



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN A PH 4.5
CUANTIFICADOS POR HPLC DE DOS
PRODUCTOS COMERCIALES CONTENIENDO
DEXAMETASONA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:
PILAR SÁNCHEZ SÁNCHEZ



MÉXICO, D. F.

AÑO 2008



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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente Dra. Inés Fuentes Noriega

Vocal Helgi Helen Jung Cook.

Secretario Sofía Margarita Rodríguez Alvarado.

1er. Suplente Luís Jesús García Aguirre.

2do. Suplente Lauro Misael del Rivero Ramírez.

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 112 y 113 de Biofarmacia

Departamento de Farmacia, edificio "E"

Facultad de Química.

Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor del tema

Dra. Inés Fuentes Noriega.

Sustentante

Pilar Sánchez Sánchez.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto PAPIME No. PE205805

Facultad de Química PAIP 6390-05

Agradecimientos.

Gracias a mi mamá Chepita, quien junto con mis padres me dio un hogar en el que viví una infancia tranquila y feliz.

Gracias a mis padres Jesús y Leticia por su paciencia, por su apoyo y por toda su comprensión, ya que se que en muchas ocasiones los desespere, pero aun así estuvieron conmigo dándome ánimos para continuar.

Gracias a mis hermanos José, Jesús, Alejandro y Antonio por todo el apoyo que me brindaron.

A los miembros del jurado por el tiempo que han dedicado para la revisión de esta tesis.

Especialmente a la Doctora Inés Fuentes Noriega, por su paciencia, por su tiempo para asesorarme y principalmente por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto el cual es el fin de mi vida de estudiante, para poder continuar como profesionista.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por darme la oportunidad de vivir la experiencia de formar parte de la Universidad más grande de México, además de permitirme llegar a ser Química Farmacéutica Bióloga.

A mis amigas del CCH Cristina, Lizbeth y Sandra por haberme acompañado durante todo este tiempo.

A mis amigos y compañeros de la facultad por compartir conmigo tanto buenos como malos momentos: Luz María, Liliana, Janette, Tania, Maru, Armando, Aída y a todos los que en algún momento me acompañaron en este camino.

A mis profesores ya que sin ellos esto no seria posible.

Índice	Página
1. Introducción.....	1
1.1 Objetivos.....	2
1.2 Hipótesis.....	2
2. Generalidades.....	3
2.1 Absorción.....	3
2.1.1 Factores de los que depende la absorción de un fármaco.....	4
2.2 Disolución.....	6
2.2.1 Factores que afectan la velocidad de disolución.....	8
2.2.2. Aparatos empleados.....	8
2.2.3 Pruebas de disolución.....	10
2.3. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA-1998.....	11
2.4 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica BCS.....	12
2.5 Cromatografía.....	16
2.6 Monografía de la Dexametasona.....	20
3. Parte experimental.....	23
3.1 Material.....	23
3.1.1 Sustancias y reactivos empleados.....	23
3.1.1.1 Estándar empleado.....	23
3.1.1.2 Reactivos.....	23
3.1.2 Equipo empleado.....	23
3.2 Medicamentos estudiados	24
3.3 Pruebas de control de calidad	24
3.3.1. Valoración.....	25
3.3.2. Peso promedio.....	26
3.4. Validación del método analítico.....	26
3.4.1 Método desarrollado para la cuantificación.....	27
3.4.2. Validación del sistema en el medio de disolución.....	27
3.4.2.1. Linealidad.....	27

3.4.2.2. Precisión.....	28
INDICE	
3.5 Validación del método analítico.....	28
3.5.1. Linealidad.....	28
3.5.2 Exactitud.....	30
3.5.3 Precisión.....	30
3.5.3.1 Repetibilidad.....	30
3.5.3.2 Reproducibilidad.....	31
3.5.4 Estabilidad de la muestra.....	31
3.5.5 Selectividad.....	32
3.5.6. Influencia del filtro.....	33
3.6. Preparación del medio de disolución.....	35
3.6.1. Desgasificación de los medios de disolución.....	35
4. Estudio del perfil de disolución.....	36
5. Resultados y Análisis de resultados.....	38
5.1. Pruebas de control de calidad.....	38
5.1.1 resultados de peso promedio y valoración.....	38
5.2. Validación del método analítico.....	38
5.2.1 Validación del sistema en el medio de disolución.....	38
5.2.1.1 Linealidad.....	38
5.2.1.2 Precisión.....	40
5.3 Validación del método analítico.....	40
5.3.1 Linealidad.....	40
5.3.2 Exactitud.....	43
5.3.3 Precisión.....	44
5.3.3.1 Repetibilidad.....	44
5.3.3.2 Reproducibilidad.....	45
5.3.4 Estabilidad de la Dexametasona.....	46
5.3.5 Selectividad.....	47
5.3.6 Influencia del filtro.....	49
5.4 Estudio del perfil de disolución.....	50
6. Conclusiones.....	53

Índice de tablas

Tabla 1	Solubilidad de la Dexametasona.....	20
Tabla 2	Medicamentos estudiados.....	24
Tabla 3	Condiciones cromatográficas de valoración.....	25
Tabla 4	Método de cuantificación, condiciones cromatográficas.....	27
Tabla 5	Preparación de la curva patrón de linealidad del sistema.....	27
Tabla 6	Preparación de la curva patrón de linealidad del método.....	29
Tabla 7	Preparación de las soluciones.....	34
Tabla 8	Resultados de valoración y peso promedio.....	38
Tabla 9	Linealidad del sistema en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05.....	39
Tabla 10	Resultados de la precisión del sistema.....	40
Tabla 11	Linealidad del método producto Alin.....	41
Tabla 12	Linealidad del método del producto. Dexa-Grin.....	42
Tabla 13	Resultados de exactitud del método. Producto Alin.....	43
Tabla 14	Resultados de exactitud del método. Producto Dexa-Grin.....	44
Tabla 15	Precisión (repetibilidad) del método. Producto Alin.....	45
Tabla 16	Precisión (repetibilidad) del método. Producto Dexa-grin.....	45
Tabla 17	Reproducibilidad del método. Producto Alin.....	46
Tabla 18	Reproducibilidad del método. Producto Dexa-Grin.....	46
Tabla 19	Resultados de la estabilidad de la Dexametasona.....	47
Tabla 20	Resultados de selectividad.....	48
Tabla 21	Resultados de la Influencia del filtro.....	50
Tabla 22	Porcentaje promedio de 12 tabletas de Dexametasona de 0.5 mg de dos lotes diferentes. Producto farmacéutico Alin.....	50
Tabla 23	Porcentaje promedio de 12 tabletas de Dexametasona de 0.5 mg de dos lotes diferentes. Producto farmacéutico Dexa-Grin.....	51

Índice de figuras.

Figura 1	Fases previas al efecto farmacológico tras la administración de un medicamento de administración oral.....	7
Figura 2	Aparato número 1 (canastas).....	9
Figura 3	Formula estructural de la Dexametasona.....	20
Figura 4	Preparación de la Solución Amortiguadora de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.05.....	35
Figura 5	Sistema desgasificador.....	35
Figura 6	Linealidad del sistema en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05.....	39
Figura 7	Linealidad del método producto Alin.....	41
Figura 8	Linealidad del método producto Dexa-Grin.....	42
Figura 9	Espectro de absorción UV del estándar de Dexametasona, producto Alin y producto Dexa-Grin.....	48
Figura 10	Cromatógrama del estándar de Dexametasona.....	48
Figura 11.	Cromatógrama del producto farmacéutico Alin.....	49
Figura 12.	Cromatógrama del producto farmacéutico Dexa-Grin.....	49
Figura 13	Perfiles de disolución en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5. Producto Alin.....	51
Figura 14	Perfiles de disolución en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5. Producto Dexa-Grin.....	51
Figura 15	Perfiles de disolución de los dos productos en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5.....	52

1. INTRODUCCIÓN

El perfil de disolución es una de las pruebas de bioequivalencia empleadas para determinar si un medicamento es genérico intercambiable²⁸, en la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, se encuentran los requisitos para llevar a cabo la evaluación de los perfiles de disolución en formas farmacéuticas orales de liberación inmediata.

En la guía de la FDA, Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics classification system (Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo para formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata en Base a un Sistema de Clasificación Biofarmacéutico)^{3,4}, se establece que cuando la disolución in vivo de una forma farmacéutica oral sólida de liberación inmediata, es rápida en relación con el vaciamiento gástrico y el fármaco tiene alta permeabilidad, es poco probable que la velocidad y la magnitud de la absorción del fármaco dependan de la disolución y/o el tiempo de tránsito gastrointestinal, bajo tales circunstancias, es posible que no haga falta la demostración de Biodisponibilidad (BA) o Bioequivalencia (BE) in vivo para los medicamentos que contienen principios activos clase I (alta solubilidad, alta permeabilidad)³, también se ha propuesto que para los medicamentos de Clase III (alta solubilidad, baja permeabilidad) la disolución también podría ser un sustituto de la bioequivalencia, ya que la permeabilidad a través de la membrana intestinal, sería el paso limitante de la velocidad de absorción del medicamento, por lo tanto la biodisponibilidad no es dependiente de las propiedades de liberación del fármaco, ya que estos son de disolución rápida⁴.

La Dexametasona es un glucocorticoide sintético de acción prolongada con marcada actividad antiinflamatoria, que carece de propiedades mineralocorticoides importantes y que inhibe el proceso inflamatorio de cualquier origen, ya sea químico, mecánico o inmunológico, así como las reacciones de hipersensibilidad mediadas por células. Se emplea generalmente por su actividad antiinflamatoria.^{20, 21, 24, 27 y 28}

Su clasificación de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) es Clase I/III ya que es un medicamento considerado de alta solubilidad, pero su permeabilidad aun no queda bien establecida¹⁵.

Se decidió llevar a cabo el estudio de los perfiles de disolución de tabletas con 0.5 mg de Dexametasona, la presentación farmacéutica de referencia es el Decadrón, pero se encuentra discontinuado en el mercado mexicano, por lo tanto se optó por llevar a cabo los perfiles de disolución de dos productos comerciales diferentes (marca Alin y marca Dexa-Grin) y también realizar los perfiles de disolución de dos lotes diferentes de cada una de las presentaciones a estudiar, en uno de los tres medios de disolución (pH 4.5), para lo cual se desarrolló y validó un método por HPLC para su cuantificación y se empleó el aparato de la USP número I (canastas) a 100 rpm, en solución de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05 .

Las presentaciones farmacéuticas estudiadas a pH 4.5 presentaron una disolución de más del 85 % del principio activo en menos de 15 minutos por lo tanto la Dexametasona es de muy rápida disolución.

Nota: Para la Bioexención deben obtenerse los perfiles de disolución empleando tres medios de disolución de pH diferente (pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8) a 37 ± 0.5 °C.

1.1 OBJETIVOS

- * Desarrollar un método de cuantificación de la dexametasona, empleando HPLC
 - Validación del método desarrollado.
- * Realizar el estudio de los perfiles de disolución a pH 4.5 en solución amortiguadora de acetatos, de dos productos farmacéuticos cuyo principio activo es la Dexametasona.
- * Comparación de los perfiles de disolución de dos lotes diferentes de un mismo producto farmacéutico.

1.2 HIPÓTESIS

Las formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata que contienen como principio activo a la Dexametasona, presentarán una velocidad de disolución rápida en solución amortiguadora de acetatos 0.05 M (pH 4.5 ± 0.05).

2.0 GENERALIDADES

2.1 ABSORCIÓN¹ Y ².

Para que un medicamento pueda ejercer su efecto terapéutico, necesita ser administrado, para de esta forma ser absorbido, transportado al tejido u órgano apropiado, penetrar en la estructura subcelular correspondiente y provocar una respuesta ¹.

La administración es la forma en la cuál el fármaco es introducido en el organismo y para esto existen diferentes formas de administración, siendo de nuestro interés la administración oral, esta es la más comúnmente empleada de las vías enterales y es la de elección en el tratamiento ambulatorio, esta es la vía más conveniente para llegar a circulación sistémica, pero no siempre permite obtener concentraciones plasmáticas lo suficientemente elevadas como para ser efectivas; ya que el fármaco es sometido al proceso digestivo de forma semejante a la que sufren los alimentos. Algunos medicamentos son absorbidos en forma impredecible o errática; en algunas ocasiones, los pacientes tienen un mal funcionamiento de la absorción, esta vía puede verse afectada por diversas causas, pero a pesar de esto es una vía segura, que para ser empleada necesita de la colaboración del paciente.² y ²⁶

El aparato digestivo es un tubo muscular de aproximadamente 6 m de longitud, de diámetro variable, que abarca desde la boca hasta el ano y que se divide principalmente en cuatro zonas anatómicas: esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso o colón ².

La boca es el punto de entrada de la mayoría de los medicamentos y estos se desplazan hacia el estómago a través del esófago donde prácticamente no hay absorción farmacológica ya que el pH de la luz esofágica suele oscilar entre 5 y 6, además de que el tránsito esofágico de los preparados farmacéuticos es de 10 a 14 segundos ².

La absorción del fármaco en el estómago (pH gástrico entre 1 y 3,5 en ayuno), es muy escasa debido a su pequeña superficie en comparación con el intestino delgado (duodeno yeyuno e íleon; pH 5.5- 7.5). El intestino delgado presenta una superficie mayor que la del estómago ya que tiene diversas estructuras que aumentan considerablemente su área superficial (pliegues de Kerckring, vellosidades y microvellosidades), además la pared del intestino delgado posee una rica red de vasos sanguíneos y linfáticos, la circulación gastrointestinal es la más extensa de las circulaciones regionales sistémicas; casi un tercio del gasto cardíaco fluye a través de las vísceras gastrointestinales. Por ello incluso los fármacos ácidos se absorben mucho más en el intestino delgado que en el estómago (La fracción no ionizada es absorbida.)²

La absorción en el colón es mínima para la mayoría de los fármacos.

El mecanismo principal de la absorción por vía oral es la difusión pasiva, pero para algunos medicamentos es la absorción activa mediante transportadores ².

El paso limitante de la velocidad varía de un fármaco a otro. Para un fármaco muy poco hidrosoluble el paso limitante comúnmente es la disolución en los líquidos gastrointestinales, por lo que se dice que la biodisponibilidad del fármaco está limitada por la velocidad de disolución ².

Para un fármaco muy hidrosoluble que se disuelve con rapidez la velocidad a la que este atraviesa la membrana gastrointestinal (limitado por la permeabilidad) es el paso limitante ².

2.1.1 Factores de los que depende la absorción de un fármaco ^{1y2}.

1. Características fisicoquímicas del medicamento; tamaño de la molécula, liposolubilidad, pKa, etc.

2. Características del sitio de absorción. Son importantes el pH del medio, la superficie de absorción, el grosor de la membrana y el flujo sanguíneo que mantiene el gradiente de concentración, la motilidad del estómago, la cuál es importante ya que influye en la velocidad con la cual un medicamento administrado por vía oral es transportado hacia el intestino delgado.

El tiempo promedio de vaciado de un estómago en ayuno es de aproximadamente 40 minutos.

3. Depuración presistémica. Por cualquier vía que no sea intravascular, puede existir absorción incompleta ya que parte del fármaco puede absorberse o degradarse antes de llegar a circulación sistémica. Por vía oral, un fármaco puede ser degradado por la acción del pH ácido del estómago o por las bacterias de la luz intestinal, ó también puede eliminarse por las heces antes de que se complete su absorción. Igualmente los medicamentos pueden ser degradados antes de llegar a la circulación sistémica, como resultado del metabolismo del primer paso, ello debe a que la sangre que sale del intestino delgado se dirige hacia la vena porta hepática, que la transporta hasta la circulación sistémica a través del hígado.

4. Influencia de los alimentos en el tubo digestivo.

La presencia de alimentos en el tubo digestivo puede influir sobre la velocidad y magnitud de la absorción, directa o indirectamente, a través de diversos mecanismos: Formación de complejos con los componentes de la dieta, alteraciones del pH, alteración del vaciamiento gástrico, estimulación de las secreciones gastrointestinales, competencia entre los componentes de los alimentos y los fármacos por mecanismos de absorción especializados, cambios del metabolismo presistémico, cambios del flujo sanguíneo inducido por los alimentos.

* El Vaciamiento gástrico

Es el paso del contenido gástrico hacia el intestino, como ya se menciona la absorción medicamentosa se produce principalmente en el intestino delgado, por lo que es necesario hacer una mención especial sobre este parámetro, que esta influenciado por diferentes factores como son el pH del duodeno, posición del individuo, la motilidad en el tracto gastrointestinal, la viscosidad del medio, etc. Su importancia radica en que desde un punto de vista biofarmacéutico, el vaciamiento gástrico tiene una gran importancia en el inicio del efecto terapéutico y en su intensidad para los medicamentos administrados en una forma farmacéutica por vía oral.

* Enfermedades y trastornos fisiológicos.

Las enfermedades locales pueden provocar alteraciones del pH gástrico que afecten a la estabilidad, disolución o absorción de un fármaco, o alguna cirugía gástrica, como puede ser una gastrectomía ya que esta influye en el tiempo de llegada de los medicamentos al duodeno, con lo que se produce que los medicamentos que se absorben en el intestino delgado incrementen su velocidad global de absorción, mientras que los fármacos que necesitan de un mayor tiempo de permanencia en el estómago muestran una menor biodisponibilidad.

2.2 DISOLUCIÓN.

La disolución se define como el proceso por el cual una sustancia interacciona con el solvente para dar una solución, el proceso está controlado por la afinidad entre la sustancia y el solvente ¹.

La velocidad de disolución se define como la cantidad total de fármaco disuelto por unidad de tiempo^{13, 10}.

Existen varios métodos para determinar la velocidad de disolución de las formas farmacéuticas, estos métodos se encuentran descritos en las monografías que se encuentran en las farmacopeas existentes, en estas se describen la velocidad de agitación, aparato que se empleara, medio de disolución y porcentaje de fármaco que deberá disolverse en un tiempo determinado, estas condiciones se determinan tomando en cuenta la velocidad de disolución intrínseca (VID) que se define como la velocidad de disolución de sustancias puras bajo la condición de área superficial constante y se expresa en $\text{mg}/\text{min}\times\text{cm}^2$. Esta se determina comprimiendo el compuesto de prueba para obtener un disco de área conocida, eliminando así errores o interpretaciones inadecuadas por efecto de la formación de aglomerados, por presencia de cargas electrostáticas o interacciones entre partículas¹, es decir mide las propiedades intrínsecas del fármaco únicamente en función del medio de disolución (pH, fuerza iónica, el número de iones, etc.), y no depende de la velocidad de agitación, de la superficie disponible de soluto, etc. ²⁵

La disolución aparente, se define como la masa total del fármaco disuelto por unidad de tiempo a partir de una forma farmacéutica. Se caracteriza por una constante de velocidad de disolución K , que representa la velocidad de disolución a la cual el disolvente entra en contacto con la superficie del sólido ¹.

En la mayoría de los casos, la disolución del principio activo es la propiedad de la forma farmacéutica que controla la velocidad de absorción y la cantidad del fármaco disponible en el cuerpo ^{1, 3, 4, 13}.

Después de la administración de un medicamento por vía oral y como requisito para que se lleve a cabo la absorción y que se alcance un efecto terapéutico, el principio activo tiene que ser liberado de la forma farmacéutica que lo contiene, la liberación del principio activo consiste en la salida y dilución del fármaco de la forma farmacéutica ^{1, 2 y 16}:

Los procesos involucrados se observan en el diagrama ^{1, 2 y 16}:

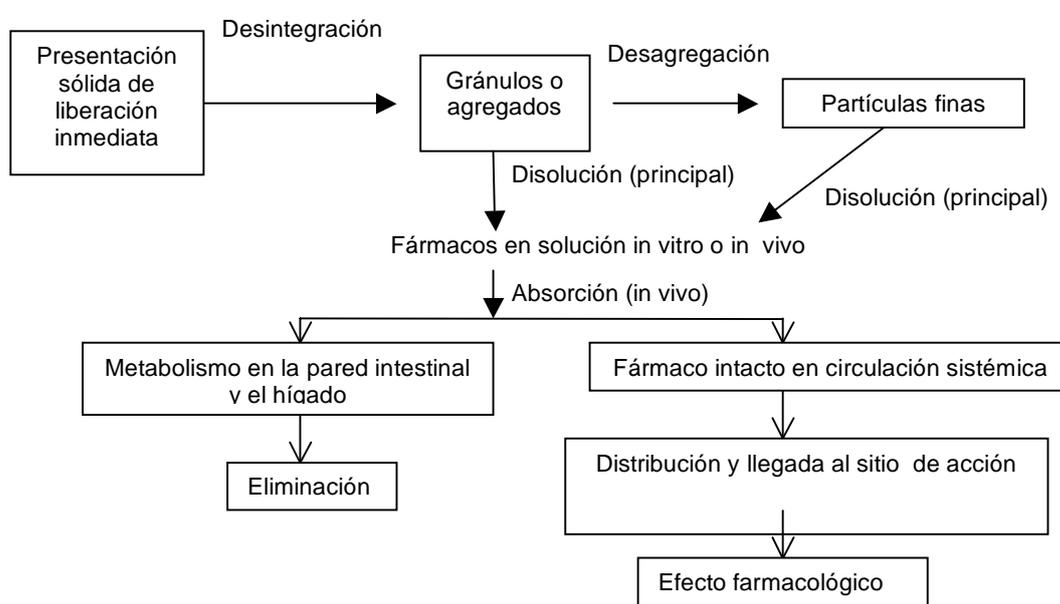


Figura 1. Fases previas al efecto farmacológico tras la administración de un medicamento de administración oral.

2.2.1. FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN ^{1, 2 Y 29}

- a) Factores del soluto: Propiedades fisicoquímicas de las partículas: tamaño de partícula, humectabilidad, forma cristalina, pka, solubilidad, estabilidad, etc.
- b) Factores de la forma farmacéutica: Excipientes y cantidades, interacciones entre el fármaco y los excipientes, dureza de las tabletas, procedimientos de manufactura, condiciones de almacenamiento, caducidad, etc.
- c) Factores del medio de disolución: Viscosidad, tensión superficial, mezcla de disolventes, pH del medio y pKa del fármaco, fuerza iónica, presencia de tensoactivos, temperatura, composición, volumen, gases disueltos, etc.
- d) Factores del sistema de disolución: Tipo de aparato, capacidad, volumen de disolvente, velocidad de agitación, calibración del equipo, vibración, etc.
- e) Factores del tracto gastrointestinal: pH, fuerza iónica, motilidad, presencia o ausencia de alimentos, cantidad de enzimas, etc.

2.2.2 APARATOS EMPLEADOS ^{7, 22}

Se han descrito muchos métodos de disolución, de los cuales son usados principalmente dos para tabletas ó comprimidos, los cuales son reconocidos en farmacopeas como la FEUM 8ª edición, la USP 29 y BP 2000, estos aparatos son el aparato I (canasta) y el aparato II (paletas).

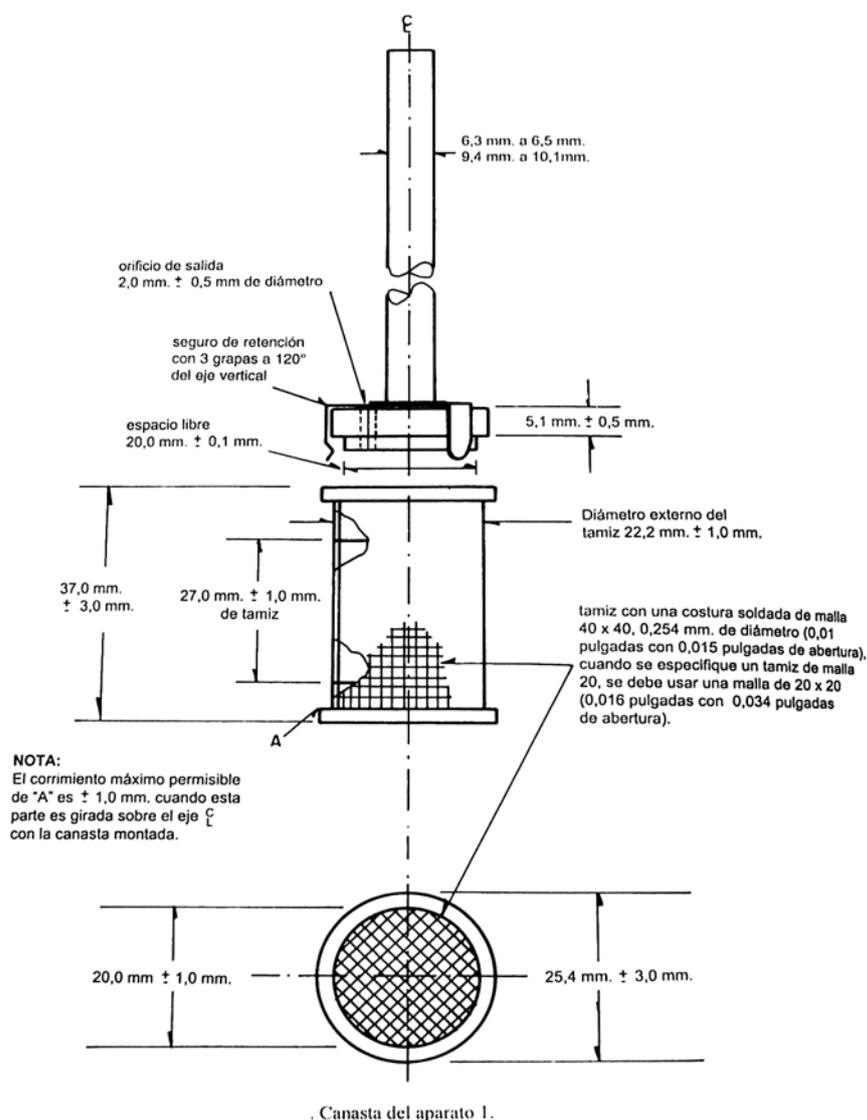
Para llevar a cabo el estudio de los perfiles de disolución de la Dexametasona se empleo el aparato de la USP número I.

Aparato I

El aparato consiste de un vaso, con o sin tapa, de vidrio u otro material inerte, de boca ancha de fondo esférico y transparente; un motor, un eje propulsor metálico y una canastilla cilíndrica. El vaso debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua adecuado, durante la prueba el baño de agua debe mantener la temperatura del interior del vaso a 37 ± 0.5 °C, se debe garantizar que el fluido del baño se mantenga en movimiento suave y constante.

La tableta se coloca en el interior de la canastilla de alambre de acero inoxidable, que se hace girar a una velocidad fija sumergida en el medio de disolución contenido en el vaso

Figura 2 Aparato I (canastas) USP



Aparato II

Es similar al aparato 1, con la diferencia que se usa una paleta metálica, por lo común recubierta por un material inerte, en lugar de la canasta. La paleta se forma de una hoja soldada a un vástago que puede ser conectado al motor de velocidad regulada. Los comprimidos o las cápsulas se dejan caer libremente hasta el fondo del vaso y se gira la paleta con una velocidad específica, constante.

2.2.3 PRUEBA DE DISOLUCIÓN ^(4, 9)

La prueba de disolución es una de las pruebas más usadas en la caracterización y en el control de calidad de los medicamentos y se emplea principalmente para:

- * Evaluar la calidad de un producto medicinal lote a lote.
- * Guiar el desarrollo de nuevas formulaciones
- * Asegurar la continuidad de la calidad y el rendimiento del producto después de algún cambio en la formulación, el proceso de fabricación, el sitio de fabricación y el tamaño de lote de fabricación.
- * Para demostrar bioequivalencia entre el producto de referencia y uno de prueba.

Las pruebas de disolución pueden llegar a ser especialmente importantes en los casos en que la disolución es el paso limitante de la velocidad en la absorción del medicamento ⁴.

Perfil de disolución: Es la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a diferentes tiempos, en condiciones experimentales controladas, a partir de la forma farmacéutica ⁸.

A diferencia de las pruebas puntuales que se describen para la mayoría de los medicamentos en la farmacopea, los perfiles de disolución proporcionan información de la velocidad a la cual el fármaco se disuelve, ya que como se indica en su definición un perfil de disolución considera diferentes tiempos de muestreo esto es importante ya que algunos estudios reportados en la literatura, han demostrado que si se lleva a cabo la prueba comparativa de los perfiles de disolución entre un medicamento de referencia y uno de prueba de acuerdo con un procedimiento establecido, equivalentes farmacéuticos que muestran comportamiento semejante en relación con sus características de velocidad de disolución, probablemente tendrán también una biodisponibilidad comparable⁷

Generalmente las pruebas farmacopeicas son pruebas límite puntuales, es decir únicamente se evalúa la cantidad de principio activo disuelto en un tiempo determinado, sirviendo de este modo como herramienta del control de calidad del medicamento, pero sin proporcionar información sobre la velocidad de disolución del medicamento en estudio⁷.

2.3 Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen pruebas. Diario oficial de la Federación, 7 Mayo de 1999.

El perfil de disolución o el estudio de bioequivalencia del medicamento de prueba se deben realizar con un lote estándar de producción o bien con un lote escalado, y elaborado de acuerdo con la NOM-059-SSA1-1993.

En su apartado número 7, describe los criterios y requisitos para la evaluación de perfiles de disolución en formas farmacéuticas orales de liberación inmediata.

Destacando lo siguiente:

1. Se deben realizar los perfiles de disolución con 12 unidades, tanto del medicamento de prueba como del de referencia, en las mismas condiciones experimentales. (7.2.1)
2. Para realizar el perfil de disolución, se deben seleccionar por lo menos cinco tiempos de muestreo (excepto el tiempo cero) que permita caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta. En el caso de que el producto se disuelva en un 85% en 15 minutos o menos no es necesario caracterizar la curva ascendente. (7.2.4)
3. Emplear una curva de calibración de la sustancia de referencia en el medio de disolución, para calcular por interpolación la concentración del fármaco disuelto. (7.2.5)
4. El volumen extraído puede o no reemplazarse. Cuando no se reemplace el volumen, no se debe extraer más del 10% del medio de disolución. (7.2.6)
5. El método analítico debe estar validado. (7.3.1)
6. El porcentaje disuelto debe calcularse con respecto a la dosis nominal del fármaco. (7.4.1)
7. Se deben reportar los porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación, así como los porcentajes disueltos promedio, los coeficientes de variación y los valores máximo y mínimo en cada uno de los medios de disolución. (7.4.2)

8. Se deben graficar los porcentajes disueltos promedio y los de cada unidad de dosificación contra el tiempo. (7.4.3)

9. Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20 % para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes, se compararan los perfiles disolución usando el factor de similitud (f_2) definido en la siguiente ecuación.

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

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

Un factor de similitud entre 50 y 100 indica que los perfiles de disolución son similares. (7.4.4)

10. Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto en el medicamento de referencia es mayor que el establecido en el numeral 9, utilizar una prueba estadística científicamente sustentable. (7.4.5)

2.4 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA (BCS).

El BCS es un sistema científico para clasificar a los medicamentos en base a su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal, que proporciona una guía que hace posible en algunos casos justificar la bioexención para algunos medicamentos en formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata ^(10, 12).

Por lo tanto para entender lo que es la clasificación biofarmacéutica primero es necesario entender los conceptos de biodisponibilidad y bioequivalencia:

Se define la Biodisponibilidad como la velocidad y la medida en que se absorbe el principio activo ó la fracción activa de un fármaco y que se hace disponible en el sitio de acción. Un estudio de biodisponibilidad evalúa el desempeño de las formulaciones utilizadas en los ensayos clínicos proporcionando evidencia de

inocuidad y eficacia, y por lo general se documenta con un perfil de exposición sistémica mediante la cuantificación de la concentración del fármaco y/o fracciones activas y, cuando corresponda, sus metabolitos activos a lo largo del tiempo⁶.

La Bioequivalencia es la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y medida en que el ingrediente activo de equivalentes ó la fracción activa de equivalentes farmacéuticos ó alternativas farmacéuticas se hacen disponibles en el sitio de acción farmacológico cuando se administran en la misma dosis molar bajo condiciones similares en un estudio diseñado apropiadamente⁶. Estos estudios se requieren cuando hay cambios antes de la aprobación de un producto ó fármaco nuevo en fase de investigación, o algunos cambios posteriores a la aprobación de un genérico. Se compara el perfil de exposición sistémica de un fármaco en estudio con el del fármaco de referencia; dos productos farmacéuticos administrados oralmente son bioequivalentes cuando el principio activo del medicamento en estudio muestra la misma velocidad y la misma medida de absorción que el fármaco de referencia^{6, 3, 28}.

Los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia pueden ser considerados como un aspecto de la calidad del producto que provee de evidencia de la eficacia y seguridad de un medicamento y son requisito para el registro y aprobación del medicamento desarrollado. Los estudios *in vivo* son en general prolongados, costosos además de que deben vigilarse muchos aspectos para que estos estudios sean válidos, como son: la selección de la población de estudio, diseño del estudio, metodología analítica, etc. Por ello se han aplicado métodos *in vitro* para contar con la evidencia necesaria en cuanto al comportamiento del fármaco en el organismo y sólo en algunos casos son válidos^{4, 6}.

Cuando son sustancias medicamentosas, altamente permeables, altamente solubles, de disolución rápida, de liberación inmediata y de administración oral, la biodisponibilidad y la bioequivalencia se pueden documentar utilizando estudios *in vitro* con base en el sistema de clasificación biofarmacéutica^{4, 3}.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica ó BCS fue propuesto en 1995 por Gordon L Amidon, Hans Lennernäs, Vinod P. Shah, y John R. Crison. A T

Esta clasificación se basa en que la velocidad y extensión de la absorción para formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata están gobernadas por la disolución del fármaco en medio acuoso, solubilidad y la permeabilidad intestinal^{10,12}. Para poder documentar biodisponibilidad o bioequivalencia mediante estudios *in vitro* se requiere que el fármaco no presente un Índice terapéutico estrecho y que en la formulación se empleen excipientes aprobados por FDA para formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata, esto para asegurar que los ingredientes inactivos en la formulación no afectan significativamente la absorción del principio activo (velocidad y magnitud de la absorción)¹⁴, además el BCS puede usarse para justificar bioexenciones para sustancias medicamentosas altamente solubles y altamente permeables (clase I)⁴. La justificación para el empleo de la clasificación Biofarmacéutica es que al considerarse que dos medicamentos, al presentar el mismo comportamiento a lo largo del tracto gastrointestinal, generarán el mismo perfil en plasma después de una administración oral. El flujo a través de la membrana depende de la permeabilidad del fármaco y la concentración de éste. Si el fármaco es altamente soluble y altamente permeable ninguno de estos aspectos limita la absorción y una prueba de disolución puede sustituir a los datos farmacocinéticos para demostrar la bioequivalencia, comprobando que la liberación del fármaco no se retrasa o controla por algún aspecto propio de la formulación^{3,6}.

Según esta clasificación los fármacos se dividen en cuatro clases^{3,4, 12}:

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

Un fármaco es altamente soluble cuando la dosis más alta recomendada es soluble en un volumen de agua ≤ 250 ml en un rango de pH entre 1 y 7.5. El perfil de solubilidad del fármaco se determina a $37 \pm 1^\circ$ C en medio acuoso y el número de condiciones de pH para una determinación de solubilidad se basa en las propiedades de ionización de la sustancia a evaluar, recomendándose un mínimo de tres determinaciones de solubilidad en cada condición de pH⁴.

La permeabilidad es la resistencia aparente al transporte de masa a través de la membrana intestinal y se considera sólo la permeabilidad efectiva en el yeyuno⁵ Un fármaco se considera como altamente permeable cuando se absorbe de la dosis administrada una cantidad $\geq 90\%$. Se determina la clasificación en humanos empleando métodos farmacocinéticos como balance de masa, estudios de biodisponibilidad absoluta o perfusión intestinal, o métodos de permeabilidad intestinal que pueden ser in vivo o in vitro en un modelo animal apropiado (p. ej. Ratas) y/o métodos de permeabilidad in vitro usando tejidos intestinales extirpados o capas simples de células epiteliales apropiadas³

Un fármaco es de disolución rápida cuando se disuelve $\geq 85\%$ en 30 minutos usando aparato I a 100 rpm ó II a 50 rpm, en un volumen de 900 ml de cada uno de los siguientes medios:(1) 0.1N HCl o Fluido Gástrico Simulado USP sin enzimas; (2) solución amortiguadora pH 4.5; y (3) solución amortiguadora pH 6.8 o Fluido Intestinal Simulado USP sin enzimas⁴.

La aplicación de esta clasificación permite la bioexención en algunos casos específicos como los siguientes¹³: A) En la fase de desarrollo de la formulación de un nuevo medicamento; B) Que se trate de una nueva formulación para una población determinada (ej. Una formulación pediátrica); C) El desarrollo de un producto genérico, un producto genérico debe farmacéuticamente ser equivalente y bioequivalente con respecto a un producto innovador, para así ser terapéuticamente equivalentes e intercambiables con el innovador; D) Cuando hay cambios en la fabricación del medicamento, en los excipientes, en el equipo empleado, etc., como esto impacta en la calidad o comportamiento de la formulación, todos estos cambios necesitan ser demostrados para BE y Pueden ser elegibles para la bioexención en ciertos casos. La guía FDA, BCS (2000) autoriza bioexenciones para productos farmacéuticos con clasificación BCS Clase 1 (alta solubilidad y alta permeabilidad) además de que deben tener una disolución rápida (el 85 % o más del principio activo se debe disolver en 900 ml de medios de disolución específicos, en menos de 30 mín.)

Otros criterios que debe tener para calificar para una bioexención son:

- i) Los principios activos no deben tener un estrecho índice terapéutico.
- ii) Los excipientes no deben afectar la proporción y magnitud de la absorción del medicamento.
- iii) El medicamento no debe ser destinado para la absorción en la cavidad oral.
- iv) El principio activo no debe ser una pro droga.

Se ha propuesto que para los medicamentos de Clase III (alta solubilidad, baja permeabilidad) también podría ser la disolución un sustituto de la bioequivalencia, ya que la permeabilidad a través de la membrana intestinal, sería el paso limitante de la velocidad de absorción del medicamento (vaciamiento gástrico)¹⁷, bajo tales condiciones la biodisponibilidad no es dependiente de las propiedades de liberación del fármaco, ya que estos son de disolución rápida y bajo pH fisiológico puede esperarse que se comporten como una solución oral in vivo, por lo tanto el medicamento esta disponible para su absorción. Es posible considerar la renuncia de los estudios in vivo de la BA/BE de los compuestos de clase III, cuando estos no contienen excipientes que modifiquen el proceso de absorción del medicamento^{6, 14, 15}

El tiempo de residencia (vaciamiento) gástrico T50 % medio es de 15-20 minutos bajo condiciones de ayuno. En base a esta información, una conclusión conservadora es que un producto medicinal que experimenta una disolución del 85 % en HCl 0.1 N en 15 minutos puede asegurar que la biodisponibilidad del fármaco no este limitada por la disolución. En estos casos, el paso limitante de la velocidad de absorción es el vaciamiento gástrico⁵.

2.5 Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación comúnmente empleada, en esta ocurre un equilibrio continuo de soluto entre dos fases, que son la fase móvil la cual puede ser un líquido o un gas y la fase estacionaria la cual comúnmente es un líquido que recubre la superficie de partículas sólidas las cuales a veces pueden servir como fase estacionaria. La separación de los solutos ocurre debido al reparto de solutos entre la fase móvil y la fase estacionaria¹⁷.

En la práctica la cromatografía se divide en varias clases y pueden aplicarse al análisis de sistemas farmacéuticos mediante el uso de técnicas que difieren una de

la otra de acuerdo con la naturaleza de la fase estacionaria, de la fase móvil y del aparato utilizado.^{17, 18}

Cromatografía de adsorción: Se utiliza una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida o gaseosa. El soluto puede adsorberse en la superficie de las partículas sólidas. El equilibrio entre el estado adsorbido y la solución es la causa de la separación de las moléculas de soluto.

Las fases estacionarias que se utilizan en este tipo de cromatografía son la sílice y la alúmina.

Comúnmente se emplea para compuestos no polares con masas moleculares inferiores a 5 000. Los métodos de la cromatografía de adsorción y reparto tienden a ser complementarios, aunque en algunos casos se superponen.

En general la cromatografía Líquido-Sólido es más adecuada para muestras que son solubles en disolventes no polares y por ello tienen solubilidad limitada en disoluciones acuosas que son las que se utilizan en cromatografía de reparto en fase inversa. En este tipo de cromatografía también se pueden separar compuestos con diferentes grupos funcionales¹⁷.

Cromatografía de reparto: La fase estacionaria forma una película delgada en la superficie de un soporte sólido. El soluto se equilibra entre este líquido estacionario y una fase móvil líquida o gaseosa¹⁷.

Cromatografía de Exclusión

En esta la separación depende del tamaño de las moléculas sin que ocurra algún tipo de interacción entre la fase estacionaria y el soluto, las moléculas son separadas por tamaños y los solutos más grandes pasan más rápidamente. Es una técnica reproducible, escalable y rápida.

La fase estacionaria está formada por partículas poliméricas o de sílice que contiene una red uniforme de poros en los cuales pueden penetrar las moléculas de menor tamaño, razón por la cual fluyen más lentamente que las moléculas más grandes¹⁷.

Cromatografía de Intercambio Iónico¹⁷.

La cromatografía de intercambio iónico está basada en la atracción entre iones del soluto y puntos cargados que existen en la fase estacionaria. En el caso de intercambiadores aniónicos, grupos cargados positivamente en la fase estacionaria atraen aniones del soluto. Los intercambiadores catiónicos contienen puntos cargados negativamente que atraen cationes del soluto, y la fase móvil es un líquido.

Cromatografía por afinidad.¹⁷

En esta se emplean interacciones altamente específicas entre moléculas de soluto que se unen (inmovilizan) covalentemente a la fase estacionaria, por ejemplo la unión de un anticuerpo específico con una proteína.

Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR, o HPLC) ^{1, 17}.

Es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada por su sensibilidad y por sus determinaciones cuantitativas exactas, por ser idónea para la separación de especies no volátiles o termolábiles y por su gran aplicación a sustancias de interés industrial, científico y social, como son: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, plaguicidas, antibióticos, y una gran cantidad de sustancias inorgánicas, etc.

La separación se realiza en una columna, en la cual se ubica la fase estacionaria, fluyendo a través de ella una fase móvil líquida a alta presión. La columna es el tramo corto de tubo de acero en el centro, con dimensiones típicas de 10 a 30 cm de longitud y 2 a 5 mm de diámetro interno, la resolución de esta técnica mejora al disminuir el tamaño de partícula de la fase estacionaria, pero esto trae como consecuencia la resistencia al flujo, por lo tanto es necesario forzar el paso del líquido a través de la columna, empleando altas presiones.

Fase estacionaria ¹⁷.

Cromatografía de fase normal: Una fase polar se encuentra unida al soporte y se utiliza solventes menos polares como fase móvil

Cromatografía de fase inversa: Se utiliza una fase con enlace no polar y un solvente polar, para el análisis de los fármacos es la fase más empleada, con base de sílice y radicales alquílicos (8 y 18 C principalmente) y los eluyentes más usados, son mezclas de agua o tampones con metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano.

Componentes fundamentales de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) ^{17, 18}.

Bomba: Debe cumplir con varios requisitos como son, la generación de presiones por encima de 6.000 psi, un flujo libre de pulsaciones, un intervalo de caudales de 0.1 a 10 ml/min, el control y componentes resistentes a la corrosión (juntas de acero inoxidable o teflón).

Sistema de inyección: Debe ser capaz de introducir volúmenes muy pequeños de apenas unas décimas de 1 μl a tal vez 500 μl , sin despresurizar el sistema.

Columna: Son comúnmente de acero inoxidable de diámetro interno uniforme, aunque también se emplean tubos de vidrio de paredes resistentes, las cuales se emplean a presiones menores de unos 600 psi.

Se utilizan dos tipos básicos de rellenos.

Pelicular: Consiste en bolas de vidrio o de polímero, no porosas y esféricas con diámetros característicos de 30 a 40 μm , en su superficie se deposita una capa delgada y porosa de sílice ó alúmina.

Partículas porosas: tiene un diámetro entre 3 y 10 μm , las partículas son de sílice, alúmina, de una resina sintética de poliestireno – divinilbenceno.

Se recubren con películas orgánicas que se unen química o físicamente a la superficie.

Detectores: Los detectores más empleados son el espectrofotométrico UV-visible, fluorimétrico y electroquímico. Ninguno de ellos es de carácter universal. De introducción reciente es el detector con sistema de diodos múltiples.

Ventajas:

Se puede analizar una gran cantidad de fármacos.

La optimización de la retención y resolución se realiza variando la fase móvil.

Es posible el análisis simultáneo de fármacos y metabolitos, dependiendo de la naturaleza de los analitos y del detector, pudiéndose obtener una buena especificidad y sensibilidad.

Desventajas:

No dispone de un detector universal.

No cuenta con un sistema general de elusión.

No dispone de una escala unificada del tiempo de retención.

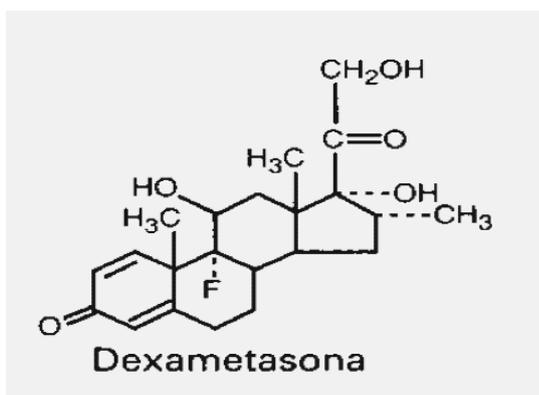
Para incrementar al máximo la vida útil de la columna es necesario de un pre-tratamiento exhaustivo.

El personal requiere de experiencia.

La instrumentación es costosa.

2.6 Monografía de la Dexametasona.

Figura 3 Formula estructural de la Dexametasona.



Nombre químico: (11 β , 16 α)-pregna-1,4-diene-3,20-diona, 9-fluoro-11,17,21-trihidoxi-16-metil²⁵.

Formula condensada: C₂₂H₂₉FO₅²⁵

Peso molecular: 392.47 g/mol²⁵

Punto de fusión: Es estable al aire; funde a alrededor de 250°C con cierta descomposición²⁵

Descripción: Polvo cristalino, inodoro y de color blanco a prácticamente blanco

λ máxima en Metanol 240 nm²⁵.

λ máxima en Metanol 238 nm²⁵.

Tabla 1. Solubilidad de la Dexametasona^{19, 20}.

Solvente	Temperatura °C	Solubilidad mg/ 100ml
Agua destilada	37	11.6
Agua destilada	25	8.4
Etanol	---	1 en 42
Cloroformo	---	1 en 65

Coefficiente de partición: log P en n-octanol/agua 1.75²⁵

Constante de disociación pKa: 1.72³¹

Clasificación Biofarmacéutica: Clase I/III¹⁵

Propiedades farmacológicas^{20, 21, 24, 26, 27}.

La dexametasona posee actividad glucocorticoide, se le emplea especialmente como fármaco antiinflamatorio y antialérgico. Tópicamente se le usa en el tratamiento de las dermatosis que responden a los glucocorticoides. Por la vía sistémica reduce la incidencia y la severidad de la pérdida auditiva secundaria a la meningitis bacteriana. Su potencia glucocorticoide sistémica es aproximadamente 25 veces mayor que la de la cortisona y 750 µg de dexametasona equivalen en actividad antiinflamatoria aproximadamente a 5 mg de prednisolona.

Su acción antiinflamatoria se atribuye a que induce la síntesis de macrocortina, la cuál inhibe la fosfolipasa A₂ y, en consecuencia, todo el proceso de síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos; además, suprime la emigración leucocitaria, reduce la actividad de los fibroblastos, revierte los efectos capilares de la histamina e inhibe la formación de anticuerpos.

La ausencia de propiedades mineralocorticoides hace que el fármaco sea especialmente apropiado para tratar procesos en los que la retención hídrica no es conveniente.

Su efecto de supresión hipófiso-suprarrenocortical se usa para el diagnóstico diferencial en el síndrome de Cushing. En la prueba rápida de la noche a la mañana 1 mg administrado a las 11:00 pm puede tener un marcado efecto supresor sobre el nivel plasmático de Cortisol a las 8:00 en las personas que no padecen el síndrome de Cushing pero poco efecto en las personas que lo padecen²⁰.

Para la administración oral, la dexametasona se utiliza a la dosis habitual de 0.5 a 10 mg/día.

La dosis puede expresarse referida a la base, y cada una de las siguientes equivale aproximadamente a 1 mg de dexametasona.

1.1 mg de acetato de dexametasona

1.3mg de isocinato de dexametasona

1.2mg de fosfato de dexametasona

1.3 mg de fosfato sódico de dexametasona.

Nombre comercial²¹.

Adrecort; Alin; Bexine; Cortidex; Cryometasona; Decadrón; Decadronal; Decorex; Dexagrin; Dexicar; Dibsona; Indarzona-N; Metax; Polideltaxin; Taprodex; Taxyl.

Farmacocinética^{20, 21, 27}

La Dexametasona se absorbe fácilmente en el tubo digestivo como de los sitios de aplicación local, los corticoesteroides se distribuyen rápidamente en todos los tejidos del organismo. Atraviesan la barrera placentaria en diversos grados y se distribuyen en pequeñas cantidades en la leche materna.

En la circulación, la mayoría de los corticoesteroides se unen ampliamente a las proteínas plasmáticas, en mayor medida a la globulina y en menor proporción a la albúmina. Se metabolizan principalmente en el hígado, pero también lo hacen en otros tejidos, y se excretan por la orina como metabolitos conjugados hidrosolubles.

Datos Farmacocinéticos^{20, 21, 27}

Disponibilidad (oral): $78 \pm 14\%$

Excreción urinaria: $2.6 \pm 0.6 \%$

Unión en plasma: $68 \pm 3\%$

Se une en forma lineal a la albúmina pero no se fija a la transcortina.

Depuración $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$: 3.7 ± 0.9

Volumen de distribución l/kg: 0.82 ± 0.22

Vida media plasmática (horas): 3.0 ± 0.8

Vida media biológica (horas): 36 a 54 horas

Efectos adversos^{20, 21, 24, 26, 27}

Frecuentes: Sensación de bienestar, aumento del apetito, nerviosismo, intranquilidad, dificultad para dormir.

Con la administración crónica: acné, dolor muscular, cansancio, sangrado gastrointestinal, aumento de la susceptibilidad a las infecciones, úlcera péptica, indigestión, trastornos del gusto y del olfato, gastritis, y descalcificación de los huesos.

Poco frecuentes: visión borrosa y sed.

Raras: erupción cutánea u otras manifestaciones de hipersensibilidad, alteraciones psíquicas (confusión, desorientación, euforia, alucinaciones, episodios maníaco depresivos).

3. Parte experimental

3.1 Material

3.1.1 Sustancias y reactivos empleados

3.1.1.1 Estándar empleado

La sustancia de referencia fue donativo de laboratorios Grin.

- Estándar secundario de Dexametasona Base. Lote MP-511373. Pureza 99.82 %

3.1.1.2 Reactivos

- Metanol: TECNOLAB MET267 04/11/07
- Acetonitrilo: TECNOLAB Lote ACN254 02/19/07
- Ácido Acético glacial: JT Baker Lote No. G49464
- Acetato de sodio trihidratado: JT Baker Lote No. 3131-90-4.
- Hidróxido de sodio perlas: JT Baker Lote No.1310-73-2
- Agua desionizada
- Agua destilada

3.1.2 Equipo empleado

- Cromatógrafo de líquidos de Alta resolución, Shimadzu LC-10AT, con detector UV-VISIBLE SCL 10A
- Balanza Analítica Sartorius analytic.
- Potenciómetro Termo Orión
- Espectrofotómetro UV-1601 Shimadzu
- Filtro de teflón
- Disolutor TDT-08L, Marca: Pharma ALLIANCE GROUP
- Termómetro
- Cronómetro
- Micropipetas
- Matraz aforado de 10ml
- Columna empleada en la validación y en los perfiles de disolución: Spherisorb S5 ODS2.
- Columna para la valoración: μ BondapackTM C18 Waters.
- Sonicador Transsonic T70014
- Desionizador millipore

- Baño maría Lab-line Aquabath™

3.2 Medicamentos estudiados.

Se estudiaron los perfiles de disolución de dos lotes diferentes de dos productos comerciales los cuales se adquirieron directamente en la farmacia de similares y de genericos.

Tabletas de Dexametasona, dosis 0.5 mg.

Tabla 2 Medicamentos estudiados.

Marca comercial	Lote
Dexa –Grin (farmacia de similares)	61066*
	5K064
Alin (farmacia de genericos)	ZFG601*
	ZEL601

*Lotes validados

3.3 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD.

Estas pruebas están basadas en los procedimientos descritos en la FEUM 8^a Edición, pero se le hicieron algunas adaptaciones para hacer uso del equipo y de los reactivos disponibles en el momento de llevarlas a acabo.

3.3.1. Valoración

El procedimiento seguido para hacer la valoración esta basado en el método descrito en la FEUM 7ª edición.

Metodología

Preparación de la solución de referencia

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con metanol diluido (1:2) y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con metanol diluido (1:2), tomar una alícuota de 500 µl, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con metanol diluido (1:2).

Concentración final **50 µg/ml.**

Preparación de la muestra problema.

1. Calcular el peso promedio de las tabletas
2. Pulverizar 20 tabletas
3. Pesar una cantidad equivalente a 500 µg de Dexametasona
4. Disolver con MeOH diluido (1:2) y verter en un matraz aforado de 10 ml.
5. Agitar mecánicamente durante 20 minutos.
6. Aforar con MeOH diluido (1:2). Concentración final de 50 µg/ml.
7. Filtrar una alícuota de la solución.
8. Inyectar por quintuplicados volúmenes iguales.

Tabla 3 Condiciones cromatograficas

Cromatógrafo	Shimadzu LC-10AT	Presión	120 Kg
Detector	UV-VIS SCL 10A	Longitud de onda	254 nm
Columna	µBondapack™ C18 Waters	Volumen de inyección	100 µl
Fase móvil	ACN/H ₂ O 4:5	Tiempo de análisis	6.5 min.
Velocidad de flujo	1 ml/min.		

Junto con las muestras se inyectó también un blanco de MeOH diluido (1:2).

Cálculos.

Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ por medio de la siguiente fórmula.

$CD(Hm/HRef.)$

Donde.

C = Concentración de la solución estándar

D = Factor de dilución de la muestra

Hm = Altura de la muestra

HRef. = Altura de la referencia

Criterio de aceptación

El coeficiente de variación de cinco inyecciones repetidas de las muestras debe ser menor al 3 %. FEUM 8^a ed.

Contiene no menos del 90 % y no más del 110 % de la cantidad de Dexametasona indicada en el marbete. FEUM 8^a ed.

3.3.2. **Peso promedio**

Pesar 20 tabletas de cada producto a estudiar, con precisión e individualmente y calcular el peso promedio.

3.4. **Validación del método analítico.**

Antes de realizar el estudio de los perfiles de disolución de ambos medicamentos se desarrollo y validó un método analítico empleando cromatografía de líquidos de alta resolución, para su cuantificación en el medio de disolución SA de acetatos 0.05 M, pH 4.5 ± 0.05 .

En la FEUM 8^a edición se describe un método para disolución que tiene como objetivo el cálculo de Q, en el cual es necesario emplear dos reactivos azul de tetrazolio y hidróxido de tetrametilamonio, además de que es necesario concentrar las muestras, lo cual elevaba los costos, y hace del procedimiento algo muy laborioso, como para aplicarlo a los perfiles de disolución ya que se necesita llevar a cabo la cuantificación de una mayor cantidad de muestras problema, por lo cual se desarrollo un método más directo para la cuantificación de los perfiles de disolución.

3.4.1 Método desarrollado para la cuantificación de la Dexametasona.

Tabla 4 Método de cuantificación, condiciones cromatográficas

Cromatógrafo	Shimadzu LC-10AT	Presión	120 kg
Detector	UV-VIS SCL 10A	Longitud de onda	254 nm
Columna	Spherisorb S5 ODS2	Volumen de inyección	100µl
Fase móvil	ACN/H ₂ O 4:5	Tiempo de análisis	6.5 min.
Velocidad de flujo	1 ml/min.		

3.4.2. Validación del sistema en el medio de disolución

3.4.2.1. Linealidad

Para la evaluación de este parámetro se debe preparar por duplicado la curva de calibración, que comprenda un intervalo de concentraciones que permita la posterior evaluación del perfil de disolución (0.08 µg/ml-0.7 µg/ml).

Metodología

Preparación de la solución de referencia

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 µl, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos 0.5 M (pH 4.5±0.5). Concentración final **50 µg/ml**

Tabla 5 Preparación de la curva patrón.

Alícuota de la solución de referencia de Dexametasona 50 µg/ml (µl)	Aforo con SA de acetatos pH 4.5 (ml)	Concentración (µg/ml)
140	10	0.7
100	10	0.5
60	10	0.3
20	10	0.1
16	10	0.08

Inyectar en el cromatógrafo

Las condiciones cromatográficas son las indicadas en la tabla 4.

Junto con la muestra problema se inyecta también una referencia de 50 µg/ml y un blanco de acetatos, el blanco se inyecta para verificar que no se presente ninguna lectura en los minutos correspondientes al tiempo de retención de la Dexametasona y la referencia se inyecta para verificar que la respuesta obtenida en las muestras problema corresponde a la Dexametasona.

Criterio de aceptación de linealidad

La linealidad debe tener un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 2 %, para al menos cinco puntos (excepto el cero) por duplicado. NOM-177-SSA1-1998

3.4.2.2. **Precisión**

Se determina a partir de los resultados de linealidad, para esto se evalúa el factor de respuesta, el cual se calcula dividiendo la respuesta obtenida para cada uno de los puntos de la curva entre su concentración correspondiente y calculando el cv % para todos los puntos del sistema.

Criterio de aceptación de la precisión

De los datos de linealidad se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2 %⁸. NOM-177-SSA1-1998

3.5. **Validación del método analítico.**

3.5.1. **Linealidad**

Se determino la linealidad para un lote de cada medicamento estudiado, en el medio de disolución SA de acetatos pH 4.5

Metodología

1. Calcular el peso promedio de las tabletas.
2. Pulverizar 30 tabletas de Dexa-Grin y 30 tabletas de Alin, por separado.
3. Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de Dexametasona
4. Disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 100 ml.
5. Aforar con MeOH, concentración final 100 µg/ml.
6. Filtrar
7. Preparar por triplicado la curva patrón a partir de un mismo stock.

Preparación de la solución de referencia

De la solución con una concentración de 100 µg/ml tomar una alícuota de 2.5 ml, verter en un matraz aforado de 5 ml y aforar con SA de Acetatos pH 4.5.

Concentración final **50 µg/ml**

Tabla 6 Preparación de la curva patrón.

Alícuota de la solución de referencia de 50 µg/ml (µl)	Aforo con SA de acetatos pH 4.5 (ml)	Concentración (µg/ml)
140	10	0.7
100	10	0.5
60	10	0.3
20	10	0.1
16	10	0.08

Inyectar en el cromatógrafo.

Las condiciones cromatográficas son las indicadas en la tabla 4.

Cálculos.

Graficar Altura vs [Dexametasona] y calcular coeficiente de correlación (r), pendiente (m) e intercepto (b), error relativo debido a la regresión.

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

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - (\text{pendiente} \times \sum yx) - (\text{ordenada} \times \sum y)}{N-2}}$$

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

\bar{y} , promedio de la respuesta

x , concentración

y , respuesta

$N-2$, grados de libertad

Criterio de aceptación de linealidad

La linealidad debe ser demostrada con al menos 5 puntos, por triplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 3 %⁸. NOM-177-SSA1-1998

3.5.2 Exactitud

Se determino a partir de los resultados de linealidad, de la curva promedio (Altura vs [Dexametasona]) se obtuvo la ecuación y se calculó la concentración en cada punto.

Con los resultados obtenidos se calculo la desviación estándar relativa (DEA)

% DEA= (([teórica]-[experimental])/[teórica]) x 100

Criterio de aceptación de la Exactitud.

El valor de la desviación estándar relativa (DEA) debe ser menor del 3 %⁸.

3.5.3 Precisión

Se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad

3.5.3.1 Repetibilidad

De tres curvas de linealidad calcular la media, desviación estándar (DE) y el % de coeficiente de variación (CV).

Criterio de aceptación.

El % CV debe ser menor al 3 % NOM-177-SSA1-1998

3.5.3.2 Reproducibilidad intralaboratorio

Esta se determino preparando un mismo analista en dos días diferentes las curvas patrón empleando el mismo procedimiento que para la linealidad, con la diferencia que se empleo la misma solución estándar de 100 µg/ml, para ahorrar tabletas de las formulaciones a estudiar.

Criterio de aceptación de la Reproducibilidad

De las curvas de calibración preparadas en dos días diferentes, determinar para cada concentración la media, DE y CV %, si este último es menor o igual al 3 % entonces el método es reproducible⁸. NOM-177-SSA1-1998

3.5.4. Estabilidad de la muestra

Metodología

- Preparación de la solución de referencia

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 µl, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos pH 4.5. (Concentración final 50 µg/ml).

- Preparación de la solución problema.

De la solución estándar tomar una alícuota de 140 µl, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA Acetatos, concentración final de 0.7 µg/ml (preparar por triplicado).

1. Calentar el baño maría a 37 °C a temperatura constante.
2. Verter las 3 soluciones preparadas en un tubo de ensayo c/u.
3. Colocar en el baño maría
4. Muestrear 1.5 ml de cada tubo cada 0, 15, 30, 45 y 90 mín.
5. Inyectar en el cromatógrafo con las condiciones indicadas en la tabla 4.

Criterio de aceptación de la estabilidad de la muestra

El % de Dexametasona presente no debe tener una diferencia mayor al 3 % con respecto al tiempo 0.

3.5.5. Selectividad

Se determino la selectividad haciendo un barrido de una muestra de cada producto farmacéutico y del estándar de Dexametasona.

Preparación de la solución de referencia.

1. Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01g de Dexametasona estándar.
 2. Disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml.
 3. Aforar con MeOH.
 4. Tomar una alícuota de 500 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml.
 5. Aforar con SA de Acetatos 0.05 M (pH 4.5 \pm 0.5).
 6. Tomar una alícuota de 100 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml.
 7. Aforar con SA de acetatos. Concentración final de 0.5 μ g/ml
 8. Hacer un barrido de 200 a 300 nm en el espectrofotómetro.
- Preparación de las muestras problema.
 1. Calcular el peso promedio de las tabletas
 2. Pulverizar las tabletas
 3. Pesar una cantidad equivalente a 500 μ g de Dexametasona
 4. Disolver con SA de acetatos y verter en un matraz volumétrico de 10 ml.
 5. Continuar de la misma manera como se describe para la preparación de la solución estándar a partir del punto 5.

Especificidad empleando el método cromatográfico.

- Preparación de la referencia

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos 0.05 M pH 4.5 \pm 0.05. (Concentración final **50 μ g/ml**).

- Preparación de la muestra de Dexametasona del producto farmacéutico Dexa-Grin.

Del polvo de tabletas obtenido previamente para la valoración, Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos 0.05 M pH 4.5 \pm 0.05. Concentración final **50 μ g/ml**

- Preparación de la muestra de Dexametasona del producto farmacéutico Alin.

Del polvo de tabletas obtenido previamente para la valoración, Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos 0.05 M pH 4.5 \pm 0.05. Concentración final **50 μ g/ml**

Criterio de aceptación

Se debe demostrar la selectividad ante otros componentes de la muestra, cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud⁸.

3.5.6. Influencia del Filtro

La evaluación se hizo preparando dos soluciones

Metodología.

Preparación de la solución de referencia

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 0.01 g de Dexametasona estándar, disolver con MeOH y verter en un matraz aforado de 10 ml, Aforar con MeOH, tomar una alícuota de 500 μ l, verter en un matraz aforado de 10 ml y aforar con SA de Acetatos 0.05 M pH 4.5 \pm 0.05.

Concentración final **50 μ g/ml**

Tabla 7 Preparación de las soluciones.

Alícuota de la solución Stock de 50µg/ml (µl)	Aforo con SA de acetatos pH 4.5 (ml)	Concentración (µg/ml)
500	50	0.5
100	50	0.1

De las soluciones preparadas se tomaron alícuotas sin filtrar, las cuales se consideraron como el 100 % con respecto a las muestras filtradas.

Se emplearon filtros de teflón de 0.45 µm de adaptación directa, los cuales se utilizaron para tomar seis alícuotas consecutivamente, cada que se tomo una alícuota se cambio el filtro por uno limpio.

Inyectar en el cromatógrafo

Las condiciones cromatográficas son las indicadas en la tabla 4.

Cálculos

Se determino el % de diferencia empleando la siguiente formula.

$$\% \text{ de diferencia} = ((SD-SF)/SD)*100$$

SD =solución sin filtrar.

SF = promedio de las soluciones filtradas.

Criterio de aceptación

La diferencia entre las soluciones sin filtrar y el promedio de las soluciones filtradas no debe ser mayor al 2 %⁷.

3.9. Preparación del medio de disolución.

Se empleó como medio de disolución una solución amortiguadora de acetatos de concentración 0.05 M, pH 4.5 ± 0.05

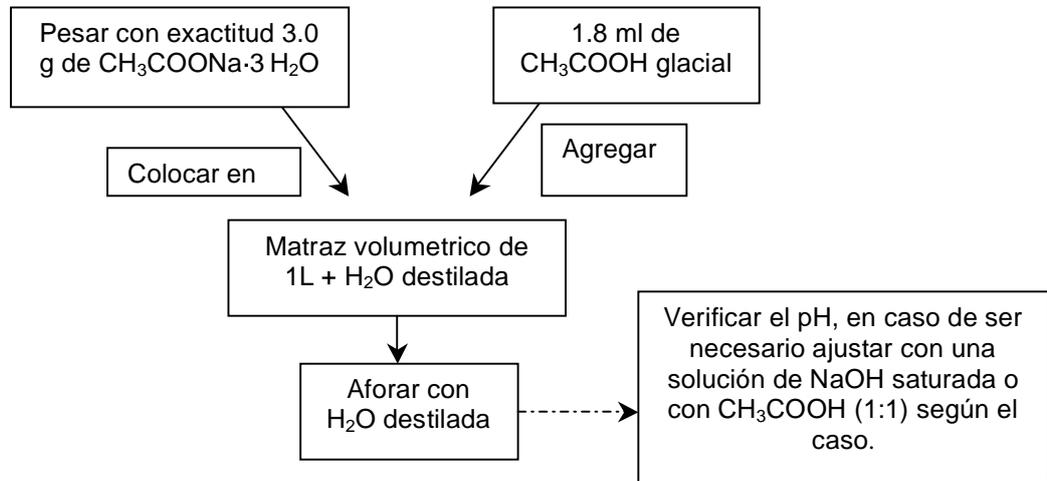


Figura 4 Preparación de la SA de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05 .

3.6.1. Desgasificación de los medios de disolución.

Colocar la solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 en el garrafón de vidrio B del equipo desgasificador, colocar las conexiones como se muestra en la figura 5, tapar y conectar al vacío, abrir la llave de vacío y esperar a que pase todo el medio de disolución del garrafón B al A, cerrar la llave de vacío e invertir las conexiones de los garrafones y repetir el procedimiento tres veces.

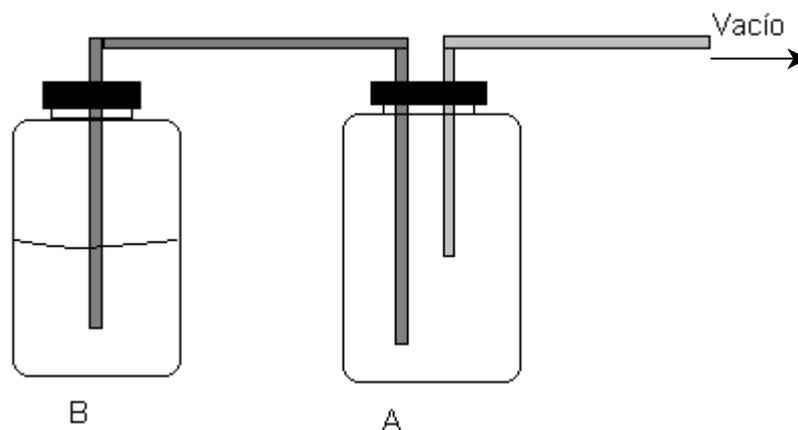


Figura 5 Sistema desgasificador.

4. Estudio del perfil de disolución

El estudio de los perfiles de disolución se llevo a cabo empleando como medio de disolución solución amortiguadora de Acetatos 0.05 M (pH 4.5 \pm 0.05).

Condiciones

- Aparato utilizado: No. 1 canastillas
- Velocidad: 100 rpm.
- Medio de disolución: SA de Acetatos 0.05M (pH 4.5 \pm 0.05).
- Volumen del medio de disolución: 900 ml
- Temperatura del medio de disolución: 37 \pm 0.5 °C.
- Tiempos de muestreo: 3, 5, 15, 30, 45 mín., para cada medicamento.
- Volumen de la alícuota: 3 ml, sin reposición del medio.

Metodología

1. Encender el disolutor y poner las condiciones de trabajo en el controlador (rpm, temperatura).
2. Verter 900 ml del medio de disolución en cada vaso procurando no generar burbujas al trasvasar y al medir el volumen del medio.
3. Colocar cada vaso en el baño del disolutor y esperar a que la SA de acetatos alcance la temperatura de prueba, y mantenerla constante.
4. Poner una tableta de Dexametasona en cada una de las canastillas, y posteriormente colocar cada canastilla en el vástago correspondiente.
5. Ajustar las canastillas a 2.5 cm del fondo del vaso y accionar las rpm.
6. Purgar los filtros con medio de disolución antes de muestrear.
7. Muestrear 3 ml del medio de acetatos en los tiempos de muestreo ya indicados sin reposición del medio.
8. Colocar 1.5 ml de cada alícuota en viales para inyectar en el cromatógrafo, sin necesidad de hacer diluciones.

Las condiciones cromatográficas son las indicadas en la tabla 4.

Junto con las muestra problema se inyecta también una referencia de 50 μ g/ml y una curva patrón, preparada de la misma forma que para la linealidad del sistema tabla 5 y un blanco de acetatos.

Cálculos.

1. Graficar las Alturas del pico de la Dexametasona vs. la concentración de la Dexametasona estándar, obteniéndose la ecuación de la recta y su coeficiente de correlación.
2. Calcular las concentraciones de las muestras interpolando las alturas obtenidas del pico de Dexametasona.
3. Determinar la cantidad disuelta a cada tiempo de cada vaso, para ello multiplicar la concentración de las muestras por el volumen del medio de disolución y sumando los µg tomados en cada alícuota del tiempo de muestreo anterior.
4. Calcular el % disuelto en cada tiempo, de acuerdo a lo indicado en el marbete y determinar su promedio, desviación estándar y su % CV en cada tiempo.
5. Construir las curvas del % disuelto vs tiempo para cada lote en estudio.
6. Calcular el factor de similitud (f_2), para comparar los perfiles de disolución.

Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20 % para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10 % para los tiempos subsecuentes, se comparan los perfiles de disolución usando el factor de similitud (f_2)

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

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

Criterio de Aceptación.

Un factor de similitud entre 50 y 100 indica perfiles de disolución similares⁸

5. Resultados y análisis de resultados.

5.1. Pruebas de control de calidad.

5.1.1 Resultados de peso promedio y de valoración.

Los resultados correspondientes a la valoración (tabla 8), cumplen con el criterio de aceptación indicado en la FEUM 8^a ed., ya que los porcentajes obtenidos para los dos lotes de ambos medicamentos se encuentran entre el 90 y el 110 % de principio activo indicado en el marbete.

Tabla 8 resultados de valoración y peso promedio.

Producto farmacéutico	Peso promedio (g)	Valoración		Coeficiente de variación %
		(μ g)	(% p.a.)	
Dexa-grin lote 1 (61066)	0.1782	507.22	101.44	2.60
Dexa-Grin lote 2 (5K064)	0.1818	503.92	100.78	1.090
Alin lote 1 (ZFG601)	0.0794	462.60	92.52	0.99
Alin lote 2 (ZEL601)	0.0793	521.44	104.29	2.02

5.2. Validación del método analítico.

5.2.1 Validación del sistema en el medio de disolución

5.2.1.1 Linealidad

Los resultados de linealidad presentados en la tabla 9 y en la figura 6, permiten ver que el sistema es lineal en el intervalo de 0.08 μ g/ml a 0.7 μ g/ml, ya que cumple con el criterio de aceptación que indica que el coeficiente de regresión debe ser igual o mayor a 0.99 y el error relativo debido a la regresión no debe ser mayor al 2 %, por lo tanto existe una relación directamente proporcional entre la altura (respuesta medida) y la concentración en el intervalo indicado.

Figura 6 Linealidad del sistema en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05

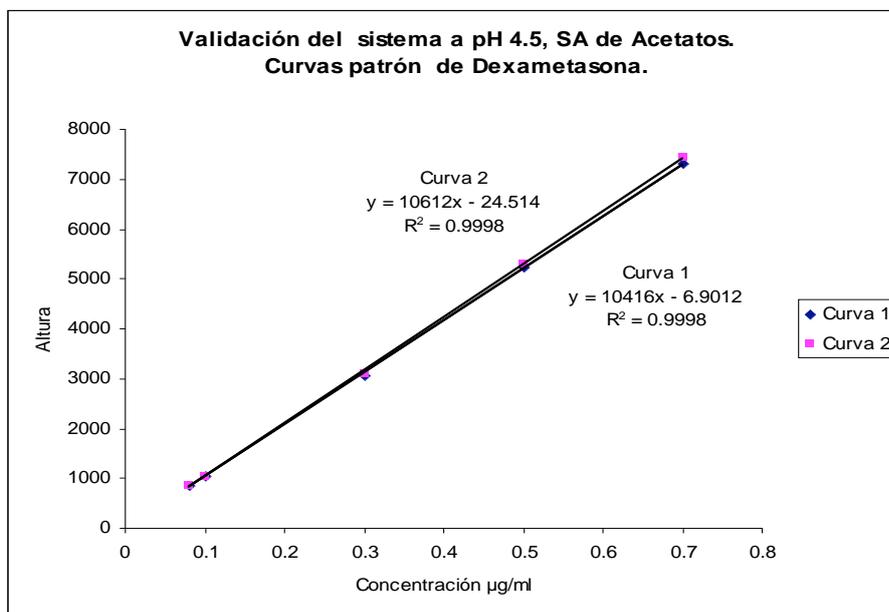


Tabla 9 Linealidad del sistema en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05

Concentración (µg / ml)	Altura	
	Curva 1	Curva 2
0.7	7299	7430
0.5	5214	5277
0.3	3050	3094
0.1	1047	1046
0.08	854	859
Intercepto (b)	10415.78	10612.24
Pendiente (m)	-6.90	-24.51
Correlación (r)	0.998069	0.999804165
Error relativo debido a la regresión %	1.27	1.28

5.2.1.2 Precisión

Como se puede ver en la tabla 10 el factor de respuesta presentado por el sistema es menor al 2 %, por lo tanto cumple con el criterio de aceptación, lo que indica que existe concordancia entre los resultados obtenidos para las dos curvas de calibración, por lo que el sistema es preciso.

Tabla 10 Resultados de la precisión del sistema

Concentración ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Factor de respuesta Altura / concentración	
	Curva 1	Curva 2
0.7	10427.14	10614.28
0.5	10428	10554
0.3	10166.67	10313.33
0.1	10470	10460
0.08	10675	10737.5
	Media (n =10)	10484.59
	DE (n =10)	169.83
	CV (n =10)	1.62

5.3 Validación del método analítico

5.3.1 Linealidad

Los resultados de linealidad para las tabletas de Dexametasona marca comercial Dexa-Grin y Alin, se encuentran dentro de las especificaciones indicadas en la NOM-177-SSA1-1998 ya que presentan un coeficiente de correlación mayor a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 3 %. Por lo tanto el método en el intervalo de concentración de 0.08 a 0.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ es lineal.

Tabla 11 Linealidad del método producto Alin
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Concentración µg/ml	Altura		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0.7	6793	6742	6920
0.5	4795	4919	5034
0.3	2880	2900	2811
0.1	924	943	957
0.08	744	758	719
Intercepto (b)	-46.5403	-12.9784	-88.6572
Pendiente (m)	9743.2747	9718.3882	10050.1703
Correlación (r)	0.9998	0.9998	0.9995
Error relativo debido a la regresión %	0.67	1.57	2.79

Figura 7 Linealidad del método producto Alin

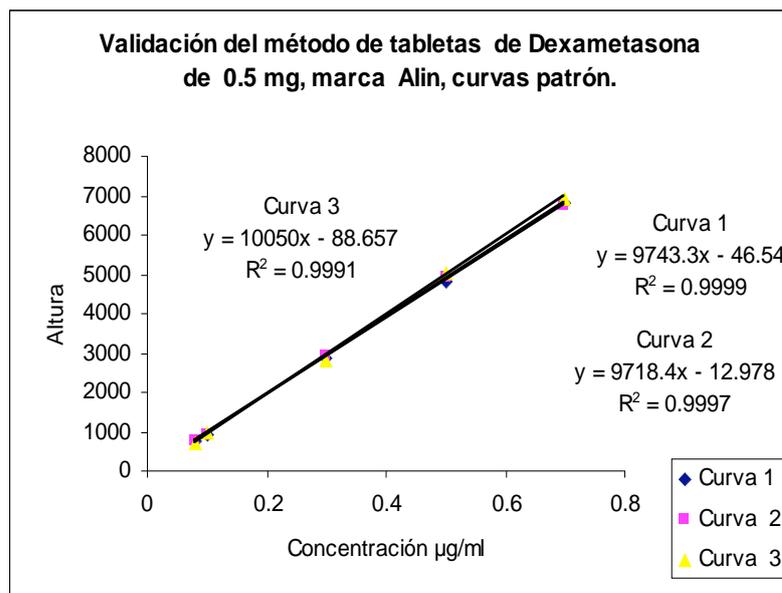
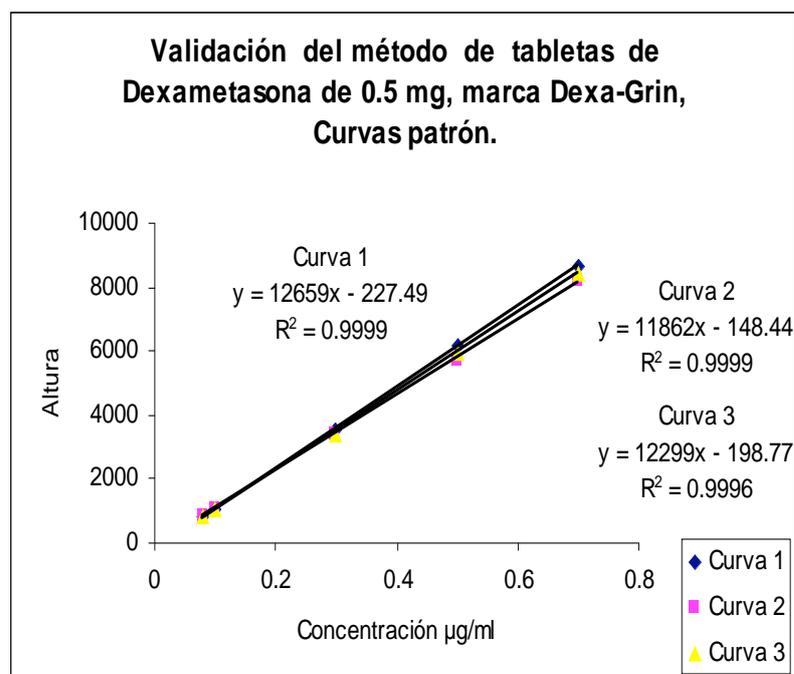


Tabla12 Linealidad del método del producto. Dexa-Grin
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Concentración µg/ml	Altura		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0.7	8633	8189	8454
0.5	6135	5735	5943
0.3	3509	3407	3382
0.1	1030	1017	1034
0.08	822	838	855
Intercepto (b)	-227.4937	-148.4427	-198.7662
Pendiente (m)	12658.6124	11862.0318	12298.7088
Correlación (r)	0.9999	0.9999	0.9995
Error relativo debido a la regresión %	1.13	1.09	2.01

Figura 8. Linealidad del método producto Dexa-Grin



5.3.2 Exactitud

Los resultados se obtuvieron a partir de los datos de linealidad y se encuentran en las tablas (13 y 14) en estas podemos observar que casi todos los resultados de ambos productos cumplieron con el criterio de aceptación, por lo cuál podemos decir que hay correspondencia entre los valores teóricos y los valores experimentales para estos puntos de las curvas de calibración, pero hay que tomar en cuenta que este es un parámetro influenciado por errores sistemáticos como: la utilización de equipos de medición no adecuados, una calidad de reactivos incorrecta, o el no utilizar el método analítico apropiado, etc.

Por lo tanto el resultado que se encuentra fuera de los parámetros se debe a una mala preparación de las curvas de calibración, ya que como podemos ver en la metodología para la preparación de estas curvas se emplean alícuotas pequeñas de la referencia por lo cual un error de pipeteo, tiene una gran repercusión en los resultados obtenidos, principalmente en los resultados correspondientes a la concentración de 0.08 µg/ml ya que se tomaba una alícuota de 16 µl y como se puede ver en los resultados, de forma consistente se estuvo tomando una cantidad ligeramente mayor a la cantidad teórica de dexametasona, que debía emplearse para la preparación de las soluciones.

Tabla 13 Resultados de exactitud del método. Producto Alin

Concentración µg/ml	Concentración µg/ml			Promedio	% DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
0.7	0.7019	0.6951	0.6974	0.6981	0.27
0.5	0.4969	0.5075	0.5097	0.5047	0.94
0.3	0.3003	0.2997	0.2885	0.2962	1.27
0.1	0.0996	0.0984	0.1040	0.1007	0.7
0.08	0.0811	0.0793	0.0804	0.0802	-0.25

Tabla 14 Resultados de exactitud del método. Producto Dexa-Grin

Concentración µg/ml	Concentración µg/ml			Promedio	% DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
0.7	0.6999	0.7029	0.7035	0.7021	-0.29
0.5	0.5026	0.4959	0.4994	0.4993	0.12
0.3	0.2952	0.2997	0.2911	0.2953	1.57
0.1	0.0993	0.0982	0.1002	0.0993	0.71
0.08	0.0829	0.0831	0.0857	0.0839	-4.87

El valor de la desviación estándar relativa (DEA) debe ser menor del 3%. NOM-177-SSA1-1998.

5.3.3 Precisión

5.3.3.1 Repetibilidad

Los resultados obtenidos para las tabletas de Dexametasona marca Alin cumplen con el criterio de aceptación ya que los coeficientes de variación se encuentran por debajo del 3%.

Los resultados correspondientes a las tabletas de marca Dexa –Grin cumplen casi todos con el criterio de aceptación excepto por el resultado correspondiente a la concentración 0.5 µg/ml que presenta un coeficiente de variación de 3.36 %, lo cual nos indica que el método no es preciso en este punto, es decir hay variaciones entre los resultados obtenidos bajo las mismas condiciones, esto se debe a errores aleatorios como son los errores instrumentales, errores individuales, entre otros.

Tabla 15 Precisión (repetibilidad) del método. Producto Alin.
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Concentración µg/ml	Media Altura	DE	CV %
0.7	6818.33	91.6642	1.34
0.5	4916	119.5282	2.43
0.3	2863	46.6940	1.63
0.1	941.33	16.5630	1.76
0.08	740.33	19.7568	2.67

Tabla 16 Precisión (repetibilidad) del método. Producto Dexa-grin.
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Concentración µg/ml	Media Altura	DE	CV %
0.7	8425.33	223.3838	2.65
0.5	5937.66	200.0533	3.36
0.3	3432.66	67.2780	1.96
0.1	1027	8.8882	0.86
0.08	838.33	16.5025	1.97

5.3.3.2 Reproducibilidad

Los resultados presentados en las tablas 17 y 18, muestran que se cumplió satisfactoriamente con este parámetro ya que ambas presentaciones farmacéuticas tienen un CV menor al 3%, por lo tanto el método en ambos casos presenta reproducibilidad.

Tabla 17 Reproducibilidad del método. Producto Alin
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Conc. nominal (µg/ml)	Concentración µg/ml								
	Día 1			Día 2			Media	DE	CV (%)
	C 1	C2	C3	C 1	C 2	C 3			
0.7	0.709	0.694	0.703	0.701	0.695	0.697	0.700	5.91 ⁻³	0.84
0.5	0.488	0.511	0.495	0.496	0.507	0.509	0.501	9.29 ⁻³	1.85
0.3	0.293	0.294	0.299	0.300	0.299	0.288	0.296	4.63 ⁻³	1.56
0.1	0.103	0.097	0.097	0.100	0.098	0.104	0.099	2.79 ⁻³	2.79
0.08	0.084	0.082	0.084	0.081	0.079	0.080	0.082	2.04 ⁻³	2.49

Tabla 18 Reproducibilidad del método. Producto Dexa-Grin
Tabletas de Dexametasona 0.5 mg.

Con. nominal (µg/ml)	Concentración µg/ml								
	Día 1			Día 2			Media	DE	CV (%)
	C 1	C2	C3	C 1	C 2	C 3			
0.7	0.699	0.702	0.703	0.713	0.709	0.709	0.706	5.07 ⁻³	0.72
0.5	0.502	0.495	0.499	0.483	0.491	0.491	0.493	6.08 ⁻³	1.38
0.3	0.295	0.299	0.291	0.293	0.289	0.288	0.293	4.09 ⁻³	1.39
0.1	0.099	0.098	0.100	0.105	0.103	0.104	0.101	2.88 ⁻³	2.83
0.08	0.082	0.083	0.085	0.083	0.854	0.085	0.0844	1.26 ⁻³	1.49

5.3.4 Estabilidad de la Dexametasona

Se determino con una concentración de 0.7 µg/ml.

En la tabla 19, la dexametasona es estable en un intervalo de tiempo de 0 a 90 minutos de calentamiento constante a 37 °C ± 0.5 °C, en SA de Acetatos 0.05 M pH 4.5± 0.05, condición a la que estaría sometida al realizarse los perfiles de disolución.

Tabla 19 Resultados de la estabilidad de la Dexametasona

Tiempo (min.)	Promedio ($\mu\text{g/ml}$)	% DEA
0	0.6888	---
15	0.6796	1.33
30	0.6808	1.16
45	0.6855	0.48
90	0.6891	-0.04

5.3.5 Selectividad

En la figura 9 se presentan los espectros de absorción de la dexametasona en los productos comerciales estudiados, al igual que el del estándar y además en la tabla 20 se presentan las λ máx. y las λ min., tanto en la figura como en la tabla podemos observar hay ligeras diferencias, las cuales se deben a la presencia de los excipientes en los medicamentos, aun así se cumple con el criterio de aceptación que establece que no debe haber diferencias significativas entre los espectros de los productos farmacéuticos, en relación con el estándar, además de que se obtuvo un % de diferencia entre la longitud de onda del medicamento de prueba con respecto al estándar menor al 4 %. Manual de Biofarmacia pág. 21.

De igual manera las figuras 10, 11 y 12 corresponden a los cromatogramas del estándar, del producto Alin y Dexa Grin, respectivamente y como podemos observar no hay diferencia significativas entre los productos de prueba y el estándar, por lo que podemos decir que el método es selectivo.

Se decidió trabajar a 254 nm ya que es la longitud de onda establecida en la FEUM 8ª edición, además de que esta longitud de onda se encuentra dentro de un rango en el cual comparando los espectros no hay lectura debida a los excipientes.

Tabla 20 Resultados de selectividad.

Estándar	Alin	% Error	Dexa-Grin	% Error
λ máxima				
242.8	238.2	1.89	237.6	2.14
203.8	206.0	1.08	206.4	1.27
λ mínima				
211.2	208.4	1.32	207.8	1.61

Figura 9 Espectro de absorción UV del estándar de Dexametasona, producto Alin y producto Dexa-Grin.

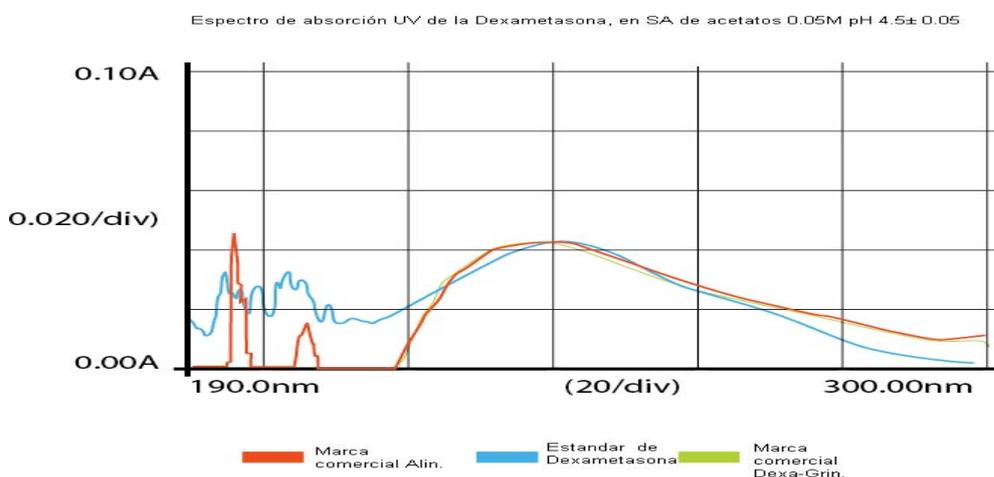
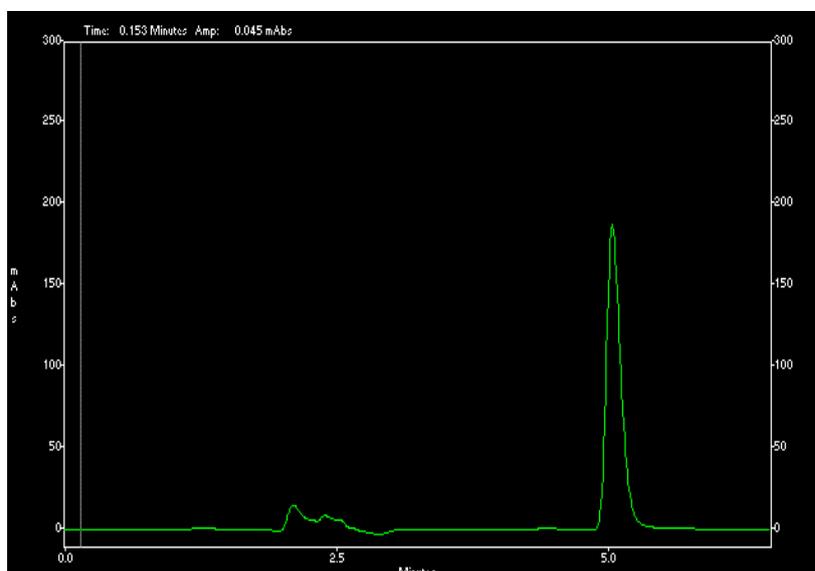
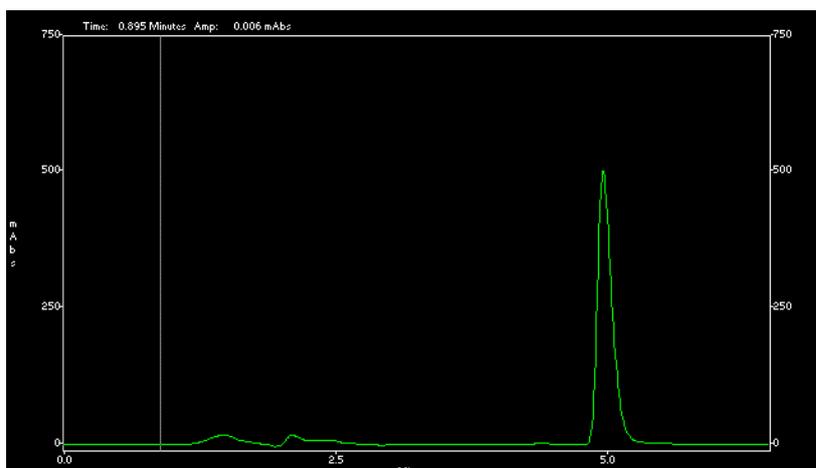


Figura 10 Cromatógrama del estándar de Dexametasona



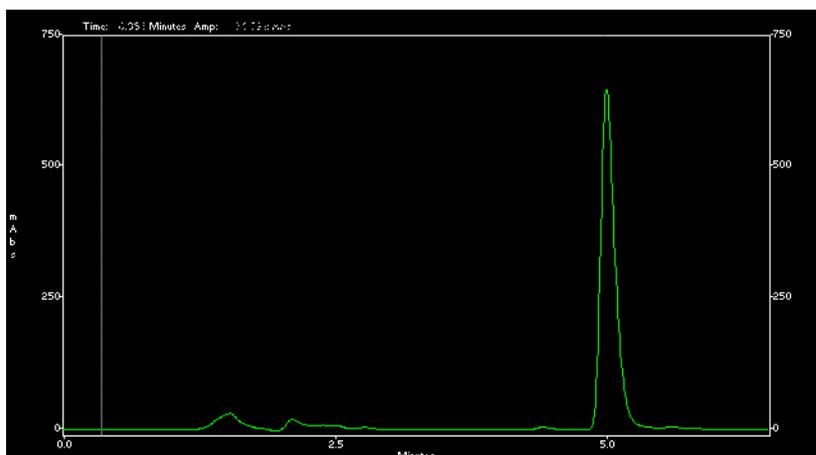
Tiempo de retención:
5.042 min.
Altura 241704.8

Figura 11. Cromatógrama del producto farmacéutico Alin



Tiempo de retención:
4.967 min.
Altura: 216058

Figura 12. Cromatógrama del producto farmacéutico Dexa-Grin.



Tiempo de retención:
5.000 min.
Altura: 243598.2

5.3.6 Influencia del filtro

Los resultados que se presentan en la tabla 21, muestran que el porcentaje retenido entre las muestras de Dexametasona filtradas y sin filtrar es menor al 2 % por lo tanto si es posible emplear el filtro de teflón durante el estudio de los perfiles de disolución de los dos medicamentos, ya que no presenta una absorción significativa del principio activo, por lo que cumple con el criterio de aceptación que consiste en determinar que no existe adherencia del fármaco al filtro.

Tabla 21 Resultados de la Influencia del filtro

Estándar de Dexametasona	Altura del pico.	
	Conc. baja (0.1 µg/ml)	Conc. alta (0.5 µg/ml)
Sin filtrar promedio	1080	5798
Filtradas promedio	1073.5	5777.5
% retenido	0.602	0.353

5.4. Estudio del perfil de disolución.

Como podemos observar en las tablas 22 y 23 al igual que en las figuras 13, 14 y 15 más del 85 % de la Dexametasona contenida en las tabletas se disolvió en menos de 15 minutos, presentándose estos resultados para los dos lotes de las tabletas de similares y de genéricos.

Por lo tanto podemos decir que las tabletas de Dexametasona a pH 4.5 son de muy rápida disolución, pero no debemos olvidar que para poder clasificarlas de esta forma es necesario realizar los perfiles de disolución de las tabletas en tres medios de disolución de diferente pH (1.2, 4.5 y 6.8) y que en este trabajo únicamente se presentan los resultados correspondientes al pH 4.5.

Tabla 22 Porcentaje promedio de 12 tabletas de Dexametasona de 0.5 mg de dos lotes diferentes. Producto farmacéutico Alin

Tiempo (min)	ZFG601			ZEL601		
	% disuelto (promedio)	Desviación estándar	CV %	% disuelto (promedio)	Desviación estándar	CV %
3	56.31	4.9561	8.80	88.76	2.6918	3.03
5	85.92	2.6792	3.12	94.53	3.1243	3.30
15	97.71	3.8806	3.97	94.17	2.0150	2.14
30	102.51	3.8343	3.74	93.70	1.8308	1.95
45	104.94	5.0983	4.86	93.31	1.9160	2.05

Figura 13 Perfiles de disolución en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5, de dos lotes diferentes de la marca comercial Alin.

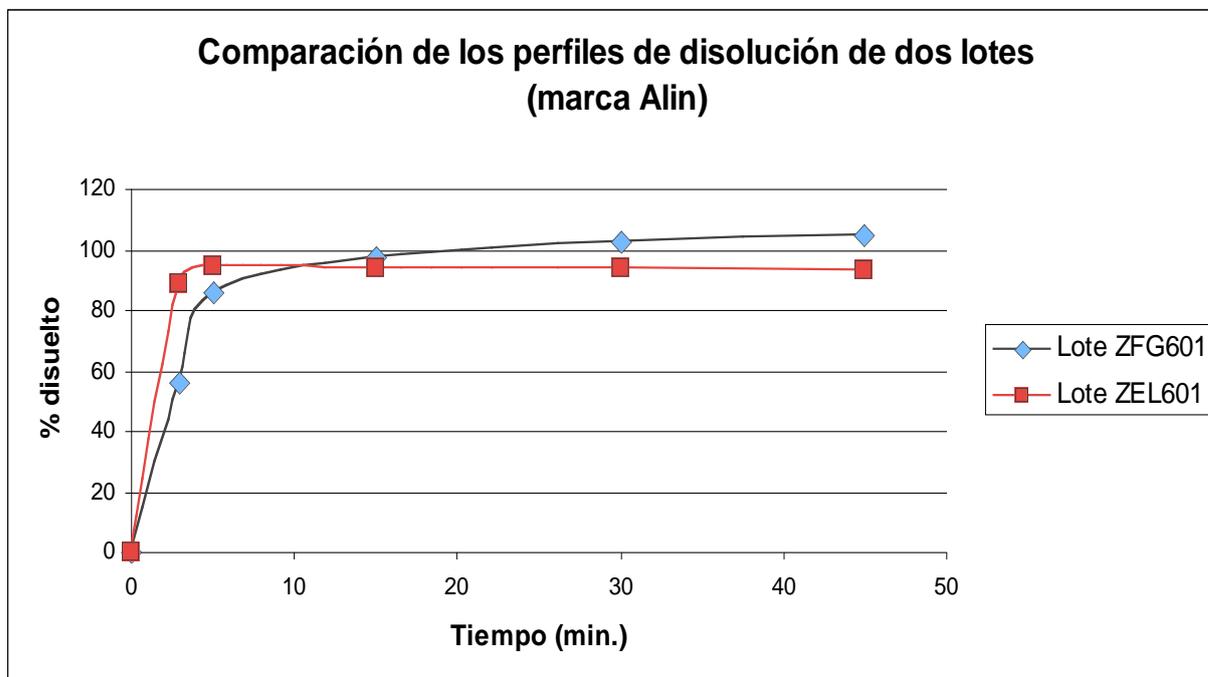


Tabla 23 Porcentaje promedio de 12 tabletas de Dexametasona de 0.5 mg, de dos lotes diferentes. Producto farmacéutico Dexa-Grin

Tiempo (min)	61066			5K064		
	% disuelto (promedio)	Desviación estándar	CV %	% disuelto (promedio)	Desviación estándar	CV %
3	58.71	5.5296	9.42	86.72	4.2048	4.85
5	82.43	3.8863	4.71	97.19	3.0251	3.11
15	93.53	3.3801	3.61	99.42	2.007	2.02
30	97.45	3.6047	3.7	101.94	0.9919	0.97
45	97.82	3.6020	3.68	102.49	0.9196	0.90

Figura 14 Perfiles de disolución en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5, de dos lotes diferentes. Producto farmacéutico Dexa-Grin.

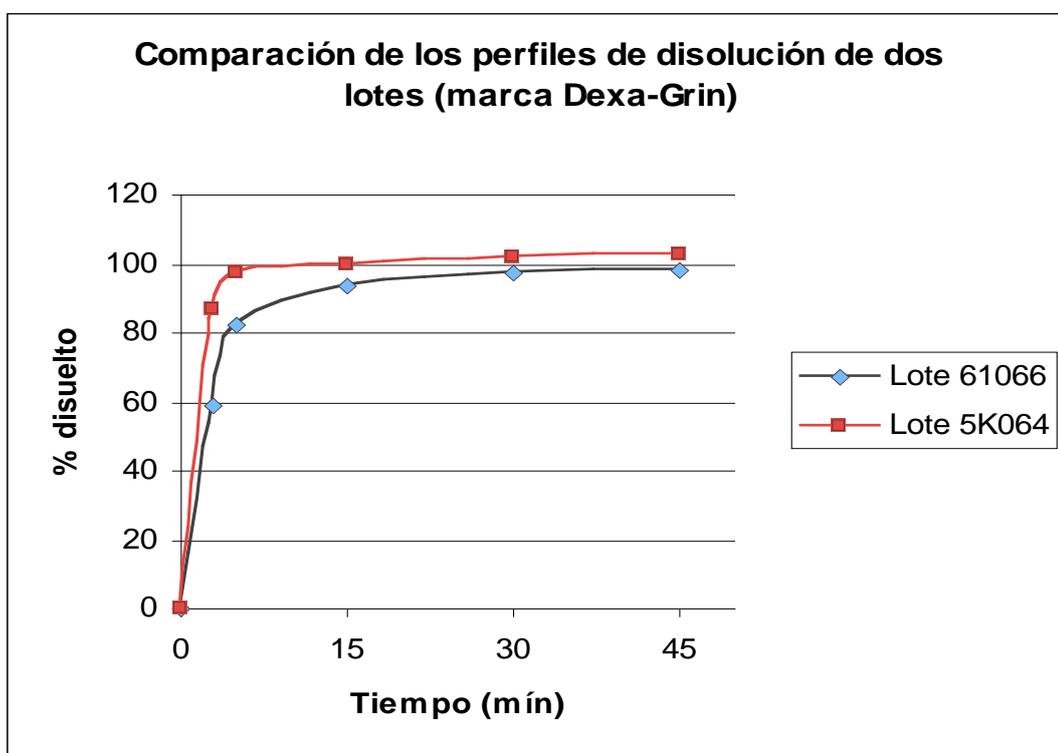
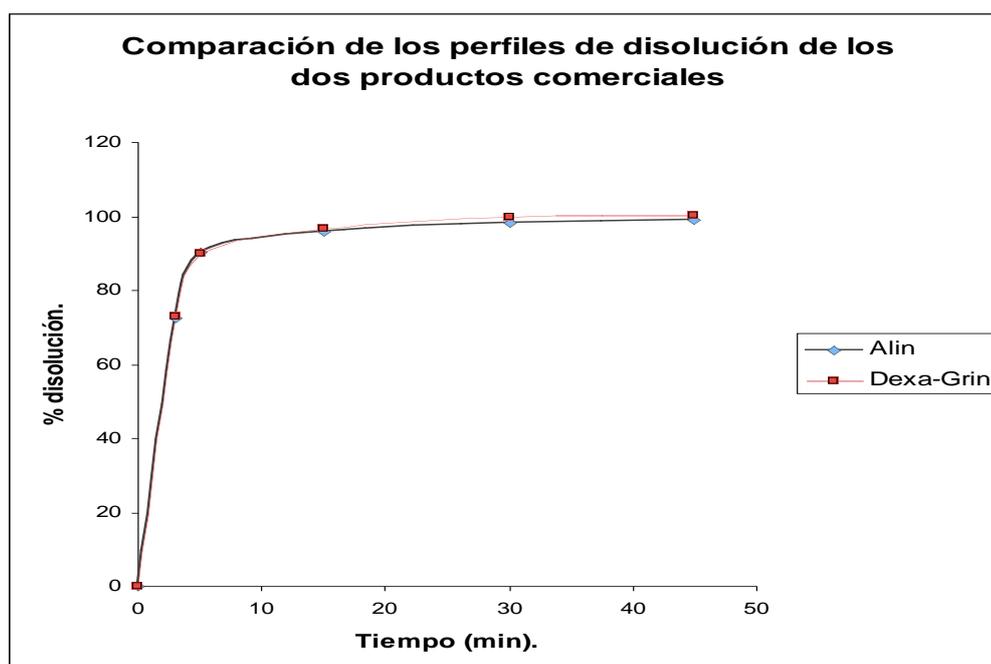


Figura 15 Perfiles de disolución de los dos productos comerciales en SA de acetatos 0.05 M pH 4.5±0.5.



Conclusiones

Se desarrollo un método de cuantificación de la Dexametasona en tabletas con una dosis de 0.5 mg.

El método analítico se válido en cuanto a linealidad, precisión y exactitud, haciéndose evidente la necesidad de mejorarlo.

Los perfiles de disolución de ambos medicamentos son similares.

Las presentaciones farmacéuticas estudiadas a pH 4.5 presentan una disolución de más del 85 % del principio activo en menos de 15 minutos, de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico la Dexametasona es de muy rápida disolución¹³.

Nota: Para poder aplicar esta clasificación es necesario realizar los perfiles de disolución en tres medios de disolución a pH diferente (1.2, 4.5 y 6.8).

Bibliografía.

1. Alfonso Remington Gennaro. Farmacia. 19ª edición. Tomo 1 Editorial Médica Panamericana, 2003.
2. Michael e. Aulton. Farmacia La ciencia del Diseño de las formas farmacéuticas 2ª edición Publicación Elsevier España S. A. 2004 pp.17, 21, 219-253.
3. Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate – Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. August 2000.
4. Guidance for Industry, Dissolution Testing of Immediate,Release Solid Oral Dosage Forms,U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). August 1997
5. Guidance for Industry. Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale – up and Post – Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). November 1995.
6. Guía para la Industria. Estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente consideraciones generales, U.S. Departamento de Salud y servicios Humanos de los Estados Unidos Administración de Alimentos y medicamentos, Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos (CDER). Octubre del año 2000.
7. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM 8ª edición, Secretaria de Salud, México 2005.
8. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen pruebas. Diario oficial de la Federación, 7 Mayo de 1999.
9. Lieberman H.A., Lachman L., Schwartz J.B.; Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; Volume 1; 2nd edition; Marcel Dekker; USA; 1990.

10. Gordon L. Amidon A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research* (1995), 12: 413-420.

BIBLIOGRAFÍA

11. E. Gupta, D. M. Barends, Review of global regulations concerning biowaivers for immediate release solid oral dosage forms, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 29 (2006) 315-324.
12. World Health organization, Organisation Mondiale de la Sante. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for the WHO model list of essential medicines immediate release, solid oral dosage forms, World Health Organization 2005
13. World Health organization, Organisation Mondiale de la Sante. Multisource (Generic) pharmaceutical Products: Guidelines on registration Requirements to Establish Interchangeability. World Health Organization 2005
14. Henning H. Blume, The biopharmaceutics classification system (BCS): Class III drugs – better candidates for BA/BE waiver?. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 9 (1999) 117-121.
15. Marc Lindenberg, Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model List of Essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 58 (2004) 265-278.
16. J. M. Aiache. *Biofarmacia*. 1983. Editorial El Manual Moderno. México D. F.
17. Harris Daniel. *Análisis Químico Cuantitativo*. 1992. Grupo Editorial Iberoamericana.
18. Skoog. *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª edición. 2001. Mc Graw Hill/Interamericana de España.
19. Comisión de validación de métodos analíticos, *Guía de validación de métodos analíticos*, editada por el colegio nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A. C., Edición 2002.
20. PLM, *Diccionario de especialidades farmacéuticas*. Edición 51, 2005. Editores de Thompson PLM.
21. Sean C. Sweetman. *Guía completa de consulta Farmacoterapéutica*, Martindale, Pharma Editores. 19ª edición. 200 pág. 902-909, 933-935.
22. USP 29 2006 *Farmacopea de los Estados Unidos de America*.

- 23.–Facultad de Química, UNAM. Manual de Biofarmacia 2002.
- 24.– Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc Graw-Hill Interamericana 2000. Novena edición Vol. II pp. 1551-1579.

BIBLIOGRAFÍA

25. Klaus Florey. Analytical Profiles of drug substances. 1984. Academia Press Inc.
26. Joseph – Eladi Baños Díez. Principios de farmacología clínica: Bases científicas de la utilización de medicamentos. Editorial M Masson, S. A 2002.
27. Vademécum farmacéutico IPE 10^a edición. Rezza editores, S.A.
28. Hacia una política farmacéutica integral para México, D. R. © Secretaría de Salud, Lieja 7, Col. Juárez 06696 México, D.F. Primera edición 2005. Impreso y hecho en México.
29. Malcom Rowland, Ph. D. clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications. Department of Pharmacy. 1980 by Lea & Febiger.
30. Kasim NA, Whitehouse M., Ramachandran C., Bermejom, Lennernâs H., Hussain AS, Junginger HE, Stavchansky S.A., Midha KK, Shah VP, Amidon GL. Molecular properties of WHO Essential drugs and provisional Biopharmaceutical Classification. Molecular Pharmaceutics, 2004, 1:85-96.
31. Stephen G. Machatha, S Yalkowsky. Comparison of the octanol/water partition coefficients calculated by Clog P®, AC log P and Kow Win® to experimentally determined values. Int. J. Pharmaceutics, 2005, 294:185-192.