mezclas a las siguientes condiciones 40°C, 50°C, 60°C, 40°C/75% H.R., temperatura ambiente, y luz blanca en proporciones 1:1.

Las mezclas evaluadas fueron las siguientes:

| Mezcla | Excipiente |
|--------|--------------------------|
| 1 | Lactosa |
| 2 | Fosfato dicálcico |
| 3 | Almidón |
| 4 | P.V.P. |
| 5 | Celulosa Microcristalina |
| 6 | Croscarmelosa sódica |
| 7 | Metil-celulosa |
| 8 | Benzoato de sodio |
| 9 | Talco |
| 10 | Ac. esteárico |
| 11 | Estearato de magnesio |

Tabla X. Mezclas fármaco excipiente sometidos a diferentes condiciones

Los tiempos de muestreo fueron cada 15 días durante dos meses, evaluando las mezclas por cromatografía en capa fina bajo las condiciones anteriores.

6.2.1.5. *Formulaciones propuestas.*

Los resultados de los estudios de compatibilidad permitieron la elección de los siguientes excipientes: Lactosa, Celulosa Microcristalina (CM), Croscarmelosa sódica (CCS) y Estearato de magnesio.

Con base a los excipientes seleccionados se propusieron nueve diferentes formulaciones (tabla XI) modificando las proporciones de CM y CCS con la finalidad de evaluar el efecto desintegrante, la CM además de su función como desintegrante, también actuó como diluyente, la lactosa se empleó como diluyente y el estearato de magnesio como lubricante.

| FORMULACION | | | | | | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Materia Prima(%) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Melatonina | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 |
| Lactosa | 58.14 | 53.14 | 48.14 | 54.14 | 49.14 | 44.14 | 50.14 | 45.14 | 40.14 |
| CM | 40 | 45 | 50 | 40 | 45 | 50 | 40 | 45 | 50 |
| CCS | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 8 |
| Estearato de magnesio | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Tabla XI. Formulaciones propuestas con los excipientes seleccionados en el estudio de estabilidad.

6.2.1.6. Pruebas reológicas a excipientes.

Las parámetros reológicos realizados a los excipientes fueron:

- Velocidad de Flujo (apéndice B)
- Ángulo de reposo (apéndice B)
- Densidad aparente (apéndice B)
- Densidad compactada (apéndice B)
- Índice de compactación (apéndice B)
- Índice de Hausner (apéndice B)
- Distribución de tamaño de partícula (apéndice B)
- % de Humedad (apéndice B)

6.2.2. FORMULACIÓN

6.2.2.1. Optimización de condiciones de mezclado.

Debido a la baja proporción del principio activo en la formulación fue necesario establecer la velocidad y el tiempo óptimo de mezclado para garantizar la uniformidad de contenido en las tabletas.

Para ello, se pesaron las cantidades correspondientes a la formulación 5, considerando 500 g como el 100%, colocándose los polvos en el mezclador de corazas gemelas.

Para realizar la curva de mezclado se estableció una velocidad de 27 r.p.m. muestreando cada tres minutos en tres diferentes puntos del mezclador (pierna izquierda, pierna derecha y centro del mezclador), realizando los muestreos por triplicado en cada punto. Este mismo procedimiento se realizó para 34 r.p.m. y 43 r.p.m.

Condiciones para curva de mezclado

| | | | |
|----|---|---|---|
| 3 | • | • | • |
| 6 | • | • | • |
| 9 | • | • | • |
| 12 | • | • | • |
| 15 | • | • | • |
| 18 | • | • | • |
| 21 | • | • | • |
| 24 | • | • | • |
| 27 | • | • | • |
| 30 | • | • | • |

Tabla XII. Tiempos de muestreo y revoluciones por minuto establecidas para determinar las condiciones de mezclado. • Los muestreos se realizaron en diferentes puntos del mezclador, pierna derecha, pierna izquierda y centro.

6.2.2.2. Mezclado de las formulaciones propuestas con parámetros establecidos.

Establecidas las condiciones óptimas del proceso se mezclaron las nueve formulaciones tomando tres muestras de la mezcla al finalizar el proceso para confirmar la homogeneidad del principio activo en la mezcla. El estearato de magnesio se adicionó tres minutos antes del término del mezclado.

6.2.2.3. Determinación de propiedades reológicas de formulaciones.

Después del mezclado de los polvos se les determinó las siguientes propiedades reológicas realizando los análisis por duplicado.

- Velocidad de Flujo (apéndice B)
- Ángulo de reposo (apéndice B)
- Densidad aparente (apéndice B)
- Densidad compactada (apéndice B)
- Índice de compactación (apéndice B)
- Índice de Hausner (apéndice B)
- % de Humedad (apéndice B)

6.2.2.4. Tableteado.

Las mezclas se tabletearon manteniendo la fuerza de compresión y la velocidad de tableteado constantes (209 tab/min), realizando determinaciones de dureza y peso durante el proceso. Todas las mezclas se tabletearon por duplicado.

6.2.2.5. Pruebas de control de calidad a las tabletas.

Las tabletas obtenidas se analizaron de acuerdo a los siguientes parámetros:

Uniformidad de contenido (apéndice B)

Valoración (apéndice B)

Desintegración (apéndice B)

Friabilidad (apéndice B)

Dureza (apéndice B)

Variación de peso. (apéndice B)

6.2.2.6. Selección de la mejor formulación y repetición de la misma

De acuerdo a los parámetros reológicos de las mezclas así como a los resultados de control de calidad a las tabletas, se seleccionó la mejor formulación y se realizó nuevamente por triplicado bajo las mismas condiciones de proceso.

Las tabletas obtenidas se analizaron de acuerdo a los parámetros descritos anteriormente.

6.2.3. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

El método analítico se desarrolló evaluando la respuesta de la melatonina en metanol-NaOH (0.1N), metanol-HCl (0.1N), metanol-H₂O y metanol elegidos de acuerdo a la solubilidad de la melatonina, todos en proporción 1:1. Las mejores respuestas se obtuvieron con las mezclas metanol-agua y metanol, sin embargo por cuestiones de costos, se empleó metanol-agua para el desarrollo de la validación.

Los parámetros evaluados considerando un análisis de rutina de control de calidad fueron: Especificidad, Linealidad del sistema, Precisión del sistema, Linealidad del método, Exactitud, Repetibilidad, Reproducibilidad y Estabilidad de la muestra.

6.2.3.1. Especificidad

Se realizó un barrido de 200 a 400 nm sobreponiendo las gráficas de las siguientes muestras:

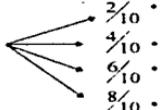
- Placebo
- Placebo cargado
- Estándar de melatonina

El placebo no debe dar respuesta y el placebo cargado se debe superponer al barrido del estándar.

6.2.3.2. Linealidad del sistema

Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración vs absorbancia) preparada a partir de una solución patrón y haciendo el análisis por triplicado para cada nivel.

Las soluciones se prepararon como se describe a continuación:

$$\frac{50\text{mg}}{100\text{ml}} \frac{2\text{ml}}{100\text{ml}} = 10\mu\text{g} / \text{ml}$$


- $\frac{2}{10}$
- $\frac{4}{10}$
- $\frac{6}{10}$
- $\frac{8}{10}$

* La última dilución se realizó por triplicado.

6.2.3.3. Precisión del sistema

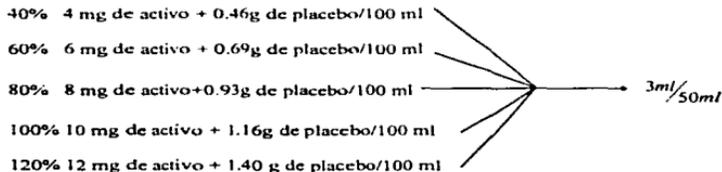
El análisis se determinó por sextuplicado partiendo de una misma solución patrón correspondiente al 100%, siguiendo las siguientes diluciones:

$$\frac{50\text{mg}}{100\text{ml}} \frac{2\text{ml}}{100\text{ml}} = 10\mu\text{g} / \text{ml} \longrightarrow \frac{6}{10} \cdot$$

* Dilución por sextuplicado

6.2.3.4. Linealidad del método

Se determinó a partir de placebos adicionados de 5 diferentes concentraciones de activo. Cada una de manera independiente, realizando el análisis por triplicado en cada concentración.



6.2.3.5. Exactitud y repetibilidad al 100%

Realizar el procedimiento empleado para el 100% en linealidad del método, realizando pesadas independientes por sextuplicado.

6.2.3.6. Reproducibilidad

Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100%, de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas en dos diferentes días por triplicado.

| | | Día | |
|----------|---|-----|---|
| | | 1 | 2 |
| Analista | 1 | • | • |
| | | • | • |
| | | • | • |
| | 2 | • | • |
| | | • | • |
| | | • | • |

•Pesadas independientes cercanas al 100%

6.2.3.7. Estabilidad de la muestra

Se realiza mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de nueve muestras (3 de cada condición) después de permanecer 48 horas a condiciones de obscuridad, luz, y refrigeración. Las muestras se leyeron a las 24 y 48 horas, y se prepararon aproximadas al 100%.

6.2.4. ESCALAMIENTO

Se mezclaron dos lotes de 5 Kg. de polvo a una velocidad de 18 r.p.m. con tiempos de mezclado de 18 min. y 21 min. respectivamente. La evaluación de las mezclas se realizó mediante muestreos en nueve diferentes puntos del mezclador con la finalidad de determinar el tiempo óptimo de mezclado. De acuerdo a los resultados obtenidos, los siguientes 3 lotes se realizaron con el tiempo y velocidad establecidos.

Las pruebas reológicas efectuadas a las mezclas de polvos, así como los controles de calidad a las tabletas se efectuaron de la misma forma que para los lotes piloto.

Se realizaron controles de dureza y variación de peso durante el proceso para mantener a las tabletas bajo especificaciones establecidas.

VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS

7.1. PREFORMULACIÓN

7.1.1. Pruebas de identidad del principio activo

| Determinaciones | | Especificaciones | Resultados |
|----------------------------|--|--|-------------|
| Descripción | | Polvo blanco inodoro | Conforme |
| Solubilidad | | Ligeramente soluble en benceno y tolueno; soluble en metanol | Conforme |
| Punto de fusión | | 115°C-119°C | 116°C-119°C |
| pH | | 7.8 | 7.4 |
| Perdida al secado | | Máximo 1.0% | 0.8% |
| Metales Pesados | | No más de 200 ppm | Conforme |
| Cenizas | | Menos de 0.05 % | 0.03 % |
| Espectro I.R. U.V. y DSC | | estándar de referencia | Conforme |
| Cromatografía en capa fina | | R_f 0.55 | 0.51 |
| Densidad aparente | | Sin especificación | 0.54 |
| Densidad compactada | | sin especificación | 0.83 |
| Índice de compactación | | Sin especificación | 34.66% |
| Índice de Hausner | | Sin especificación | 1.53 |

Tabla XIII. Resultados de pruebas de identidad realizados al principio activo.

7.1.2. Estabilidad del principio activo

La melatonina no presentó degradación física y química después de ser expuesta a 40°C, 50°C, 60°C, 40°C/75% H.R., luz blanca y temperatura ambiente en frascos viales durante 45 días. Los R_f obtenidos fluctuaron en el rango de 0.40 - 0.53, mientras que el R_f del std fue de 0.55.

| Condición | Tiempo de muestreo (días) | | |
|----------------------------------|---------------------------|----|----|
| | 15 | 30 | 45 |
| 40°C | - | - | - |
| 50°C | - | - | - |
| 60°C | - | - | - |
| 40°C/75% H.R. | - | - | - |
| Luz blanca | - | - | - |
| T. ambiente | - | - | - |
| - Indica ausencia de degradación | | | |

Tabla XIV. Resultados de estabilidad del principio activo a diferentes condiciones

7.1.3. Rutas degradativas

CONDICIONES EMPLEADAS PARA LA DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

| Condiciones | Tiempo de muestreo (horas) | | |
|--|----------------------------|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Ácidas | - | + | + |
| Básicas | - | + | + |
| Oxidación | - | + | + |
| - Sin degradación, + muestra degradada | | | |

Tabla XV. Degradación del principio activo en diferentes condiciones de degradación.

El principio activo presentó degradación en las tres condiciones a las que se sometió; ésto se puede explicar por la hidrólisis de la amida tanto en medio ácido como en medio básico, originando la formación de ácido acético.

Por otro lado los grupos amida y éter no son susceptibles a la oxidación, sin embargo considerando que el peróxido se encuentra en solución, se favorece la hidrólisis de la amida y la protonación del éter, originando un alcohol que al oxidarse forma un grupo aldehído.

7.1.4. Compatibilidad fármaco excipiente

| Melatonina Excipiente (1:1) | 40°C | 50°C | 60°C | 40°C 75% H.R. | Luz | F.A |
|--------------------------------|------|------|------|------------------|-----|-----|
| Lactosa | - | - | - | - | - | - |
| Fosfato dicálcico | - | - | - | - | - | - |
| Almidón | - | - | - | - | - | - |
| P.V.P. | - | - | - | - | - | - |
| Celulosa Microcristalina | - | - | - | - | - | - |
| Croscarmelosa sódica | - | - | - | ++ | - | - |
| Metil celulosa | - | - | - | - | - | - |
| Benzoato de sodio | - | + | + | + | - | - |
| Talco | - | + | + | - | - | - |
| Ac. esteárico | - | ++ | ++ | - | - | - |
| Estearato de magnesio | - | - | - | - | - | - |

- mezclas que no presentaron degradación, + degradación química, ++ degradación física

Tabla XVI. Resultados de confrontación fármaco-excipiente (1:1) a diferentes condiciones

No se observó degradación en las 13 mezclas a las condiciones de 40°C, luz y temperatura ambiente.

En condiciones de humedad la croscarmelosa sódica presentó degradación física (cambio de color) después del tercer muestreo, sin embargo no presentó degradación química, esto se pudo corroborar con las pruebas de cromatografía en capa fina.

La mezcla de benzoato de sodio-melatonina, presentó incompatibilidad a 50°C, 60°C y 40°C/75% H.R. después de 30 días de exposición.

A 50°C y 60°C se observó cambio físico de la mezcla ácido esteárico-melatonina.

7.1.5. Propiedades reológicas de los excipientes propuestos

| | Lactosa | Celulosa microcristalina | Croscarmelosa sódica |
|----------------------------|---------|-----------------------------|-------------------------|
| Parámetro | | | |
| Velocidad de Flujo (g/min) | 11.01 | 6.69 | No fluye |
| Angulo de reposo (°) | 22,82 | 29.82 | - |
| Densidad aparente (g/ml) | 0.61 | 0.32 | 0.55 |
| Densidad compactada (g/ml) | 0.76 | 0.42 | 0.80 |
| Índice de compactación | 19.67 | 24.59 | 31.48 |
| Índice de Hausner | 1.24 | 1.32 | 1.45 |
| Humedad (%) | 3.6 | 1.7 | 1.4 |

Tabla XVII. Propiedades reológicas de excipientes empleados en la formulación.

La lactosa presentó mejores características reológicas que la celulosa microcristalina, no obstante ésta última presenta parámetros reológicos aceptables con excepción del índice

de compactación, esto se explica por la diferencia entre los valores de densidad aparente y densidad compactada, lo cual se atribuye a que existe mayor variación en tamaños de partícula para la celulosa que para la lactosa, (fig. 5) reflejándose a su vez en la disminución de la velocidad de flujo.

Por otro lado, la croscarmelosa sódica presentó problemas de flujo, esto se atribuye a la presencia de tamaños de partícula menores a 50 μ ., favoreciéndose la cohesividad entre los polvos.

7.1.6. Distribución de tamaño de partícula.

| Tamaño de partícula (micras) | Lactosa | Celulosa Microcristalina | Croscarmelosa sódica |
|---------------------------------|---------|-----------------------------|-------------------------|
| 250 | 0.19 | 0.55 | 0.15 |
| 177 | 3.23 | 4.89 | 0.19 |
| 149 | 20.03 | 16.08 | 0.079 |
| 125 | 24.50 | 13.30 | 0.079 |
| 74 | 25.76 | 16.48 | 0.09 |
| 50 | 8.50 | 6.77 | 0.2373 |
| < 50 | 17.81 | 41.93 | 98.16 |

Tabla XVIII. Distribución de tamaño de partícula para los diferentes excipientes empleados en la formulación

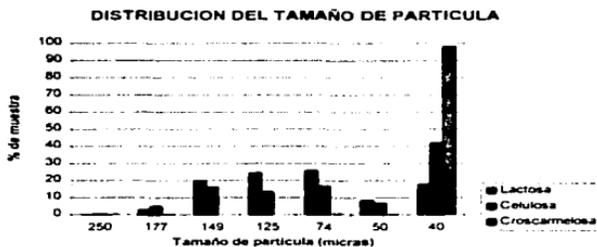


Fig. 5 Distribución de tamaño de partícula para los excipientes empleados.

La fig. 5 muestra que la lactosa presenta tamaños de partícula adecuados para la fabricación de tabletas por compresión directa, lo cual se confirma con los parámetros reológicos. Respecto a la celulosa microcristalina, el rango de distribución es menos homogéneo que para la lactosa, existiendo mayor proporción de partículas menores a 50 μ , reflejándose en una disminución de la velocidad de flujo. La croscarmelosa por su parte presenta malas características de flujo por ser en su mayoría polvos finos, sin embargo, es necesario aclarar que éste excipiente se encuentra sólo al 4% dentro de la formulación.

7.1.7. Optimización de condiciones de mezclado

A. Resultados promedio de curvas de mezclado

| Tiempo (min) | 27 r.p.m. | | 34 r.p.m. | | 43 r.p.m. | |
|--------------|-----------|-------|-----------|------|-----------|-------|
| | % | S | % | S | % | S |
| 3 | 107.07 | 6.74 | 82.41 | 9.64 | 92.58 | 20.86 |
| 6 | 108.62 | 4.35 | 88.96 | 8.69 | 101.88 | 3.90 |
| 9 | 99.25 | 2.14 | 91.36 | 5.12 | 101.71 | 4.80 |
| 12 | 122.87 | 19.33 | 85.15 | 7.44 | 107.77 | 3.62 |
| 15 | 102.35 | 24.59 | 90.99 | 3.44 | 106.39 | 1.27 |
| 18 | 98.05 | 6.33 | 93.22 | 5.92 | 96.46 | 15.42 |
| 21 | 96.75 | 6.67 | 90.67 | 6.93 | 104.51 | 2.69 |
| 24 | 100.16 | 5.49 | 93.41 | 4.39 | 104.16 | 4.52 |
| 27 | 101.46 | 4.91 | 94.54 | 3.36 | 101.96 | 1.86 |
| 30 | 106.86 | 14.95 | 91.36 | 5.18 | 101.09 | 9.26 |

Tabla XIX. Porcientos promedio de melatonina a las tres diferentes r.p.m. con sus respectivas desviaciones estándar (S).

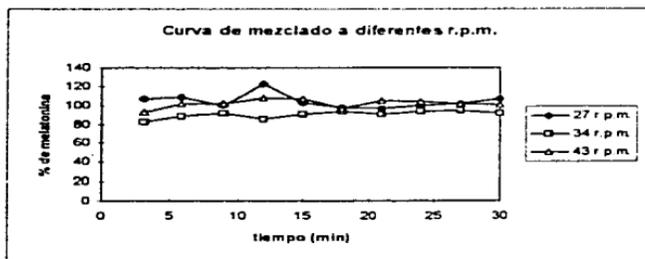


Fig. 6 Curva de mezclado promedio a diferentes revoluciones por minuto.

Curvas de mezclado individuales

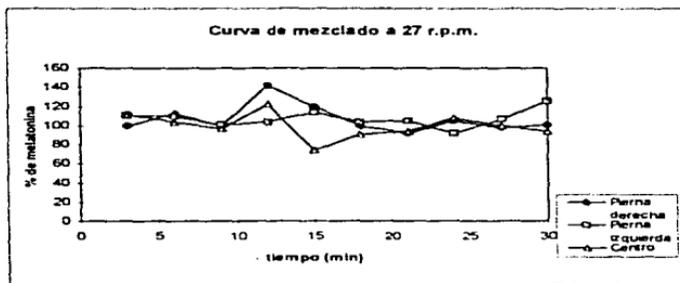


Fig. 7 Por ciento de melatonina promedio en tres diferentes puntos del mezclador de corazas gemelas a 27 r p.m.

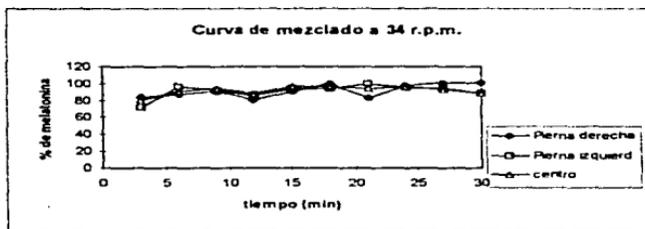


Fig.8 Por ciento de melatonina promedio en diferentes puntos del mezclador de corazas gemelas a 34 r p.m.

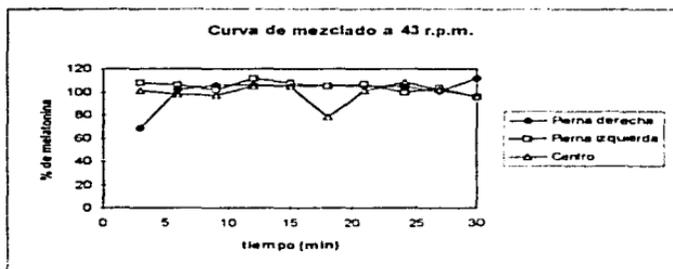


Fig 9 Porcentaje de melatonina promedio en diferentes puntos del mezclador de corazas gemelas a 43 r.p.m.

De acuerdo a las desviaciones estándar, los resultados obtenidos en las curvas de mezclado muestran que a 27 r.p.m. la mayor homogeneidad se alcanzó a los 9 minutos (tabla XIX), mientras que para 34 r.p.m. y 43 r.p.m., a los 15 ó 27 minutos, se obtienen mezclas homogéneas, sin embargo los niveles de principio activo no son del todo favorables, es decir, no son próximos al 100%.

Por lo tanto, los parámetros establecidos para realizar el mezclado de las 9 formulaciones fueron 9 minutos de mezclado a una velocidad de 27 r.p.m. A continuación se muestran los resultados de la evaluación de las mezclas con los parámetros establecidos

B. Cuantificación de melatonina en las mezclas de las formulaciones propuestas a 9 minutos y 27 r.p.m.

| Formulación | Puntos del mezclador | | | media |
|-------------|----------------------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | |
| 1 | 103.13 | 102.99 | 105.49 | 103.83 |
| 2 | 92.67 | 98.0 | 100.18 | 96.95 |
| 3 | 101.36 | 94.22 | 103.76 | 99.78 |
| 4 | 92.57 | 98.59 | 99.79 | 96.98 |
| 5 | 102.84 | 99.25 | 100.80 | 100.96 |
| 6 | 101.93 | 102.19 | 103.74 | 102.62 |
| 7 | 104.45 | 104.77 | 101.60 | 103.66 |
| 8 | 99.44 | 97.45 | 104.16 | 100.35 |
| 9 | 95.13 | 94.33 | 97.21 | 95.55 |

Tabla XX. Porcientos promedio de melatonina cuantificados a 9 minutos y 27 r.p.m. en las mezclas propuestas. A) pierna izquierda, B) pierna derecha, C) centro del mezclador.

Los resultados mostrados en la tabla XX reflejan una adecuada distribución del principio activo en las formulaciones. Esto confirma que los parámetros establecidos para el mezclado fueron apropiados.

7.1.8. Pruebas reológicas de las diferentes formulaciones

| Parámetro | Formulación | | | | | | | | |
|----------------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Velocidad de flujo (g/s) | 5.60 | 5.71 | 5.50 | 5.29 | 5.83 | 5.42 | 5.51 | 5.54 | 5.06 |
| Angulo de reposo (°) | 30.28 | 29.96 | 30.61 | 30.86 | 26.96 | 30.24 | 35.56 | 35.55 | 35.01 |
| Densidad aparente (g/ml) | 0.51 | 0.48 | 0.46 | 0.50 | 0.46 | 0.46 | 0.46 | 0.47 | 0.45 |
| Densidad compactada (g/ml) | 0.65 | 0.60 | 0.58 | 0.65 | 0.59 | 0.60 | 0.61 | 0.62 | 0.61 |
| Índice de compactación | 21.50 | 20.60 | 20.68 | 22.33 | 22.03 | 23.33 | 24.59 | 24.19 | 26.22 |
| Índice de Hausner | 1.27 | 1.25 | 1.26 | 1.28 | 1.28 | 1.30 | 1.32 | 1.31 | 1.35 |
| Humedad % | 2.1 | 2.3 | 2.0 | 2.1 | 1.9 | 2.0 | 1.9 | 2.2 | 2.3 |

Tabla XXI. Parámetros reológicos para las nueve formulaciones propuestas.

Los parámetros de humedad y velocidad de flujo, se pueden considerar adecuados tomando en cuenta que se trata de polvos para compresión directa, ya que esta humedad puede servir como lubricante evitando la fricción entre las partículas.⁽³⁶⁾

Respecto al ángulo de reposo las seis primeras formulaciones presentaron resultados aceptables considerando que un flujo libre y una baja cohesividad entre partículas se da con ángulos de reposo menores a 30°. ⁽¹⁴⁾

En las tres últimas formulaciones la fricción y la cohesividad entre partículas se incrementa ya que presentan ángulos mayores a 35°. Esta alteración en las características de flujo se atribuye al incremento de croscarmelosa sódica en dichas formulaciones, ya que como se analizó anteriormente no posee buenas características de flujo.

Los resultados de índice de compactación e índice de Hausner miden indirectamente las densidades y las propiedades de flujo de los polvos. Así, de acuerdo con el valor del índice de compactación, las cinco primeras formulaciones presentan buen flujo, (14) sin embargo, los problemas de flujo se presentan nuevamente en las últimas formulaciones puesto que presentan valores mayores a 25.

El índice de Hausner revela que las formulaciones presentan buen flujo, puesto que los valores son menores a 1.5 en todos los casos, sin embargo las primeras mezclas 1, 2, y 3 presentan mejor fluidez de acuerdo a este parámetro.

7.1.9. Parámetros de control de calidad para las tabletas

| Parámetro | Formulación | | | | | | | | |
|------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Frabilidad (%) | 0.02 | 0.02 | 0.015 | 0.02 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.015 |
| Dureza (Kg) | 10.85 | 10.90 | 10.72 | 11.40 | 10.15 | 11.09 | 10.20 | 11.70 | 11.10 |
| Desintegración (min) | 7.05 | 11.0 | 8.5 | 2.5 | 1.36 | 2.83 | 2.16 | 2.13 | 2.91 |
| Valoración (%) | 100.89 | 92.33 | 98.16 | 96.87 | 98.86 | 101.40 | 100.83 | 93.35 | 94.29 |
| Uniformidad de contenido (%) | 102.31 (2.01) | 92.48 (3.30) | 99.00 (3.08) | 94.62 (2.98) | 102.70 (2.29) | 97.47 (2.94) | 102.87 (5.17) | 94.55 (3.86) | 96.96 (3.75) |
| Peso promedio (mg) | 351.1 (1.31) | 351.2 (1.92) | 352.7 (1.45) | 354.3 (1.32) | 352.17 (1.67) | 353.1 (1.93) | 350.4 (4.30) | 349.9 (2.48) | 343.3 (2.77) |

Tabla XXII. Parámetros de control de calidad promedio realizados a las tabletas de las nueve formulaciones. Los resultados en paréntesis indican coeficientes de variación.

En uniformidad de contenido partiendo de que se tienen menos de 50 mg de principio activo por tableta, los márgenes de aceptación se consideran del 100 \pm 15%, (41). Por tanto, los parámetros obtenidos para el mezclado fueron adecuados comprobándose tanto con la uniformidad de contenido como con la valoración.

En peso promedio las formulaciones 7, 8 y 9 presentaron mayor coeficiente de variación ésto se atribuyó a las propiedades reológicas de las mezclas, que como se analizó anteriormente, (tabla XXI) son las que presentaron mayores problemas de flujo.

Con respecto al tiempo de desintegración, se observa que en las formulaciones 4, 5 y 6 la presencia de croscarmelosa sódica disminuye el tiempo de desintegración respecto a las primeras formulaciones que no presentan desintegrante, en tanto que, en las formulaciones 7, 8 y 9 el incremento de croscarmelosa no modificó el tiempo de desintegración en relación a las formulaciones centrales.

En las primeras tres formulaciones la celulosa microcristalina actúa como desintegrante además de diluyente, mientras que en las formulaciones subsiguientes se manejaron combinaciones de CM-CCS empleando este último excipiente como principal desintegrante. Los tiempos de desintegración se analizaron mediante un análisis de varianza de dos factores el cual reveló que no existe efecto de celulosa microcristalina sobre el tiempo de desintegración, sin embargo sí existe efecto de la interacción CM-CCS así como de la CCS.

Análisis de varianza de dos factores para el tiempo de desintegración

1. Ho: No hay efecto de la CCS en el tiempo de desintegración
Ha: Si hay efecto de la CCS en el tiempo de desintegración
2. Ho: No hay efecto de la CM en el tiempo de desintegración
Ha: Si hay efecto de la CM en el tiempo de desintegración
3. Ho: No hay efecto de la interacción CM-CCS en el tiempo de desintegración
Ha: Si hay efecto de la interacción CM-CCS en el tiempo de desintegración

| | | CCS | | |
|------|--|------|------|------|
| | | 0% | 4% | 8% |
| 40% | | 7.16 | 2.0 | 2.0 |
| | | 7.5 | 3.0 | 2.25 |
| | | 6.5 | 2.5 | 2.25 |
| 45 % | | 10 | 1.5 | 2.0 |
| | | 10 | 1.5 | 2.25 |
| | | 13 | 1.08 | 2.16 |
| 50 % | | 8.5 | 2.0 | 3.0 |
| | | 8.5 | 3.5 | 3.0 |
| | | 8.5 | 3.0 | 2.75 |

Tabla XXIII. Tiempos de Desintegración en minutos de las tabletas para los diferentes niveles de CM y CCS

Análisis de Varianza

| Fuente de Varianza | GL | SC | CM | F _{calculado} | F _{tablas} |
|--------------------|----|--------|--------|------------------------|---------------------|
| CCS | 2 | 256.15 | 128.07 | 21.39 | 10.65 |
| CM | 2 | 4.78 | 2.36 | 0.39 | 10.65 |
| Interacción | 4 | 23.94 | 5.98 | 1280 | 9.60 |
| Error | 18 | | 0.46 | | |

Tabla XXIV. Análisis de Varianza para los tiempos de desintegración de los núcleos

Conclusión

1. $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tablas}}$, por tanto se rechaza H_0 y si hay efecto de la CCS en el tiempo de desintegración con un $\alpha = 0.05$.
2. $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tablas}}$, por tanto se acepta H_0 y no hay efecto de la CM en el tiempo de desintegración con $\alpha = 0.05$.
3. $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tablas}}$, por tanto se rechaza H_0 y si hay efecto de la interacción CM-CCS con un nivel de significancia de 0.05.

7.2. ELECCIÓN DE LA FORMULACIÓN

Retomando las propiedades reológicas así como los controles de calidad se observa que las primeras seis formulaciones presentan características aceptables, sin embargo la formulación 5 presenta mejores valores para el índice de compactación, velocidad de flujo y ángulo de reposo y por tanto mejor fluidez y menor cohesividad, lo que resulta

importante en el proceso de tableteo, comprobándose con los resultados de variación de peso.

7.2.1. Parámetros de control de calidad a tabletas de la formulación seleccionada

| Parámetro | 1 | 2 | 3 | Tabletas comerciales |
|------------------------------|-----------------|------------------|------------------|----------------------|
| Friabilidad (%) | 0.02 | 0.02 | 0.03 | 0.3 |
| Dureza (Kg) | 9.60 | 9.80 | 9.44 | 4.6 |
| Desintegración (min) | 3.5 | 3.0 | 3.2 | 4.0 |
| Valoración (%) | 100.28 | 97.17 | 104.73 | 93.9 |
| Uniformidad de Contenido (%) | 104.26 (2.2) | 102.38 (2.8) | 104.84 (2.3) | |
| Peso promedio(mg) | 352.1 (1.84) | 356.01 (3.28) | 366.14 (2.69) | 504.2 (3.3) |
| Humedad (%) | 2.0 | 3.4 | 3.2 | |

Tabla XXV. Comparación de parámetros de control de calidad entre la formulación seleccionada y tabletas comerciales.

Los resultados de tiempo de desintegración fueron menores que el de las tabletas comerciales.

La dureza de los lotes piloto fué mayor en relación a las tabletas comerciales resultando favorable debido a que se disminuyen riesgos de fractura durante la manipulación de las tabletas y mejora su estética.

En general se puede decir que la formulación seleccionada (formulación 5) cumple con las características de calidad deseables en una tableta capaz de competir con las ya existentes en el mercado.

7.3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

7.3.1. Linealidad del sistema

| | | | |
|-------|-------|--------|-----------------------|
| 1.996 | 0.225 | 0.2259 | 1.1×10^{-3} |
| 1.996 | 0.223 | 0.2259 | -2.9×10^{-3} |
| 1.996 | 0.227 | 0.2259 | 1.1×10^{-3} |
| 3.992 | 0.452 | 0.4559 | -3.9×10^{-3} |
| 3.992 | 0.456 | 0.4559 | 1×10^{-4} |
| 3.992 | 0.459 | 0.4559 | 3.1×10^{-3} |
| 5.998 | 0.685 | 0.6852 | 8×10^{-4} |
| 5.998 | 0.689 | 0.6852 | 2×10^{-4} |
| 5.998 | 0.686 | 0.6852 | 3.8×10^{-4} |
| 7.984 | 0.917 | 0.9148 | 2.2×10^{-3} |
| 7.984 | 0.912 | 0.9148 | 2.8×10^{-3} |
| 7.984 | 0.910 | 0.9148 | 4.8×10^{-3} |

Tabla XXVI. Curva de calibración de absorbancia vs concentración para linealidad del sistema.

Ecuación de la recta.

$$Y = 0.1150x - 3.66 \times 10^{-3} + 9.78 \times 10^{-3}$$

Prueba de hipótesis para la ordenada al origen

$$H_0: \beta = 0$$

$$H_a: \beta \neq 0$$

Criterio de aceptación:

$$t_{\text{calc}} \leq t_{\text{tab}} 1-\alpha/2$$

$$-0.2211 < 2.365$$

Conclusión: Se acepta H_0 , por tanto, la ordenada al origen no es significativamente diferente de cero, con $\alpha = 0.05$

Andeva para la regresión lineal

H_0 : Y no depende linealmente de X

H_a : Y depende linealmente de X

| | | | | |
|-----------|---|----------------------|----------------------|---------|
| Regresión | 1 | 0.7900 | 0.7900 | 71823.9 |
| Error | 7 | 7.5×10^{-5} | 1.1×10^{-5} | |
| Total | 8 | | | |

Tabla XXVII Análisis de varianza para la regresión

Criterio de aceptación

$$F_{\text{calc}} \leq F_{\text{tab}} 1-\alpha/2$$

$$71823.96 > 8.07$$

Conclusión: Se rechaza H_0 , por tanto Y depende linealmente de X con un nivel de significancia de 0.05.

Coefficiente de Variación:

$$\text{C.V.} = (5.73 \times 10^{-4} / 0.1143) \times 100 = 0.5005\%$$

7.3.2. Precisión del sistema:

| |
|-------|
| 0.685 |
| 0.689 |
| 0.980 |
| 0.686 |
| 0.683 |
| 0.697 |

Coefficiente de variación:

$$\text{C.V.} = (5.88 \times 10^{-3} / 0.6866) \times 100 = 0.8574 \%$$

7.3.3 Linealidad del método

| Cantidad cada litro de agua | Cantidad de resolva en litros | Resolva |
|--------------------------------|-------------------------------------|---------|
| 4 30 | 4 34 | 100 93 |
| 4 30 | 4 38 | 101 86 |
| 4 10 | 4 19 | 102 19 |
| 6 30 | 6 27 | 99 52 |
| 6 10 | 6 24 | 102 29 |
| 6 20 | 6 16 | 99 35 |
| 8 10 | 8 31 | 102 63 |
| 8 00 | 8 03 | 100 37 |
| 8 20 | 8 15 | 99 39 |
| 10 20 | 10 29 | 100 88 |
| 10 20 | 10 34 | 101 37 |
| 10 10 | 10 08 | 99 80 |
| 12 30 | 12 43 | 101 07 |
| 12 10 | 12 48 | 103 18 |
| 12 00 | 12 08 | 99 87 |

Tabla XXVIII. Curva de linealidad para el metodo analitico

Ecuación de la recta:

$$Y = 1.0150x - 0.0374 + 5 \times 10^{-4}$$

Prueba de Hipotesis para la ordenada al origen

Ho: $b=0$

Ha: $b \neq 0$

Criterio de aceptación:

$$t_{\text{calc}} \leq t_{\text{tab}} \quad 1-\alpha/2 \\ -0.4473 < 2.365$$

Conclusión: $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$, por tanto la ordenada al origen no es significativamente diferente de cero con $\alpha = 0.05$.

Intervalo de confianza:

$$(-0.2632 < -0.0374 < 0.1873)$$

Prueba de hipótesis para la pendiente

$H_0: m=1$

$H_a: m \neq 1$

Criterio de aceptación

$$t_{\text{calc}} \leq t_{\text{tab}} \quad 1-\alpha/2 \\ 1.5271 < 2.365$$

Conclusión: Se acepta H_0 , por tanto la pendiente no es significativamente diferente de uno, con $\alpha = 0.05$.

Intervalo de confianza:

$$0.9732 < 1.0326 < 1.0921$$

Análisis de Varianza para la regresión:

| Tipos de Variación | g l | Suma de cuadrados | Medida de cuadrados | F _{calc} |
|--------------------|-----|-------------------|---------------------|-------------------|
| Regresión | 1 | 120.9044 | 120.9044 | 5737.8359 |
| Error | 7 | 0.1475 | 0.0210 | |
| total | 8 | | | |

Tabla XXIX. Andeva para la regresión lineal.

Criterio de aceptación :

$$F_{\text{calc}} \leq F_{\text{tab } 1-\alpha/2}$$

$$5737.83 > 8.07$$

Conclusión : Se acepta la hipótesis alterna con $\alpha = 0.05$. Y si depende linealmente de X.

Coefficiente de variación:

$$C.V. = (1.2869 / 100.9511) \times 100 = 1.2748$$

7.3.4. Exactitud:

| % Precisión |
|-------------|
| 100.88 |
| 99.40 |
| 97.84 |
| 101.37 |
| 98.72 |
| 99.80 |

Coefficiente de variación:

$$C.V. = (1.31877/ 99.66) \times 100 = 1.3231$$

Prueba de hipótesis

$H_0: \mu = 100$

$H_a: \mu \neq 100$

Criterio de aceptación:

$$t_{\text{calc}} \leq t_{\text{tab}} \quad 1-\alpha/2$$

$$-0.6160 < 2.571$$

Conclusión: Se acepta H_0 , por tanto la media no es significativamente diferente de 100 con un nivel de significancia de 0.05.

Intervalo de confianza:

$$(98.2841 < 99.6683 < 101.0524)$$

7.3.4. Precisión del método

Repetibilidad

| |
|--------|
| 100.88 |
| 99.40 |
| 97.84 |
| 101.37 |
| 98.72 |
| 99.80 |

Prueba de hipótesisH₀: $\sigma = 2 \%$ H_a: $\sigma \neq 2 \%$ **Criterio de aceptación:**

$$\chi^2_{calc} \leq \chi^2_{tab 1-\alpha/2}$$

$$6.0 < 12.832$$

Conclusión se acepta H₀, la varianza no es significativamente diferente de 2%, con $\alpha=0.05$

Intervalo de confianza:

$$(0.8231 < 1.4307 < 3.2346)$$

Reproducibilidad

| | | DÍA | |
|----------|---|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| ANALISTA | 1 | 100.67 | 99.52 |
| | | 101.49 | 99.90 |
| | | 101.74 | 100.68 |
| 2 | 1 | 100.43 | 101.87 |
| | | 96.32 | 100.27 |
| | | 101.26 | 101.87 |

Tabla XXX. Porcentos de recobro de melatonina para reproducibilidad

Ho: No hay efecto del analista

Ha: Hay efecto del analista

Ho: No hay efecto del día

Ha: Hay efecto del día

Ho: No hay efecto de la interacción analista-día

Ha: Hay efecto de la interacción analista-día

Análisis de Varianza

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de Cuadrados | MS | F |
|---------------------|--------------------|-------------------|---------|---------|
| Analista | 1 | 0.3267 | 0.3267 | 0.03261 |
| Día | 1 | 8.4065 | 8.4065 | 8.4065 |
| Interacción | 1 | 10.0170 | 10.0170 | 4.7065 |
| Error | 8 | 17.0264 | 2.1283 | |

Tabla XXXI. Andeva para reproducibilidad.

Criterio de aceptación:

$$F_{\text{calc}} \leq F_{\text{tab}} 1-\alpha/2$$

Para analista:

$$0.03261 < 647.8$$

Para día

$$-0.1607 < 647.8$$

Para la interacción analista - día

$$4.7065 < 6.72$$

Conclusiones: No hay efecto del día, analista y de la interacción analista día, por lo tanto el método es reproducible.

Coefficiente de variación

$$C.V. = (1.5303/100.5016) \times 100 = 1.5226$$

7.3.6. Estabilidad de la muestra**Refrigeración**

| Inicial | 24 hrs | 48 hrs |
|---------|--------|--------|
| 100.88 | 100.19 | 99.41 |
| 99.40 | 101.59 | 98.11 |
| 97.84 | 102.73 | 99.44 |

Oscuridad

| Inicial | 24 hrs | 48 hrs |
|---------|--------|--------|
| 103.45 | 96.77 | 103.23 |
| 101.37 | 100.29 | 98.76 |
| 98.72 | 102.10 | 99.92 |

Luz

| Inicial | 24 hrs | 48 hrs |
|---------|--------|--------|
| 95.98 | 106.78 | 98.27 |
| 99.80 | 101.04 | 99.10 |
| 103.60 | 98.06 | 102.5 |

Intervalos de Confianza

| Condición | Tiempo de muestreo (hrs) | Intervalo de confianza | Factor I |
|---------------|--------------------------|------------------------|----------|
| Refrigeración | 24 | (-0.6346 - 4.8946) | 102.17 |
| | 48 | (-2.6776 - 1.9042) | 99.62 |
| Oscuridad | 24 | (-6.3147 - 3.3947) | 98.62 |
| | 48 | (-5.0216 - 3.9216) | 99.47 |
| Luz | 24 | (-4.3323 - 8.6723) | 102.37 |
| | 48 | (-4.7577 - 5.0777) | 100.20 |

Tabla XXXII . Intervalos de confianza y factor Y expresado en porcentaje para estabilidad de la muestra

La muestra es estable a todas las condiciones a 24 hrs y 48 hrs, ya que el intervalo de confianza incluye el valor cero, y el factor I se encuentra dentro de los límites establecidos para métodos espectrofotométricos (97%-103%).

7.3.7. Especificidad

Las muestras de placebo no presentaron respuesta en el barrido de 200 a 400 nm empleando metanol-agua (1:1).

El placebo cargado y el estándar, presentaron lecturas equivalentes en el intervalo mencionado empleando metanol -agua 1:1 (apéndice C).

7.3.8. RESULTADOS GENERALES DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

| Parámetro | Resultados obtenidos | Criterio de aceptación |
|---------------------------|--|--|
| Especificidad | Cumple | Específico |
| Linealidad del sistema | C.V. = 0.5, $r = 0.99$ $r^2 = 0.99$ | $C.V. \leq 1.5$, $r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ |
| Precisión del sistema | C.V. = 0.85 | C.V. ≤ 1.5 |
| Linealidad del método | C.V. = 1.27 $m = 1.03$ $b = -0.22$ | $C.V. \leq 3$ $m = 1$ $b = 0$ |
| Exactitud | C.V. = 1.32 | C.V. ≤ 3 |
| Repetibilidad | C.V. = 1.32 | C.V. ≤ 3 |
| Reproducibilidad | C.V. = 1.52 | C.V. ≤ 3 |
| Estabilidad de la muestra | Cumple | I (97-103%) |

Tabla XXXIII. Criterios de aceptación y resultados obtenidos en la validación del método analítico

7.4. ESCALAMIENTO

7.4.1. Resultados reológicos

| L O T O | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|
| Parametro | 1 | 2 | 3 |
| Velocidad de flujo (g/s) | 5.20 | 4.20 | 6.40 |
| Angulo de reposo (°) | 27.94 | 26.76 | 30.22 |
| Densidad aparente (g/ml) | 0.44 | 0.48 | 0.48 |
| Densidad compactada (g/ml) | 0.58 | 0.59 | 0.62 |
| Indice de compactacion | 23.67 | 18.37 | 21.42 |
| Humedad (%) | 0.8 | 2.0 | 2.5 |
| Indice de Hausner | 1.31 | 1.22 | 1.27 |

Tabla XXXIV. Parámetros reológicos para lotes del escalamiento

Los resultados reológicos del escalamiento muestran pequeñas diferencias con respecto a los presentados en la formulación cinco del lote piloto

Para la velocidad de flujo los tres lotes presentan aceptables propiedades, sin embargo existe una ligera disminución de la velocidad para el lote 3 que puede ser atribuida a la

presencia de humedad. El ángulo de reposo refleja que todos los lotes poseen buenas características de fluidez.

Los resultados de índice de compactación e índice de Hausner presentan variaciones considerables, ésto se atribuye a que existe diferencia entre las densidades aparente y compactada que se ven afectada por la presencia de humedad en el polvo.

7.4.2. Parámetros de control de calidad para las tabletas

| T 011 | | | |
|------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Parámetro | 1 | 2 | 3 |
| Friabilidad (%) | 0.08 | 0.07 | 0.09 |
| Dureza (Kg) | 11.3 | 11.0 | 11.3 |
| Desintegración (min) | 1.5 | 2.0 | 1.6 |
| Valoración (%) | 105.96 | 104.83 | 105.90 |
| Uniformidad de Contenido (%) | 98.88 (6.2) | 107.09 (5.4) | 99.78 (4.5) |
| Peso promedio (mg) | 359.87 (4.88) | 357.50 (3.58) | 356.29 (2.70) |
| Humedad (%) | 2.0 | 3.4 | 3.2 |

Tabla XXXV. Comparación de parámetros de control de calidad entre lotes del escalamiento.

Los resultados en los parámetros de control de calidad revelan que se conservan las propiedades de las tabletas ya que la friabilidad es baja y la dureza es alta, además de presentar rápida desintegración.

Los resultados de uniformidad de contenido y valoración cumplen con los parametros establecidos, no obstante, el coeficiente de variación presentado para uniformidad es mayor que el obtenido en los lotes piloto debido a que en los lotes del escalamiento las cantidades del lote y la manipulación del polvo son mayores, por lo tanto existe variación en los resultados

Perfiles de disolución para tabletas de melatonina

| Tiempo (min) | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Tabletas comerciales |
|--------------|--------|--------|--------|----------------------|
| 1 | 26 20 | 27 07 | 29 15 | 25 16 |
| 2 | 45 81 | 36 05 | 45 97 | 27 14 |
| 3 | 49 91 | 46 90 | 61 67 | 45 36 |
| 4 | 60 78 | 58 37 | 68 49 | 56 61 |
| 5 | 66 77 | 69 21 | 76 90 | 69 25 |
| 10 | 79 19 | 76 50 | 89 66 | 80 40 |
| 15 | 86 25 | 84 73 | 94 04 | 88 84 |
| 20 | 94 49 | 88 13 | 95 27 | 93 70 |
| 30 | 97 79 | 92 60 | 102 36 | 97 23 |
| 40 | 104 00 | 101 13 | 103 01 | 103 74 |

Tabla XXXVI Perfiles de disolución promedio para tabletas de melatonina

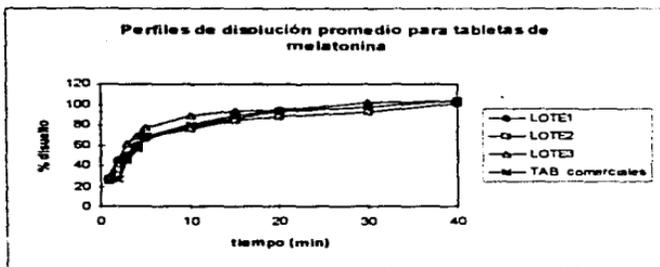


Fig.9 Perfiles de disolución promedio para tabletas de melatonina

VIII. CONCLUSIONES

1. La formulación con 4% de croscarmelosa sódica y 45% de celulosa microcristalina resultó ser la más favorable de acuerdo con los estudios de preformulación y formulación.
2. El método analítico desarrollado es confiable para la cuantificación de melatonina durante todas las etapas del proceso de manufactura y en producto terminado, con base en los resultados de validación del método.
3. Finalmente se espera que la información resultante de este trabajo sirva como base para la manufactura, o bien para el desarrollo de otras posibles formulaciones para tabletas de melatonina, manteniendo siempre presente satisfacer al consumidor.

IX. SUGERENCIAS

1. Realizar estudios de estabilidad para determinar la fecha de caducidad de las tabletas
2. Validar el método analítico de acuerdo a los parámetros establecidos para métodos indicativos de estabilidad

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Lieberman, H., Lachman, L., "The theory and Practice of Industrial Pharmacy", 3th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1986, pp 66-75, 171-193, 293-302.
2. Lieberman, H., Lachman, L., "Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, vol. 1, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1990, pp 75-127, 137, 146, 147, 151-179, 198-224, 243-245.
3. Lieberman, H., Lachman, L., "Pharmaceutical Dosage Forms Tablets" vol 2, 2nd ed., Marcel Dekker, New York 1990, pp 1-69.
4. Poole, J., "Preformulation" Mc Neil Consumer Products. FMC Corporation, 1982, pp 1-12.
5. Muñoz, G.A. "Preformulación de formas farmacéuticas sólidas" Memorias de conferencia. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C. Julio 1993. pp 1-43.
6. Banker, G., "Drugs and the Pharmaceutical Sciences Modern Pharmaceutics", vol. 40, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, 1990, pp 355-384.
7. Swarbrick, J., "Encyclopedia of Pharmaceutical Technology", vol 4, Marcel Dekker, New York, 1991, pp 85-106
8. Rudnic, E. M., "Evaluations of the mechanism of desintegrant action", **Drug Dev. Ind. Pharm.**, 8 (1), 1982, pp 87.
9. Bolhuis, G.K., "On the mechanism of action of modern disintegrants" **Pharm. technol.** 28(2), 1982, 111.
10. Ringard, J., "Disintegration mechanisms of tablets containing starches: Hypothesis about the particle-particle repulsive force", **Drug Dev. Ind. Pharm.**, 7(2), 1981, pp 155.

11. Hess, H., "Tablets under microscope". Pharmaceutical Technology International, 1978, pp 18-38.
12. Miller, A. "Pharmaceutical tablet lubrication" Int. J. Pharm., 41 1-19, 1988.
13. Rawlings, E. A., "Bentley's Textbook of Pharmaceutics, 8th de.", Bailliere Tindall, London, 1977, 305-309.
14. "Handbook of Pharmaceutical excipients". American Association, London, 1994 pp. 392-299, 462-466.
15. Wells, Y., "Pharmaceutical Preformulation, the Physicochemical Properties of Drugs Substances", 2nd de. Ellis Horwood, Great Britain, 1993, pp 86-101, 112-114, 209-219
16. Jeannin, C., "Ingeniería Farmacéutica", Manual moderno, México 1986. p 498-510.
17. "Validación de métodos analíticos", Memorias de seminario, Asociación Farmacéutica Mexicana, Facultad de Química, UNAM, 1994.
18. Guía de Prácticas Adecuadas de Manufactura Farmacéutica. 3^a ed. CIPAM, México, pp 2-5, 8, 11, 14, 16, 21-28.
19. *The United States Pharmacopoeia XXIII*, N.F: XVII, Mack Printing, U.S.A. 1990, pp 1578-1580, 1710-1712.
20. The Merck Index, 11th, Merck & Co. Inc U.S.A., 1989, pp 912
21. Fesenden, J.R., "Química Orgánica" 2^{da} ed, Iberoamericana, México, 1982, 618-620, 320-336.
22. Morrison, T.R., "Organic Chemistry", 5th de, Allyn and Bacon Inc., Massachusetts, 1988, 722-723, 889-890.
23. White, A., "Principios de Bioquímica" 6a ed, McGraw Hill, México D.F., 1983, p. 1362-1365.
24. Fleur, L., "Fisiología humana", Interamericana, México D.F., 1982, p.182,183, 227,228.

-
25. Lerner, A., "Isolation of melatonin, the pineal factor that lightens melanocytes", **J. Amer. Chem. Soc.**, 80, 2587, 1958.
 26. Devlin, M.T., "Bioquímica libro de texto con aplicaciones clínicas", 2^{da} ed., Reverte, España 1989, 784-787
 27. Bardasano, R.J., "La glándula pineal", Blume, España, 1978, 22-31, 203-211.
 28. Roberts, J.E., "Visible light induced changes in the immune response through ab eye brain mechanis (photoneuroimmunology)", **J. Photochem. B.**, 29 (1), 3-15, 1995
 29. Arendi, J., "Alleviation of jet lag by melatonin - preliminary results of controlled double blind trial", **B. Med. J.**, 292, 1986, pp 1170.
 30. Deng, M., "Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance", **Proc. Natl. Acad. Sci.** 91(5), 1984, pp 1824-1828
 31. Reiter, R., ""Function of melatonin in thermoregulatory processes", **Life Sci.** 54(5), 1994, pp.295-311
 32. Fegurson, J., "Effect of melatonin on human skin color", **J. Invest. Dermatology.** 102 (2), pp 258-259, 1994.
 33. Blask, D., "Melatonin blocks the stimulatory effects of prolactina on human breast cancer cell growth in culture", **Br. J. Cancer.** 72(6), 1435-1440, 1995.
 34. Petric, K., "Effects of melatonin on jet lag after long haul flights", **B. Med. J.**, 1989, 298, pp705.
 35. Información Técnica, Quality Control, Helm Germany; April 1996.
 36. Dawoodbuhai, S., "The effect of Moisture on Powder Flow and on Compaction and Physical stability of Tablets", **Drug Dev. Ind. Pharm.** 15(10), 1989, pp 1577-1599.
 37. Caramella, C., "Disintegrants in Solid Dosage Forms", **Drug Dev. Ind. Pharm.** 16(17), 1990, 2561-2577.
-

38. Shangraw, R.F., "*Morphology and Functionality in Tablet excipients for direct compression*", **Pharm. Technol.**, (11)6, 1987 pp136-143.
 39. Thomas, C., "*Preformulation of five commercial celluloses in drug development: Rheological and mechanical behavior*" **Drug Dev. Ind. Pharm.**, 19(15), 1993, pp 1947-1964.
 40. Chang, P., "*Comparative study of disintegrating agents in tiramide hydrochloride tablets*", **Drug Dev. Ind. Pharm.**, 15(3), 1989, pp 401-414.
 41. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, **FEUM 6^ª** ed, México, 1994 pp 113-117, 121-126.
-

Apariencia: Esta prueba se realiza de manera visual evaluando las características físicas de las tabletas. (18)

Solubilidad: Con base a FEUM 6a ed. , para ligeramente soluble en benceno, disolver 50 mg de melatonina en 5 ml de benceno y 50 mg de melatonina en 50 ml del mismo disolvente.

Soluble en alcohol, disolver 50 mg de melatonina en 0.5 ml de alcohol y 50 mg de activo en 1.5 ml del mismo disolvente.

Punto de Fusión: Se realiza empleando para ello el aparato Fisher Jones. el cual permite determinar el intervalo de temperatura en el que la sustancia se colapsa y se funde completamente.

pH: Mezclar 1 gramo del activo con 90 ml de agua durante 15 minutos y determinar pH con potenciómetro.

Perdida por secado: Pesar 1 g de melatonina y colocarla en un pesafiltro previamente llevado a peso constante. Pesarlo nuevamente y colocarlo en la estufa a 100°C durante 2 horas. Transferir a un desecador y esperar a que la temperatura se estabilice. Pesar nuevamente y la diferencia de peso representa la pérdida de sustancias volátiles.

Metales pesados: Se basa en la reacción de impurezas metálicas de la muestra de melatonina con ac. sulfhídrico. La evaluación se realiza de manera visual por comparación con soluciones de referencia de sulfato de plomo a diferentes concentraciones en p.p.m.. La muestra de melatonina no debe contener mas de 20 p.p.m.

Cenizas: Pesar 1 g de melatonina y colocarla en un crisol a peso constante. Con un mechero bunsen calentar suavemente y posteriormente con mayor intensidad hasta la combustión de la muestra. Humedecer el residuo con 1 ml de ac. sulfúrico concentrado, calentar suavemente hasta que se complete el desprendimiento de vapores. Calentar 5 minutos más y calcinar en la mufla a 800 °C. Enfriar en desecador y calcular el porcentaje de sales inorgánicas por diferencia de peso.

Cromatografía en capa fina: Las cromatoplacas se preparan con una suspensión de sílica gel distribuyéndola uniformemente sobre la placa de vidrio. Las placas se dejan secar y posteriormente se calienta a 105°C durante 2 horas.

La cámara de cromatografía se forma interiormente con papel filtro y se vacía la fase móvil (cloroformo-metanol 9:1), se cierra y se mantiene bajo estas condiciones una hora. La aplicación de las muestras se realiza empleando micropipetas de 10 µl, cuidando que las aplicaciones estén lo suficientemente separadas para evitar que se mezclen. Las muestras se aplican a 2 cm de la base de la cromatoplaca, se dejan secar las aplicaciones y se introduce a la cámara de elución.

La localización de las manchas se realiza por visualización directa bajo una lámpara U.V., el Rf se determina mediante el cociente de la distancia recorrida por el compuesto desde el origen y la distancia recorrida por el frente del disolvente.

Densidad aparente: Se determina pesando una cantidad exacta de la muestra sólida (20 - 30 g) en una probeta graduada previamente tarada y midiendo el volumen ocupado por la muestra.

La relación peso / volumen es la densidad aparente :

ec. 1

$$\delta_a = \frac{m}{v}$$

Donde:

δ_a = Densidad aparente

m = Peso de la muestra en gramos

v = Volumen ocupado por la muestra en ml

Densidad compactada: Para esta determinación se pesa una cantidad exacta de la muestra (20 - 30 g) y se coloca en una probeta, la cual se deja caer verticalmente sobre una superficie plana a una altura de 3 cm hasta que el volumen ocupado de la muestra no experimente cambios.

La determinación se realiza mediante la siguiente ecuación:

ec. 2

$$\delta_c = \frac{m}{v_c}$$

Donde:

δ_c = Densidad compactada

m = Peso de la muestra (g)

v_c = Volumen compactado ocupado por la muestra (ml)

Velocidad de flujo: La velocidad de flujo se realiza en un flujómetro que mide el tiempo que tarda en pasar por el orificio del embudo una cantidad de muestra previamente pesada.

La relación de masa/ tiempo es la velocidad de flujo y las unidades se expresan en g/s

ec. 3

$$V = \frac{m}{t}$$

Donde:

V= Cantidad de muestra en gramos que fluye por unidad de tiempo

m= Cantidad de muestra en gramos

t=Tiempo que tarda en fluir la muestra en segundos

Ángulo de reposo: Es el ángulo formado cuando un polvo o material granular acumulado en forma de cono, cae libremente desde una altura de 10 cm sobre una superficie plana a través de un orificio.

El ángulo se define por la ecuación:

ec 4

$$\tan \alpha = \frac{2h}{D} = \frac{h}{r}$$

Donde:

α = Ángulo de reposo

h = Altura formada por el polvo

D = Diámetro de la base formada por el polvo

r = Radio de la base formada por el polvo

Humedad: Se realiza en una lámpara de infrarrojo colocando una cantidad de muestra perfectamente dispersa en una charola previamente tarada.

La lámpara determina el porcentaje de humedad presente en la muestra y la prueba es finalizada cuando no existe cambio de humedad durante 10 minutos.

Distribución de tamaño de partícula: Se realiza mediante el método de tamizado, el cual comprende la selección y acomodo de una serie de tamices de alambre (previamente tarados) acomodados de manera que la malla más abierta se encuentre arriba y la más cerrada abajo. Para esta determinación se colocan 25 g de muestra y se agita por un tiempo de 30 min.

La distribución de tamaño de partícula se determina por la proporción de partículas presentes en cada uno de los tamices

Índice de compactación: Es un factor que determina la aptitud de un polvo para modificar su densidad por el efecto de la compactación.

Se calcula a partir de la siguiente ecuación:

ec. 5

$$I. C. = ((\delta_c - \delta_a) / \delta_c) \times 100$$

I.C = índice de compactación

δ_c = densidad compactada

δ_a = densidad aparente

Índice de Hausner: Este parámetro indica el grado de fluidez de un polvo, se calcula a partir de la densidad aparente y compactada

$$I.H = \delta c / \delta a$$

- I.H = índice de Hausner
- δc = densidad compactada
- δa = densidad aparente

Variación de peso: Se pesan con precisión 10 tabletas individualmente y se calcula el peso promedio. Con el resultado de la valoración de la melatonina, se determina el contenido de principio activo en cada una de las tabletas, suponiendo que éste se encuentra homogéneamente distribuido.

Uniformidad de contenido: Para determinar la uniformidad de contenido se analizan 10 tabletas individualmente, de acuerdo a las diluciones propuestas 1 tableta macerada/50 ml, filtrar y realizar una dilución 5/50, de tal manera que la concentración sea de 6µg/ml. El disolvente empleado para las diluciones es una mezcla metanol - agua (1/1).

Se determina la uniformidad de contenido en base al promedio de las diez determinaciones así como el coeficiente de variación.

Para tabletas con menos de 50 mg de principio activo se establece una variación de $\pm 15\%$ (41).

Valoración: Se realiza colocando 20 tabletas de melatonina en un mortero y se procede a triturar hasta obtener un polvo uniforme, de este polvo se pesan tres muestras correspondientes a 500 mg y se realizan las siguientes diluciones individualmente:

| | | | |
|--|--|---------------------------------------|---------------------|
| $\frac{500 \text{ mg de polvo}}{100\text{ml}}$ | | $\frac{1 \text{ ml } *}{10\text{ml}}$ | Concentración final |
| | | $428\mu\text{g/ml}$ | |

*La dilución final se determina espectrofotométricamente a una λ de 222nm
 Para determinar el % de melatonina en la muestra se realiza la comparación con un estándar.

Friabilidad: La prueba se realiza con 20 tabletas pesadas exactamente y se colocan en el friabilizador por un tiempo de 5 minutos a una velocidad de 20 r.p.m., después de este tiempo las tabletas se sacan del friabilizador, se limpian del polvo y posteriormente se pesan.

La friabilidad se determina con la siguiente relación

$$F = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} (100) \quad \text{ec. 7}$$

P_i = peso inicial
 P_f = peso final
 F = friabilidad

Dureza: Se realiza en un durómetro stokes con la determinación de 10 tabletas, midiendo la fuerza (Kg) necesaria para romper la tableta al colocarla diametralmente.

Desintegración: En cada uno de los seis tubos de la canastilla del desintegrador, se coloca una tableta de melatonina, el disco y se procede a poner en movimiento el aparato, usando como liquido de inmersión agua a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, cuando se observe la desintegración de las tabletas, se saca la canastilla y se registra el tiempo que tardó en ocurrir la desintegración

Disolución: Método 2 de la FEUM(41) La temperatura del medio se mantiene en $37 \pm 1^\circ\text{C}$, empleando como medio de disolución buffer de ácido clorhídrico 2 N.

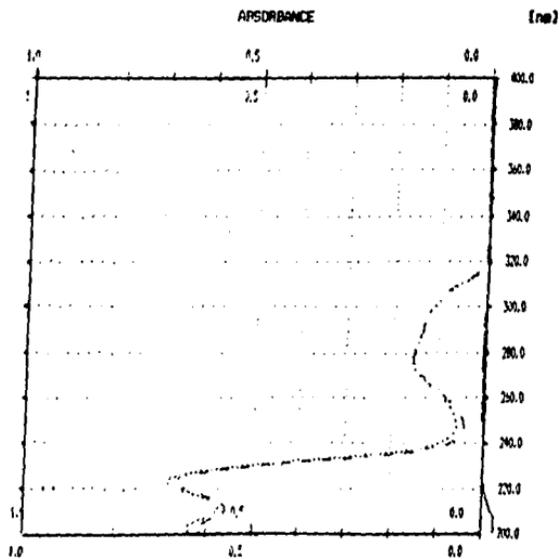


Fig 10 Especificidad para melatonina en metanol-agua

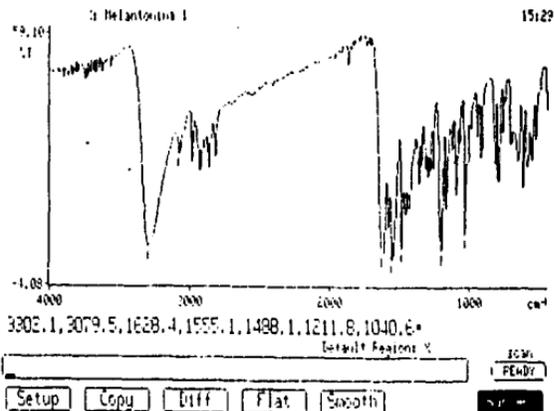


Fig 11 Espectro IR para melatonina

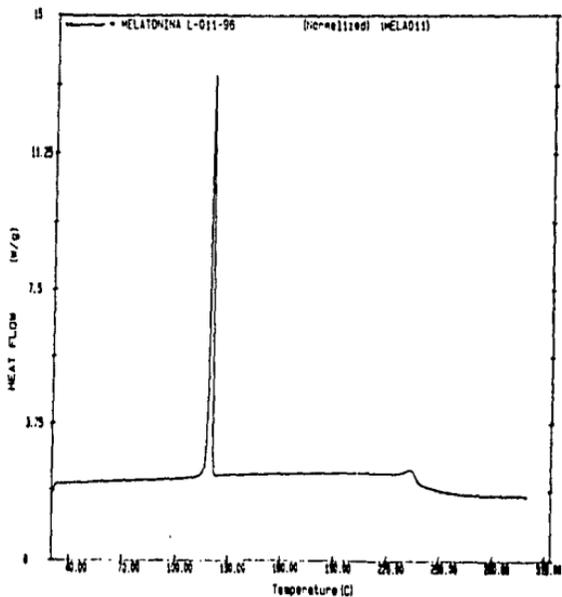


Fig 12 Termograma de melatonina