UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

EVALUACIÓN DE LA DOSIFICACIÓN Y UNIFORMIDAD DE CONTENIDO EN FORMULACIONES EXTEMPORÁNEAS DE INDOMETACINA PARA USO PEDIÁTRICO, ELABORADAS EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

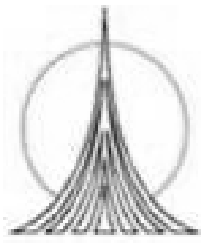
ESCAMILLA BADILLO MARIA MAGDALENA

DIRECTOR:

M. EN C. ELIZABETH G. SÁNCHEZ GONZÁLEZ

ASESOR:

Dr. VICENTE J. HERNANDEZ ABAD



Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

Esta tesis fue financiada en su totalidad a través de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, con recursos del proyecto PAPIME PE-201107 “Fortalecimiento de la enseñanza y el aprendizaje de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución a través de la implementación de materiales educativos significativos”.

DEDICATORIA

- *Le dedico esta tesis a Ma. Isabel Badillo, mi madre que siempre me apoya y me motiva a seguir adelante a pesar de las dificultades, por ser la persona que más admiro por su ejemplo de superación y fuerza. Gracias por todo mamá, te amo.*
- *A mi hermana Perla, que siempre está en el momento preciso para apoyarme y ser mi complemento.*
- *A mis padres: Alejandro Reyes y Marco Badillo, gracias por estar conmigo y tratarme como su hija, al igual que mis tías: Cata, Paty y Esther y a mis hermanos que aunque no sean de sangre son de alma: Marco, David, Lucero, Francisco, Lucia, Ana, Edgar, Eva y Juan. A mis hermosos sobrinos que siempre me inyectan fuerzas para seguir adelante: Paco, Montse y Paola.*
- *A Raúl y Roberto por compartir tantas experiencias de vida conmigo. A Carlos por estar ahí en los momentos buenos y malos.*
- *A chispa.*

LOS QUIERO.

AGRADECIMIENTOS

- *A mis buenos amigos: Erika, Héctor, Marcos, Lalo y Jan.*
- *A los sinodales: QFB. Irma Alejandre Razo, M.en C. Elizabeth G. Sánchez González, Dr. Vicente J. Hernández Abad, QFB. Mireya Gracia Casas y M. en C. José Luis Trejo Miranda por su apoyo en este trabajo.*
- *A los profesores de la carrera los cuales me compartieron su conocimiento y experiencia, así como sus consejos.*

I N D I C E

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1. Validación de métodos analíticos 1
   1.1 Clasificación de métodos analíticos 2
   1.2 Criterios de validación 3
2. **Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)** 5
   2.1 Tipos de CLAR 5
   2.2 Equipo 7
3. **Indometacina** 10
   3.1 Propiedades físicas 10
   3.2 Indicaciones terapéuticas 11
   3.3 Farmacocinética y Farmacodinamia 12
   3.4 Contraindicaciones 14
   3.5 Dosis y vía de administración pediátrica 14
      3.5.1 Conducto arterioso permeable 14
      3.5.2 Enfermedades inflamatorias 15
      3.5.3 Pericarditis 16
   3.6 Formas farmacéuticas comerciales 16
4. **Formulación extempóranea** 18

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 20

III. OBJETIVOS 21

IV. HIPÓTESIS 22

V. DIAGRAMA DE FLUJO 23

VI. TIPO DE ESTUDIO 24

VII. VARIABLES DE ESTUDIO 24

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS 24

1. Reactivos 24

2. Material de vidrio 24

3. Equipo 25

4. Metodología 25

4.1 Adecuación de método analítico 25

4.2 Preparación de formulación extemporánea 27

4.2.1 Ingredientes 27
4.2.2 Modo de preparación 27
4.2.3 Control de calidad 28
4.2.3.1 Apariencia 28
4.2.3.2 Color 29
4.2.3.3 pH 29
4.2.3.4 Densidad 30
4.2.3.5 Resuspendibilidad 30
4.2.3.6 Volumen de sedimentación 31
4.2.3.7 Valoración 31
4.2.3.8 Uniformidad de contenido 31
4.2.3.9 Tamaño de partícula 31
4.3 Validación del sistema 32
4.4 Validación del método 33
4.4.1 Selectividad 33
4.4.2 Linealidad 33
4.4.3 Precisión 35
4.4.3.1 Repetibilidad 35
4.4.3.2 Precisión intermedia 36
4.4.4 Exactitud 37
4.4.5 Estabilidad 38
IX. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS 39
X. CONCLUSIONES 58
XI. BIBLIOGRAFIA 59

RESUMEN

En este trabajo se describe la validación de un método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución para la cuantificación de Indometacina en formulaciones extemporáneas. Así como el control de calidad de estas formulaciones. Con los resultados obtenidos se da por sentado que el método es selectivo, preciso, exacto y reproducible.

INTRODUCCIÓN

En el Instituto Nacional de Pediatría (INP) los infantes que no presentan cierre de ductus son tratados con Indometacina, ya que es el medicamento más adecuado para este padecimiento además de artritis reumatoide juvenil y algunos padecimientos de inflamación y dolor.

El Ductus Arterioso Permeable es un transtorno en el cual el vaso sanguíneo que conecta la aorta a la arteria pulmonar ya fuera del corazón permanece abierto en el recién nacido. El feto dentro de la madre necesita tener el ductus abierto para sobrevivir pues a través de el pasa la sangre hacia la placenta para su oxigenación. Al nacer y funcionar los pulmones del niño ya no hace falta y se suele cerrar espontáneamente en los primeros días de vida. Pero algunos ductus no se cierran y siguen permitiendo el paso de sangre oxigenada de la aorta (tiene más presión) a la arteria pulmonar (tiene menos presión) y a los pulmones inútilmente pues ya está oxigenada, mezclándose con la sangre no oxigenada que proviene del ventrículo derecho. Este flujo de sangre extra sobrecarga al pulmón y al corazón aumentando el trabajo de este último y su deterioro. Este transtorno causa insuficiencia cardíaca y con el tiempo hipertensión pulmonar. El cierre del ductus se puede lograr con Indometacina en los recién nacidos, y en casos mas severos a través de una sencilla intervención quirúrgica.

Debido a la gran variabilidad de edad que existe entre los infantes con este padecimiento se tienen que establecer las características fisio-patológicas específicas para cada infante, para la posterior administración de Indometacina. En el INP se preparan formulaciones pediátricas de Indometacina extemporáneas de dos tipos: suspensión y jarabe, las cuales no llevan un control de calidad adecuado que asegure que la dosis administrada es correcta.

En México al igual que en muchos países del mundo, las formulaciones extemporáneas siguen vigentes, esto debido a la gran demanda que existe para pacientes pediátricos, que al no ser cubierta por los grandes laboratorios farmacéuticos, es necesarios adecuar los medicamentos existentes para su uso pediátrico. Esto se realiza normalmente en hospitales (como el INP) sin la certificación de los procedimientos de manufactura, por lo cual no se asegura la calidad de la formulación.

La Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), permite separar y cuantificar un compuesto de interés, en este caso la Indometacina y por lo tanto saber la concentración real de la formulación extemporánea que se va a administrar. Cabe señalar que cualquier método analítico que es utilizado para la cuantificación de compuestos debe ser validado para asegurar que este es exacto, preciso y reproducible. Por lo tanto con este estudio se busca asegurar la calidad y uniformidad de las formulaciones extemporáneas pediátricas de Indometacina, preparadas, para su administración en pacientes pediátricos.

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1. Validación de métodos analíticos[1- 4]

El término método analítico se refiere a la forma de ejecutar un análisis, este debe describir en detalle los pasos necesarios para desarrollar cada prueba analítica. La validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo de una nueva formulación y de la técnica de análisis de control de calidad de una forma farmacéutica, ya que es durante esta secuencia de pruebas y análisis, en donde el químico se da cuenta si el estudio, el cual está siendo evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para los cuales fue diseñado.

Se entiende por validación a la evidencia documentada establecida que provee un alto grado de aseguramiento que de un proceso específico se obtendrá consistentemente un producto con las especificaciones y atributos de calidad predeterminados.

La validación del método analítico incluye todos los procedimientos requeridos para demostrar que un método en particular, cumple con la finalidad para la que fue desarrollado, por lo tanto, todo nuevo método analítico debe validarse para demostrar su aplicación.

La validación puede ser justificada por los siguientes aspectos regulatorios:

- **Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006.** Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, establece en los puntos 5.8, 5.9.4, 9.8.3 y 14 (completo) que se lleve a cabo estudios de validación en procesos de fabricación, limpieza y sistemas involucrados, así como a los métodos de análisis para producto terminado, material de empaque, producto a granel y materia prima.
- **Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005**, Estabilidad de medicamentos en sus numerales 5.3, 6.3, 7.3 y 8.3. En los cuales se establece que al cambiar el método analítico se debe de demostrar mediante la validación que los métodos son equivalentes.

Las regulaciones anteriores, determinan la obligación de validar métodos analíticos.

1.1 Clasificación de métodos analíticos[5]

1.1.1 En función de su estado regulatorio

a) Métodos farmacopeicos. Todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM, USP, BP, etc.).

b) Métodos no farmacopeicos. Aquellos métodos no compendiados en una farmacopea.

1.1.2 En función de su aplicación

a) Métodos para producto a granel.

b) Métodos para producto terminado.

c) Métodos para materia prima.

d) Métodos indicativos de estabilidad.

1.1.3 En función de su propósito analítico

a) Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia).

b) Métodos para establecer la presencia del analito a un límite.

c) Métodos para identificar el analito

1.1.4 En función de la naturaleza del sistema de medición

a) Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido (cromatógrafo de líquidos, cromatógrafo de gases, espectrofotómetro, etc.)

b) Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros, etc.)

1.1.5 En función de la naturaleza de la respuesta analítica

a) Métodos físico-químicos. Cuando la respuesta es de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje, etc.) o químico (consumo de iones-OH, etc.).

b) Métodos biológicos. Cuando la respuesta es de carácter biológico.

1.2 Criterios de validación[6]

1.2.1 Especificidad. Es la capacidad de un método analítico para cuantificar exactamente y específicamente al compuesto de interés en presencia de otras sustancias que pudieran estar presentes.

1.2.2 Linealidad. Es la capacidad del método analítico para obtener resultados de prueba traducidos en una respuesta medible, los cuales sean directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra.

1.2.3 Exactitud. La exactitud de un método analítico es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor real. Se evalúa usando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el rango específico (tres concentraciones con tres réplicas).

1.2.4 Precisión. La precisión de un método analítico, expresa la cercanía o concordancia entre una serie de mediciones individuales, cuando es aplicado a diferentes proporciones de la muestra homogénea, bajo la condición del método.

1.2.4.1 Repetibilidad. Expresa la precisión del método operando bajo las mismas condiciones en un intervalo de tiempo corto. También se le conoce como precisión intraensayo.

1.2.4.2 Precisión intermedia. Expresa la precisión del método dentro del mismo laboratorio, producto de variaciones normales dentro de éste tal como diferentes días, analistas y equipos.

1.2.4.3 Reproducibilidad. Expresa la precisión del método en función de variaciones producto de la ejecución del mismo en diferentes laboratorios (estudios colaborativos).

1.2.5 Estabilidad. Es una medida de la robustez del método que esta expresada en función de la muestra analítica procesada, permite determinar el tiempo en el cual las características a medir de esta permanecen inalteradas.

2. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)[6-8]

La CLAR es una técnica de separación que se fundamenta en la interacción de un soluto con una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. La separación se lleva a cabo por reparto, adsorción o procesos de intercambio iónico, dependiendo del tipo de fase estacionaria usada. Los compuestos a ser analizados son disueltos en un solvente, y la mayor parte de las separaciones se llevan a cabo a temperatura ambiente. Dado que la mayoría de los fármacos son compuestos no volátiles o térmicamente estables, pueden ser separados sin descomposición o sin la necesidad de sintetizar derivados volátiles.

El éxito de la aplicación de la CLAR para un compuesto dado depende de la combinación correcta de las condiciones de operación, es decir: la preparación de la muestra, el tipo de la columna, la fase móvil, el tipo de detección, el algoritmo de integración, etc. La migración diferencial en la CLAR es resultado del equilibrio de distribución de los componentes de una mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil en el orden en que emergieron, hacia un detector donde se registra una respuesta proporcional a su cantidad, sus concentraciones y su tiempo de retención en la columna. El cromatograma resultante muestra cada compuesto que sale de la columna en forma de picos simétricos con un tiempo de retención característico por lo que este tiempo puede emplearse para identificar el compuesto.

En la actualidad las aplicaciones de la cromatografía de líquidos de alta resolución son tan amplias que sería difícil no encontrar una rama de la química y de las ciencias de la vida en general en la que no se incluya esta técnica, ya sea con fines preparativos, de identificación o de cuantificación. Debido a las cualidades de esta técnica, se puede emplear en la investigación para la identificación, purificación y cuantificación de sustancias nuevas, análisis de compuestos puros, formas farmacéuticas, análisis de alimentos, industria metalúrgica, análisis de productos biotecnológicos, secuenciación de proteínas y una cantidad innumerables de aplicaciones de carácter cualitativo y cuantitativo en las ciencias forenses.

2.1 Tipos de CLAR[9, 10]

2.1.1 Cromatografía de intercambio iónico. La separación está basada en la carga de los grupos funcionales, intercambio aniónico para una muestra con carga negativa o intercambio catiónico para una muestra con iones positivos. El gradiente de elusión por pH es común.

2.1.2 Cromatografía de afinidad. La separación está basada en la interacción química específica de las especies destino. La modalidad más popular usa un amortiguador y una cantidad adicionada de carga positiva a la muestra con separación influenciada por pH, fuerza iónica, temperatura, concentración y tipo de disolvente. La cromatografía de afinidad, común para macromoléculas, emplea un ligando (molécula biológicamente activa unida covalentemente a la matriz sólida), la cual interactúa con su antígeno (analito) homólogo como un complejo reversible que puede ser eluído por cambios en las condiciones del amortiguador.

2.1.3 Cromatografía de fase normal. Es una técnica cromatográfica que usa solventes orgánicos para la fase móvil y una fase estacionaria polar. Aquí, los componentes menos polares eluyen más rápido que los componentes más polares.

2.1.4 Cromatografía de fase reversa. En la cromatografía de fase reversa, una técnica cromatografía de fase ligada, utiliza agua como el solvente base. La separación está basada en la fuerza y selectividad del solvente, también puede ser afectada por la temperatura de la columna y el pH. En general, el componente más polar eluye más rápido que los componentes menos polares.

2.1.5 Cromatografía de exclusión molecular. También conocida como filtración molecular, la separación está basada en el tamaño de las moléculas o el volumen hidrodinámico de los componentes. Las moléculas que son más grandes que los poros del material de empaque

de la columna, eluyen primero, las moléculas pequeñas que entran en los poros eluyen al final y la velocidad de elución de el resto depende de sus tamaños relativos.

2.2 Equipo[7]

El cromatógrafo de líquidos consiste principalmente en un recipiente que contiene la fase móvil, una bomba que empuja la fase móvil a través del sistema a alta presión, un inyector que introduce la muestra en la fase móvil, una columna cromatográfica, un detector y un dispositivo de salida para la recolección de datos, como una computadora o integrador.

2.2.1 Sistema de bombeo. El sistema de bombeo impulsa la fase móvil de manera exacta y precisa a través de la columna en la que se separan los componentes de la muestra que han sido introducidos en ella mediante el sistema de inyección. Estas deben estar construidas con un material inerte a la fase móvil, poder trabajar a presiones elevadas y suministrar flujos adecuados al diámetro de la columna empleada y libre de pulsaciones para no disminuir la sensibilidad de la detección (Tabla I).

Tabla I. Características de uso de la bomba.

Liberación de flujo constante (0.1-45 mL/min)
Presión máxima alta
Liberación de flujo poco variable
Mínimas fluctuaciones de presión
Bajo nivel de ruido
Simplicidad de operación
Químicamente inerte a los solventes usados comúnmente

2.2.2 Inyectores. Es el dispositivo que permite introducir la muestra en solución sin interrumpir el flujo de solvente a través del sistema. Existen dos diseños de inyectores: los de desplazamiento y los de aguja. Ambos pueden ser incorporados a un sistema de inyección manual o automático. Los inyectores de desplazamiento forzan la muestra hasta un loop pero presentan baja reproducibilidad cuando están parcialmente llenos. En consecuencia, es necesario cambiar físicamente el loop para cambiar los volúmenes de inyección. Los inyectores de tipo aguja conducen la muestra a través del loop. Este mecanismo puede operar con precisión con un "loop" parcialmente lleno y es, por lo tanto, más versátil.

2.2.3 Columnas. Para la mayoría de los análisis farmacéuticos, la separación de los compuestos se lleva a cabo por partición. Los sistemas contienen una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar, el arreglo opuesto es conocido como cromatografía de fase reversa. La cromatografía de partición es usada casi siempre para los hidrocarburos solubles con peso molecular menor a 1000. La afinidad de un compuesto por la fase estacionaria y el tiempo de retención de la columna, está controlada por la polaridad de la fase móvil. La polaridad de la fase móvil puede ser modificada por la adición de un segundo y algunas veces, tercer o cuarto componente.

Las columnas usadas para separaciones analíticas usualmente tienen diámetros internos de 2 a 5 mm; las columnas de diámetro mayor son usadas para cromatografía preparativa. Las columnas pueden ser calentadas para dar separaciones más eficientes, pero raramente son usadas a temperaturas mayores a 60°C, debido a la degradación potencial de la fase estacionaria o la volatilización de la fase móvil.

El acero inoxidable ha llegado a ser el material estándar de las columnas y otros componentes del cromatógrafo, debido que es inerte, su relativo bajo costo y su capacidad de soportar altas presiones. No obstante, bajo ciertas circunstancias, el acero inoxidable presenta interacciones con la muestra y con la fase móvil.

2.2.4 Detector. El sistema de detección empleado para CLAR está basado en un diseño instrumental que responde a una propiedad física o química particular del componente de la muestra a eluir. La mayoría de los análisis por CLAR se han diseñado para usar detectores espectrofotométricos. Tales detectores consisten de una celda, montada al final de la columna. Un haz de radiación ultravioleta pasa a través de la celda perpendicular a la dirección de flujo y dentro del detector. Después de que el compuesto eluye a través de la columna, pasa hacia la celda y absorbe la radiación, resultando en cambios de niveles de energía medibles.

3. Indometacina[11- 13]

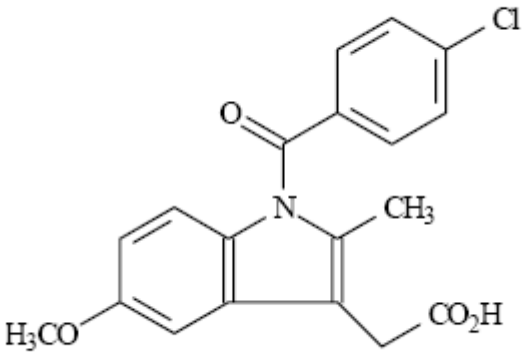


Figura 1. Estructura de Indometacina

1-4(-clorobenzoil), 5-metoxi-2-metil- 1H-indol-3-ácido acético.
Formula condensada: $C_{19}H_{16}ClNO_4$
P.M. 357.79

3.1 Propiedades físicas

Es un polvo blanco amarillento, cristales polimorfos, punto de fusión para una forma 156° a 160°C, para otra forma aprox. 162 °C. UV máx. (Etanol) 230, 260, y 319 nm. pKa 4.5. Es insoluble en agua y en hidrocarburos. Muy ligeramente soluble en cloroformo y acetona. Soluble en etanol, dicloruro de etileno, acetonitrilo y éter. Estable en medios neutros o ligeramente ácidos, inestable en medios básicos fuertes. Con los alcoholes forma solvatos cristalinos estables. Sales de sodio trihidratadas, polvo cristalino amarillo, pH en solución al 1% es 8.4. Muy soluble en metanol. Soluble en agua y etanol. Tanto la forma sólida como sus soluciones se deben proteger de la luz solar. La sal sódica en estado seco es bastante estable.

Sus productos de degradación son el resultado de una hidrólisis alcalina, la reacción se realiza disolviendo Indometacina en una solución de NaOH 0.1M dando: el ácido p-clorobenzoico y ácido 5-metoxi-2-metil indol-3-acético, que se diferencian por su longitud de onda de absorción 460 y 297 nm, respectivamente. Es estable en sus presentaciones comerciales: cápsulas de liberación extendida a 15-30°C, en supositorios a temperaturas menores a 30°C, no

mayores a 40°C y en soluciones parenterales el polvo debe mantenerse a una temperatura menor a los 30ºC , protegido de la luz.

3.2 Indicaciones terapéuticas[14-17]

La Indometacina, es un medicamento antiinflamatorio no esteroide eficaz, presenta propiedades analgésicas y antipiréticas. Se ha comprobado que la Indometacina es un agente adecuado para su empleo prolongado en la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, la osteoartritis y el cierre de ductus. La Indometacina alivia los síntomas, pero no se ha mostrado que altere la progresión de la enfermedad subyacente. Ha resultado eficaz para aliviar el dolor y disminuir la fiebre, la tumefacción, el enrojecimiento y la hiperestesia de la artritis gotosa aguda.

Para pacientes pediátricos se administra para:

a) Conducto arterioso permeable, se administra en pacientes recién nacidos prematuros con un peso mínimo de 500- 1750g.
b) Artritis reumatoide juvenil se administra en niños mayores de dos años.
c) Pericarditis, reducción del dolor y fiebre.

Está indicado en las etapas activas de:

d) Artritis reumatoide.
e) Osteoartritis.
f) Artropatía degenerativa de la cadera.
g) Artritis gotosa aguda.

3.3 Farmacocinética y Farmacodinamia[15- 17]

Tras la administración de dosis orales únicas de 25mg o 50mg de Indometacina se absorbe fácilmente y alcanza concentraciones plasmáticas máximas de aproximadamente 1 y 2µg/ml, respectivamente, unas dos horas después de la administración, tiene una biodisponibilidad de

prácticamente 100%, y a las cuatro horas se ha absorbido 90% de la dosis administrada. Las cápsulas de liberación prolongada con 75mg de Indometacina están formuladas para liberar 25mg del medicamento inicialmente y los 50mg restantes en el transcurso de unas doce horas, al cabo de las cuales se ha absorbido 90% de la dosis. En un periodo de 24 horas, la cantidad acumulada y la curva respecto al tiempo de la Indometacina absorbida de una sola cápsula de liberación prolongada.

Las concentraciones plasmáticas de Indometacina fluctúan menos y son más sostenidas administrando una cápsula de liberación prolongada de 75mg que tres cápsulas de 25mg, con intervalos de cuatro a seis horas. Los estudios clínicos controlados en pacientes con osteoartritis mostraron que los efectos de una cápsula de liberación prolongada eran clínicamente semejantes a los de una cápsula de 25mg tres veces al día; y en estudios clínicos controlados en pacientes con artritis reumatoide, los efectos de una cápsula de liberación prolongada por la mañana y otra por la tarde fueron clínicamente indistinguibles de los de una cápsula de 50mg tres veces al día.

La Indometacina es eliminada por excreción renal, transformación metabólica y excreción biliar, y experimenta una considerable circulación entero hepática. Se ha calculado que su semivida media es de alrededor de 4.5 horas. Con un régimen terapéutico típico de 25 ó 50mg tres veces al día, las concentraciones plasmáticas de Indometacina en estado de equilibrio son en promedio 1.4 veces mayores que las producidas por la primera dosis.

La Indometacina se absorbe más rápidamente por la vía rectal que por la vía oral. La porción de Indometacina que se absorbe finalmente es la misma administrándola por vía intramuscular o por vía oral, pero la absorción es significativamente más rápida tras la administración intramuscular, con la cual se obtienen concentraciones plasmáticas máximas una hora antes que por vía oral. Alrededor de 60% de una dosis oral se recupera de la orina en su forma original y como metabolitos (26% como Indometacina y su glucurónido), y 33% se

recupera de las heces (1.5% como Indometacina). Dentro de los límites de variación de las concentraciones plasmáticas terapéuticas, alrededor de 99% de la Indometacina se une a las proteínas plasmáticas. Se han encontrado que la Indometacina atraviesa la barrera hematoencefálica y la placenta.

La biodisponibilidad por vía oral de Indometacina en infantes es de aproximadamente 20%, y el tiempo en que alcanza los niveles plasmáticos en sangre es mayor en comparación con los adultos. Los principales factores que controlan la absorción gastrointestinal son dependientes del pH, la difusión y la motilidad gástrica, que son anormales en infantes menores de tres años; los valores para adultos de la acidez gástrica son generalmente alcanzados sólo después de los tres años.

El tiempo de vida media plasmática reportado es de 9 a 43h, mientras que se informa que en adultos es de 3-11h. Estas diferencias en respuesta a la Indometacina se han atribuido a la inestabilidad del fármaco, la mala absorción oral, y la edad del paciente en el momento del tratamiento además de otros factores que tienen influencia en la disposición de la Indometacina. Algunos trabajos sugieren la pobre absorción oral como un importante factor que contribuye a la variación de la eficacia del tratamiento.

Debido a la gran variabilidad interindividual de la Indometacina en infantes, es que establecerá en qué medida las características del paciente influyen en la farmacocinética de esta en el organismo. La vida media de eliminación muestra una baja correlación en edades menores a los tres años. Por lo tanto, cuando la Indometacina sea administra en niños menores de tres años, se puede anticipar ya que la vida media de eliminación y el aclaramiento metabólico será más lento y que puede causar toxicidad acumulativa entre más dosis sean administradas. En los infantes mayores el metabolismo y la eliminación de la Indometacina es más rápido, por lo cual se podrá exigir la modificación de la dosis para lograr respuesta terapéutica.

3.4 Contraindicaciones[15, 16]

No se debe administrar Indometacina a: Pacientes hipersensibles a la Indometacina. Pacientes que hayan presentado ataques asmáticos agudos, urticaria o rinitis precipitadas por ácido acetilsalicílico u otros medicamentos antiinflamatorios no esteroides. Como otros agentes antiinflamatorios, la Indometacina puede ocultar los síntomas y signos de la úlcera péptica. Dado que la propia Indometacina puede causar úlcera péptica o irritación gastrointestinal, no debe ser administrada a pacientes con úlcera péptica activa o con antecedentes de ulceración gastrointestinal recurrente.

3.5 Dosis y vía de administración pediátrica

3.5.1 Conducto arterioso permeable (PDA)[18]

El ductus arterioso se trata de un vaso que conecta la aorta a la arteria pulmonar ya fuera del corazón. El feto dentro de la madre necesita tener el ductus abierto para sobrevivir pues a su través pasa la sangre hacia la placenta para su oxigenación. Al nacer y funcionar los pulmones del niño ya no hace falta y se suele cerrar espontáneamente en los primeros días de vida.

Pero algunos ductus no se cierran y siguen permitiendo el paso de sangre oxigenada de la aorta (tiene más presión) a la arteria pulmonar (tiene menos presión) y a los pulmones inútilmente pues ya está oxigenada, mezclándose con la sangre no oxigenada que proviene del ventrículo derecho. Este flujo de sangre extra sobrecarga al pulmón y al corazón aumentando el trabajo de este último y su deterioro. En clínica causa insuficiencia cardíaca y con el tiempo hipertensión pulmonar. El cierre del ductus se puede lograr la administración de Indometacina en los recién nacidos, y en casos más severos una sencilla intervención quirúrgica.

La incidencia es elevada especialmente entre los prematuros. En un amplio estudio la incidencia de cierre de ductus que precisó tratamiento fue del 28% entre los recién nacidos de peso inferior a 1500gr. Entre los recién nacidos con peso inferior a 1000gr la incidencia de ductus es del 60%.

Cada tratamiento consta de hasta tres dosis administradas en intervalos de 12 y 24 horas al día, como se puede observar en la tabla II:

Tabla II. Dosis para recién nacidos prematuros con PDA.

Edad	Primera dosis	Segunda dosis	Tercera dosis
<48 horas	0.2 mg/kg	0.1 mg/kg	0.1 mg/kg
2–7 días	0.2 mg/kg	0.2 mg/kg	0.2 mg/kg
>7 días	0.2 mg/kg	0.25 mg/kg	0.25 mg/kg

En caso de que se presente oliguria o anuria en el momento de una segunda o tercera dosis, retener la dosis hasta que una determinación de laboratorio indique que la función renal ha regresado a su funcionamiento normal. Si se cierra el conducto arterioso o es sustancialmente limitado 48 horas o más después de la finalización de la primera dosis, suspender la dosis. Si reabre el conducto puede ser administrada de una a tres dosis, una ligadura quirúrgica puede ser necesaria si es que no responde el paciente al tratamiento.

3.5.2 Enfermedades inflamatorias [17]

Para la artritis reumatoide juvenil, la administración oral en niños menores de dos años: Inicialmente tiene una dosis de 1-2 mg / kg al día dividida en dosis, la dosis aumenta hasta que se logre una respuesta satisfactoria, esta dosis puede incrementar hasta un máximo de 3 mg / kg al día o 150-200 mg al día (que sea menor) en dosis divididas. Al disminuir los síntomas, reducir la dosis eficaz hasta el nivel más bajo o suspender el tratamiento.

En niños mayores de dos años, se puede iniciar la administración de Indometacina a una dosificación de 2mg/kg/día distribuidos en dos o tres dosis al día, y aumentarla después según sea necesario, a intervalos de una semana, hasta un máximo de 4mg/kg/día. La dosificación diaria máxima no debe ser mayor de 200mg o de 4mg/kg (la que resulte menor).

3.5.3 Pericarditis [17]

La administración de Indometacina vía oral se realiza de 50-100 mg diarios divididos en dos a cuatro dosis.

3.6 Formas farmacéuticas comerciales [17]

Las formas farmacéuticas comerciales de Indometacina en el mercado mexicano, son las siguientes:

Tabla III. Formas farmacéuticas comerciales de Indometacina en México

Nombre del medicamento	Forma farmaceutica	Laboratorio
SOLOS		
Antalgin	Cápsulas de liberación prolongada	Medix
Indaflex	Crema	Andrómaco
Malival	Cápsulas	Silanes
Malival AP	Cápsulas	Silanes
COMBINADOS		
Artridol	Cápsulas	Rimsa
Artridol gel	Gel	Rimsa
Indarzona	Cápsulas	Streger
Indarzona	Tabletas	Streger
Malival compuesto	Cápsulas	Silanes
Morlan	Comprimidos	Andrómaco

Como se observa en la tabla anterior, en México se carece de una presentación pediátrica de Indometacina, por lo cual en la mayoría de los hospitales tienen que administrar la

Indometacina como preparado extemporáneo, sin la certeza de que la dosis sea exacta para un paciente infante.

Cabe señalar que la formulación extemporánea de Indometacina que se realiza en varias instituciones de salud es sencilla debido a la alta demanda de pacientes en el lugar y a la facilidad de su preparación, además de que como ya se había mencionado no existe una forma farmacéutica comercial en el país por lo cual se tienen que adaptar las presentaciones comerciales permitiendo así una dosis específica para cada paciente.

4. Formulación extempóranea[19- 21]

La mayoría de los medicamentos comerciales son formulados para adultos y son presentadas como dosis únicas sólidas (capsulas, tabletas) o de forma líquida (jarabe, suspensión), la mayoría de estas no pueden ser ingeridas por infantes. El mercado de medicamentos infantiles es relativamente pequeño ya que muchas empresas farmacéuticas no desarrollan formulaciones pediátricas. Como resultado de esto, un gran número de medicamentos tienen que ser preparados extemporalmente.

La formulación extemporánea se define como un medicamento destinado a un paciente, que es preparado por un farmacéutico cumpliendo con las buenas prácticas de fabricación. El hecho de que muchos medicamentos no estén disponibles en la forma farmacéutica adecuada hace que las farmacias hospitalarias tengan que adaptar las formas existentes para facilitar la administración, preparando soluciones extemporáneas.

Las razones para el uso de productos extemporánea son muchas y variadas. Algunas de ellas pueden ser:

a) El producto no está disponible comercialmente;
b) Paciente y / o hospital lo prefieren;
c) Las concentraciones de individualización del producto, según necesidades;
d) Paciente y / o hospital considera que los productos extemporáneos pueden ser mejores;
e) Hipersensibilidad a productos comerciales, por ejemplo conservadores.
f) Los pacientes pediátricos,
g) Los pacientes que son incapaces de tragar las formas de dosificación sólidas, como comprimidos o cápsulas,
h) Los pacientes que deben recibir los medicamentos por vía nasogástrica; y

i) Los pacientes que no requieren dosis estándar que son más fáciles de medir con precisión y utilizando una formulación extemporánea.

Existen problemas identificados en estas formulaciones como: disfrazar el sabor desagradable, el logro de la uniformidad de dosis y una falta de información de la estabilidad química y física. Esta falta de información acerca de la estabilidad es muy común así como los formularios de preparados extemporáneas, o en un intento de proporcionar alguna orientación sobre la preparación de formulaciones extemporáneas al menos en México, es muy escasa.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según Tejera R.C. *et. al.* (2008), la incidencia del ductus arterioso permeable es elevada especialmente entre los prematuros. En un amplio estudio la incidencia de Conducto arterioso permeable que precisó tratamiento fue del 28% entre los recién nacidos de peso inferior a 1500g. Entre los recién nacidos con peso inferior a 1000g la incidencia es del 60%. Aunque puede aliviarse con el crecimiento del infante no siempre pasa, por lo que se tiene que administrar Indometacina preparada extemporáneamente dependiendo de las características del paciente.

A través del tiempo se ha demostrado la importancia de las formulaciones extemporáneas, las cuales son indispensables en los hospitales puesto que allí se cuidan pacientes, que por sus características fisio-patológicas, requieren de la manipulación y adaptación de los medicamentos adquiridos comercialmente permitiendo así la individualización de la dosis específica para el paciente, según Bautista S. et. al. (2003).

Muchos medicamentos sometidos a formulación extemporánea suelen presentar inestabilidad en la forma farmacéutica requerida o falta de uniformidad de dosis y en general, se carece de esta información en los hospitales para manejar el producto de manera adecuada. En diferentes instituciones de salud (INP, Centro La Raza, Centro Médico, etc.) estas formulaciones no aseguran la calidad y uniformidad de la formulación.

Por lo tanto, dadas las especificaciones con las que debe de contar una formulación extemporánea, es necesario proponer un método analítico para su evaluación y así asegurar la calidad y uniformidad de dosis, para obtener una administración confiable.

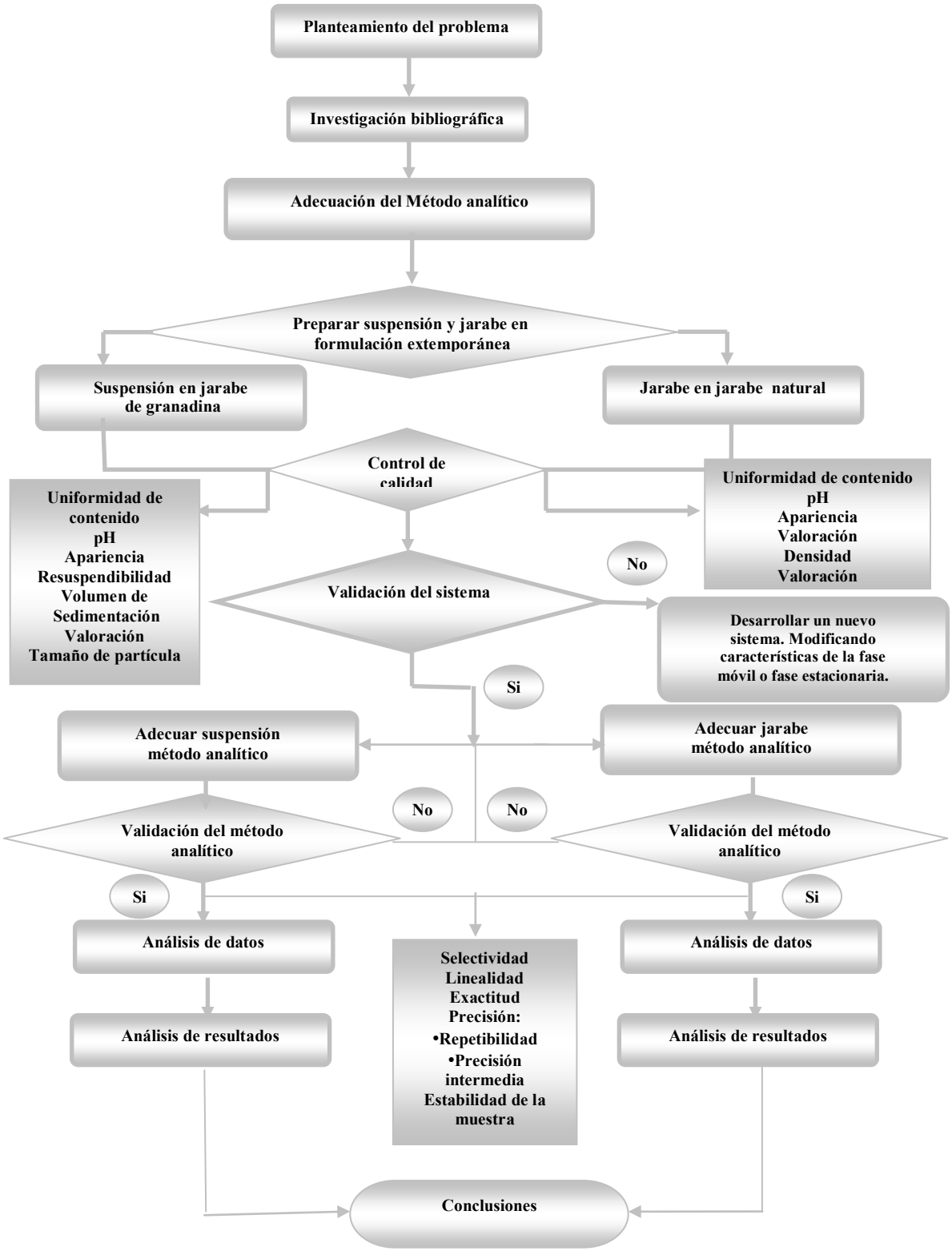
III. OBJETIVOS

- Evaluar las diferentes formulaciones extemporáneas pediátricas (suspensión y jarabe) de Indometacina, preparadas en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica, mediante el control de calidad para asegurar una adecuada uniformidad y dosificación.

IV. HIPÓTESIS

La preparación de las formulaciones extemporáneas pediátricas de Indometacina en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica (suspensión y jarabe), asegurará una uniformidad y dosificación adecuada para el paciente.

V. DIAGRAMA DE FLUJO



VI. TIPO DE ESTUDIO

El diseño de esta investigación es de tipo experimental, prospectivo, transversal y descriptivo.

VII. VARIABLES DE ESTUDIO

Tabla IV. Variables de estudio.

INDEPENDIENTES		DEPENDIENTES	
Variable	Escala	Variable	Escala
Concentración de Formulación Extemporánea	mcg/mL	Respuesta	mUA
Concentración de solución Stock	mcg/mL	Respuesta	mUA

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Reactivos

- Agua desionizada (grado HPLC)
- Metanol (grado HPLC)
- Ácido acético glacial
- Indometacina
- Jarabe simple

2. Material de vidrio

- Vasos de precipitados de 100, 500 mL
- Matraces aforados de 10, 50, 100, 500 mL
- Matraz Erlenmeyer de 500 ml
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5 mL
- Probeta de 5,10, 100, 200 mL

- Micro pipetas 1000 µL
- Puntas para micropipeta

3. Equipo

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Varian Prostar Modelo 460
  - Multisolvent Delivery System Controller
  - Tunable Absórbanse Detector
  - Integrador Data
  - Bomba Binaria
  - Columna Thermo electro Corporation Hypersil gold 150x 4.6 mm, tamaño de partícula 5µ
- Microbalanza
- Placa de agitación
- Sonicador
- Refrigerador
- Potenciómetro
- Espectrofotómetro UV

4. Metodología

4.1 Adecuación de método analítico

El método que se ocupó fue una adecuación de un método previamente desarrollado para antiinflamatorios no esteroideos, con las siguientes condiciones: columna Symmetry C18 de 3.5 mm (d.i.) x 150 mm, con un tamaño de partícula de 5 µm, fase móvil 75:25 metanol:amortiguador de acetatos (pH 3), velocidad de flujo de 1 mL/minuto.

Se pesarón 10mg de Indometacina se traspasó a un matraz volumétrico de 100mL y se aforó con metanol grado HPLC, se tomó una muestra que se leyó en el espectrofotómetro UV para determinar la longitud de onda a la cual se obtuvó el máximo de absorbancia.

Se preparó una fase móvil con metanol – buffer de acetatos en diferentes proporciones como indica en la siguiente tabla:

Tabla V. Proporción de disolventes para fase móvil

Fase móvil.	Proporción de disolventes.		
Metanol – Buffer*	70:30	75:25	80:20

Con las diferentes proporciones de la fase móvil y con la solución de Indometacina antes mencionada se hicieron pruebas en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución, con una velocidad de flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de muestra de 10 µL a la longitud de onda determinada al inicio, dejando el tiempo de corrida en veinte minutos para la primera muestra y así determinar el tiempo de retención de la Indometacina.

Con los resultados que se obtuvierón se eligieron las condiciones de trabajo para después validar el método analítico.

4.2 Preparación de Formulación extemporánea

4.2.1 Ingredientes

Tabla VI. Ingredientes empleados en la fabricación de Formulaciones extemporáneas pediátricas de Indometacina (250 mL)

INGREDIENTE	CANTIDAD EMPLEADA	FABRICANTE LOTE NÙM.- FECHA DE CADUCIDAD
Indometacina	0.5g	Lab. Retecama S.A de C.V. T04-021
Jarabe de granadina	250mL	La madrileña Lot. 20107 08T
Jarabe natural	250mL	La madrileña Lot. 32505 15T
Alcohol 70º	Gotas hasta humedecer	PG Lot 04-05
Solución amortiguadora de acetatos pH 6	Gotas hasta ajustar el pH	--

4.2.2 Modo de preparación

La preparación de la formulación extemporánea de Indometacina se realizó con jarabe de granadina y con jarabe natural, realizando tres lotes de cada uno, de la siguiente manera para cada jarabe:

1. Se pesarón 0.1g de Indometacina, se vertierón en un vaso de precipitado de 100mL.
2. Se humedeció el polvo con unas gotas de alcohol de 70º y se agitó bien.
3. Se añadió parte del jarabe poco a poco, agitando bien.
4. Se ajustó el pH a 5,2 aproximadamente.
5. Se completó con la totalidad del jarabe y se agitó durante 5 minutos más a 2000rpm.
6. Se envasó seguidamente, en frascos ámbar con capacidad de 500mL, llenándolos solo hasta poco más de la mitad y se etiquetó de la siguiente manera:

UNAM- FES ZARAGOZA
Laboratorio de Investigación Farmacéutica
Elaborado por: Fecha: 00/00/00

Indometacina suspensión 2mg/mL
Indicaciones:
Mantener en refrigeración protegido de la luz.

Caducidad: 3 meses a partir del día de elaboración.
AGITAR ANTES DE SU USO

Figura 2. Etiqueta propuesta para Jarabe/Suspensión de Indometacina.

4.2.3 Control de calidad

Basados en la FEUM las pruebas a realizar en las formulaciones son las siguientes:

Tabla VII. Pruebas de control de calidad para formulaciones extemporáneas

SUSPENSIÓN	JARABE
Apariencia	Apariencia
Color	Color
pH	pH
Densidad	Densidad
Resuspendibilidad	--
Volumen de sedimentación	--
Valoración	Valoración
Tamaño de partícula	--

4.2.3.1 Apariencia

Este método se basa en la comparación visual de la claridad u opalescencia de la muestra en solución contra patrones de referencia bajo condiciones establecidas.

➢ **Procedimiento**

1. Se transfirió por separado a dos tubos Nessler, una cantidad suficiente de la solución a evaluar y el jarabe de granadina o jarabe natural, exactamente medidos.
2. Cinco minutos después, se comparó la solución a evaluar con la solución de referencia sobre un fondo negro.

4.2.3.2 Color

El método se basa en la comparación visual del color de la muestra de la solución, contra patrones de referencia en un rango colorido especifico, bajo condiciones establecidas. En este caso la solución a evaluar se comparó con su disolvente.

4.2.3.3 pH

El pH puede definirse como una medida que expresa el grado de acidez o basicidad de una solución en una escala que varía entre 0 y 14. Este se mide con un pH metro que contiene un electro de referencia y un electrodo de vidrio, un amplificador y una unidad indicadora para controlar las mediciones del aparato.

➢ **Procedimiento**

1. Se trasvasó un poco de la solución a evaluar a un vaso de precipitado, cuidando que el electrodo quede cubierto.
2. Se encendió el equipo.
3. Se calibró, las instrucciones son específicas para cada instrumento pero en general el procedimiento es el siguiente: se encenderá el aparato y se dejará calentar lo suficiente. Seleccionar dos soluciones amortiguadoras, patrón de referencias certificadas para calibración, cuya diferencia de pH no exceda las cuatro unidades. Llenar el recipiente con una de las soluciones amortiguadores para calibración, ajustar el control de calibración hasta que los valores de pH sean idénticos a los tabulados. Enjuagar los electrodos y sumergir el electrodo en la segunda solución amortiguadora. El pH de la segunda solución amortiguadora

esta dentro de +/- 0.07 unidades de pH del valor tabulado, si se observa mayor desviación revisar los electrodos y si están afectados, reemplazarlos. Se repitió la calibración hasta que las dos soluciones amortiguadoras dieron valores de pH dentro de 0.05 unidades.

4. Se introdució el electrodo del potenciómetro en la solución a evaluar, se dejó estabilizar la lectura, hasta que el aparato lo indicó.
5. Se leyó el dato que indica el equipo.
6. Se apagó el equipo.
7. Al terminar la operación del equipo, se lavó el electrodo con agua destilada con la ayuda de la pizeta y se dejó el electrodo inmerso en la solución buffer pH=4.0

4.2.3.4 Densidad

Para la densidad de la solución se ocupó el método del picnómetro. Un picnómetro es un pequeño frasco de vidrio de volumen exacto y conocido (V_p). Se pesó vacío (w_p), luego se llenó completamente (incluido el capilar) con el líquido cuya densidad se deseo determinar y finalmente se pesó (w_{pl}). Con estos datos se calculó la densidad del líquido:

$$d_L = \frac{w_{pl} - w_p}{V_p}$$

4.2.3.5 Resuspendibilidad

La capacidad de reconstitución se determinó por el número de agitaciones necesarias para que la dispersión este completa. Se realizó transfiriendo la suspensión a una probeta con tapón esmerilado de 50mL, se llenó y se dejó reposar 24h. Se resuspendió contando el número de agitaciones para la dispersión completa. Se repitió por triplicado.

4.2.3.6 Volumen de sedimentación

El volumen de sedimentación es necesario en las suspensiones, se tiene que homogenizar agitando para suspender el principio activo para que se mantenga y no exista variación en su concentración mayor al 10%. Se realizó transfiriendo la suspensión a evaluar a una probeta de 50mL con tapón esmerilado, se agitó y se midió el volumen sedimentado después de 24h, este no debió ser mayor al 10% del volumen total.

4.2.3.7 Valoración

El contenido de la suspensión y el jarabe se conoció aplicando el método como se hizo posteriormente en la validación del método.

4.2.2.8 Uniformidad de contenido

Se basa en la determinación cuantitativa del contenido individual del principio activo en un cierto número de unidades de formas farmacéuticas de dosis única, para determinar si la variación de los contenidos individuales expresada en términos de desviación estándar relativa esta dentro de los límites establecidos. En este caso la monografía no existe por lo tanto la uniformidad de contenido es aceptable si se encuentra dentro del intervalo de 85 a 115% de la cantidad declarada en el marbete, y si la desviación estándar relativa no es mayor que 6%.

- Procedimiento

Se analizarón individualmente tres unidades de cada formulación (suspensión y jarabe), con el método propuesto. Se mezclo bien y se realizó la valoración del principio activo en la cantidad de material que se drenó en 5s.

4.2.2.9 Tamaño de partícula

Se determina haciendo pasar el polvo a través de una malla de abertura especifica y bajo condiciones establecidas.

➢ Procedimiento

Se monto el equipo para tamaño de particula con las mayas 20, 40, 60, 80 100 y 200. Se ensamblo la tapa. Se pesaron 5g de Indometacina y se transfirieron a las mallas. Se encendió el equipo durante 5min. Se desarmo el equipo y se retiro con cuidado el polvo retenido en cada malla. Se pesó la cantidad de polvo de cada malla. Se calculo el porcentaje.

4.3 Validación del sistema

4.3.1 Linealidad

Se pesarón 30mg de Indometacina y se trasvasarón a un matraz volumétrico de 50mL, se aforó con MeOH grado HPLC (Solución A), de esta solución con una concentración de 600µg/mL, se prepararón por sextuplicado cinco niveles de concentración que fueron 6, 12, 24, 48 y 60µg/mL, de la siguiente manera: a partir de la solución A se tomarón alícuotas de 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 y 1mL, se trasvasarón a un matraz volumétrico de 10mL respectivamente y se aforarón con fase móvil. Se inyectarón las muestras preparadas el mismo día, con las especificaciones señaladas en la metodología del desarrollo del método analítico.

Se llevó a cabo la correlación de la respuesta vs la concentración del analito y se obtuvó el coeficiente de determinación, pendiente y ordenada al origen de la curva con las siguientes fórmulas:

➢ Pendiente

$$b_1 = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - \left(\sum x\right)^2}$$

n = número de mediciones (concentración-respuesta analítica)

➢ Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

➢ Coeficiente de determinación

$$r^2 = \frac{\left(n\left(\sum xy\right) - \left(\sum x\right)\left(\sum y\right)\right)^2}{\left(n\left(\sum x^2\right) - \left(\sum x\right)^2\right)\left(n\left(\sum y^2\right)\left(\sum y\right)^2\right)} * 100$$

- Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC\ (\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975,n-2} S_{b1}$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

Los criterios de aceptación que se tomarón para esta prueba son una r^2 mayor o igual a 0.98, así como la precisión con un coeficiente de variación en cada nivel de concentración menor o igual a 2%.

4.3.2 Precisión

Se pesarón 30mg de Indometacina y se traspasarón a un matraz volumétrico de 50mL, se aforó con MeOH grado HPLC (Solución A), de esta solución con una concentración de 600µg/mL, se prepararón por sextuplicado a una concentración de 60µg/mL, de la siguiente manera: a partir de la solución A se tomó una alícuota de 1mL, se trasvasó a un matraz volumétrico de 10mL y se aforó con fase móvil. Se inyectarón las muestras preparadas el mismo día, con las especificaciones señaladas en la metodología del desarrollo del método analítico. El coeficiente de variación no debió ser mayor que el 2%.

4.4 Validación del método

4.4.1 Selectividad

Con los productos de degradación, se prepararón muestras con placebo adicionado de éstos, el placebo adicionado de analito y de productos de degradación y se analizó con el método. Se estableció la selectividad del método al analizar muestras blanco del jarabe. Se

evaluó el método contra posibles interferencias. El criterio que se tomó para la prueba es que no deben existir interferencias en la cuantificación del compuesto por analizar.

4.4.2 Linealidad

Con la solución A (página 32) se preparó una curva en las siguientes concentraciones: 6, 12, 24, 48 y 60µg/mL (el procedimiento se encuentra en la página 31), adicionando 1mL de la solución B (tomar una alícuota de 1.5mL de la suspensión o jarabe de Indometacina preparado extemporáneamente, trasvasar a un matraz volumétrico de 50mL y aforar con metanol) a cada matraz, esta curva se realizó por sextuplicado y se inyectarón en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución a las condiciones establecidas en el desarrollo del método analítico.

La linealidad se determinó llevando a cabo la correlación de la respuesta vs la concentración del analito y se obtuvo el coeficiente de determinación, pendiente y ordenada al origen de la curva con las siguientes fórmulas:

- Pendiente

$$b_1 = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - \left(\sum x\right)^2}$$

n = número de mediciones (concentración-respuesta analítica)

- Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

- Coeficiente de determinación

$$r^2 = \frac{\left(n\left(\sum xy\right) - \left(\sum x\right)\left(\sum y\right)\right)^2}{\left(n\left(\sum x^2\right) - \left(\sum x\right)^2\right)\left(n\left(\sum y^2\right)\left(\sum y\right)^2\right)} * 100$$

- Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC\ (\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975,n-2} S_{b1}$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

- Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$IC\ (\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975,n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x)^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

- Coeficiente de variación

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Los criterios de aceptación que se tomarón para esta prueba son una r^2 mayor o igual a 0.98, así como la precisión con un coeficiente de variación en cada nivel de concentración menor o igual a 2%.

4.4.3 Precisión

4.4.3.1 Repetibilidad

Se prepararón seis muestras con la solución A con una concentración final de 6, 24 y 60µg/mL, adicionando en cada muestra 1mL de la solución B antes de aforar, se inyectarón las muestras en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución según las especificaciones del desarrollo del método analítico El coeficiente de variación no debió ser mayor que el 2%. La inferencia estadística fue Ho: $\sigma_o = 2\%$; $\sigma_o \neq 2\%$.

$$CV = \frac{s}{\bar{y}} * 100$$ n = número de determinaciones.

4.4.3.2 Precisión intermedia

Se prepararón seis muestras con la solución A con una concentración final de 60µg/mL, adicionando en cada muestra 1mL de la solución B antes de aforar, se inyectarón las muestras en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución según las especificaciones del desarrollo del método analítico en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Se utilizó la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y/o equipos.

Los resultados fuerón determinados por un análisis de varianza utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$\mathbf{Y_{ik} = \mu + A_i + e_{k(i)}}$$

Si los analistas realizan el análisis en días distintos.

Y= Variación
µ= media general de la población
A= Es la variación que se atribuye a los analistas.
e = Es la variación de los factores no controlados (el error experimental).
i= Número de analistas.
k= Número de replicas.
k(i)= Variación de unidades experimentales.

Tabla VIII. Modelo estadístico para precisión intermedia en días distintos.

Fuente	SC	gl	MC	Fcalc	Ftab
A_i	$\frac{\Sigma Y^2 i}{jk} - \frac{Y^2..}{ijk}$	i -1	$\frac{SC_A}{gl_A}$	$\frac{MC_A}{MC_D}$	
$D_{j(i)}$	$\frac{\Sigma\Sigma Y^2 ij}{k} - \frac{\Sigma Y^2 i}{jk}$	i(j - 1)	$\frac{SC_D}{gl_D}$	$\frac{MC_D}{MC_e}$	
$e_{k(ij)}$	$\Sigma\Sigma\Sigma Y^2 ijk - \frac{\Sigma\Sigma Y^2 ij}{k}$	ij(k-1)	$\frac{SC_e}{gl_e}$	-	-

Existen dos hipótesis:

Ho: $A_1 = A_2$; $A_1 - A_2 = 0$ y
Ho: $D_1 = D_2$; $D_1 - D_2 = 0$

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + AD_{ij} + e_{k(ij)}$$

Si los analistas realizan el análisis el mismo día.

Y= Variación
μ= media general de la población
A= Es la variación que se atribuye a los analistas.
D= Es la variación que se atribuye a los días.
AD= Variación de la interacción de variables
e = Es la variación de los factores no controlados (el error experimental).
i= Número de analistas.
j= Número de días.
k= Número de replicas.
k(ij)= Variación de unidades experimentales.

Tabla IX. Modelo estadístico para precisión intermedia en el mismo día.

Fuente	SC	gl	MC	Fcalc	Ftab
A_i	$\frac{\Sigma Y^2 i}{jk} - \frac{Y^2..}{ijk}$	i -1	$\frac{SC_A}{gl_A}$	$\frac{MC_A}{MC_{AD}}$	
$D_{j(i)}$	$\frac{\Sigma\Sigma Y^2 j}{ik} - \frac{\Sigma Y^2}{ijk}$	j -1	$\frac{SC_D}{gl_D}$	$\frac{MC_D}{MC_{AD}}$	
AD_{ij}	$\frac{\Sigma\Sigma Y^2 ij}{k} - \frac{\Sigma Y^2 i}{k} - \frac{Y^2..}{jk} + \Sigma\Sigma\Sigma Y^2 ijk$	(i -1)(j -1)	$\frac{SC_{AD}}{gl_{AD}}$	$\frac{MC_{AD}}{MC_e}$	
$e_{k(ij)}$	$\Sigma\Sigma\Sigma Y^2 ijk - \frac{\Sigma\Sigma Y^2 ij}{k}$	ij(k-1)	$\frac{SC_e}{gl_e}$	-	-

Existen tres hipótesis:
Ho: $A_1 = A_2$; $A_1 - A_2 = 0$;
Ho: $D_1 = D_2$; $D_1 - D_2 = 0$ y
Ho: $A_1D_1 = A_2 D_2$; $A_1D_2 = A_2 D_1$

4.4.4 Exactitud

Se calculó el valor promedio de las determinaciones en los siguientes niveles: 6, 24 y 48mcg/mL de concentración de los datos de repetibilidad los cuales deberán estar dentro del ±2% del valor nominal de concentración, la inferencia estadística fue Ho: μ = 100%; μ ≠ 100% y el estadígrafo de contraste:

$$\% \text{ de recobro} = \frac{\text{cantidad recuperada}}{\text{cantidad recuperada}} \times 100$$

$$t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{(\bar{s} / n)}$$

4.4.5 Estabilidad

El método indicativo de estabilidad debe ser capaz de distinguir cada ingrediente activo de otras sustancias y de sus productos de degradación, para esto se determinarón las condiciones de temperatura y tiempo en las que el compuesto permaneció estable en la matriz de estudio durante su manejo, almacenamiento y procesamiento. Se prepararón seis muestras con la solución A con una concentración final de 60µg/mL, adicionando en cada muestra 1mL de la solución B antes de aforar, se inyectarón las muestras en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución según las especificaciones del desarrollo del método analítico

Se evaluó la estabilidad de la muestra, bajo las condiciones de almacenamiento en las que se mantuvierón (refrigeración y temperatura ambiente), estas muestras fuerón las mismas para todo el análisis identificando la condición a la que se encontraba cada una. Se determinó el coeficiente de variación el cual debió ser mayor o igual al 2%.

I. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

1. Adecuación de método analítico

Este proyecto tuvo como finalidad desarrollar un método por CLAR para la cuantificación de Indometacina en formulaciones extemporáneas, por lo tanto se buscó que el análisis fuera lo más rápido posible pero con la seguridad de que la formulación presentará una uniformidad y dosificación adecuadas. Este proyecto tomó como base un método desarrollado anteriormente para la cuantificación de AINES en plasma por lo se tuvó que adecuar de la siguiente manera:

- El método original tiene las siguientes condiciones:

Columna Symmetry C18 de 3.5 mm (d.i.) x 150 mm.

Tamaño de partícula de 5 μm.

Fase móvil 75:25 metanol:amortiguador de acetatos (pH 3).

Velocidad de flujo de 1 mL/minuto.

- La adecuación del método tuvo los siguientes cambios:

Columna Hypersil gold de 4.6 mm (d.i.) x 150 mm.

Tamaño de partícula de 5 μm.

Fase móvil 80:20 metanol:amortiguador de acetatos (pH 3).

Velocidad de flujo de 1 mL/minuto.

Los resultados que se obtuvieron con las proporciones de metanol: amortiguador de acetatos de 70:30 y 75:25 fueron buenos pero ya que los tiempos de retención fueron mayores en el caso de 70:30 a 7.5 minutos (Figura 3) y en el caso de 75:25 fue de 6 minutos (Figura 4) se descartarón. En la única proporción que se obtuvieron resultados en el menor tiempo de retención posible fue a la proporción de 80:20 de metanol: amortiguador de acetatos que fue de 3.2-3.5 minutos (Figura 5). Por lo tanto la proporción que se utilizó en el método fue de

80:20 metanol: amortiguador de acetatos y de esta manera el análisis de las muestras tomó menor tiempo.

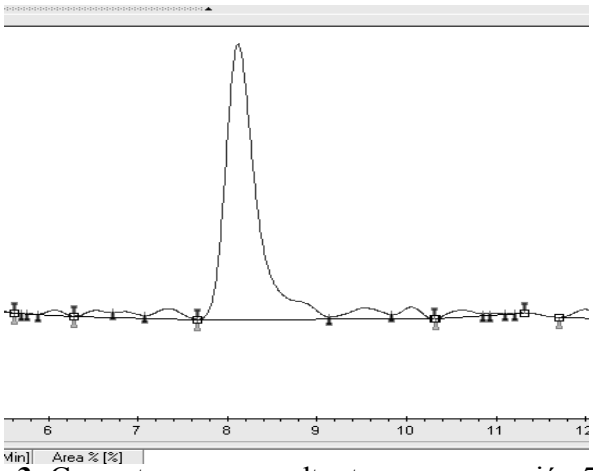


Figura 3. Cromatograma resultante con proporción 70:30.

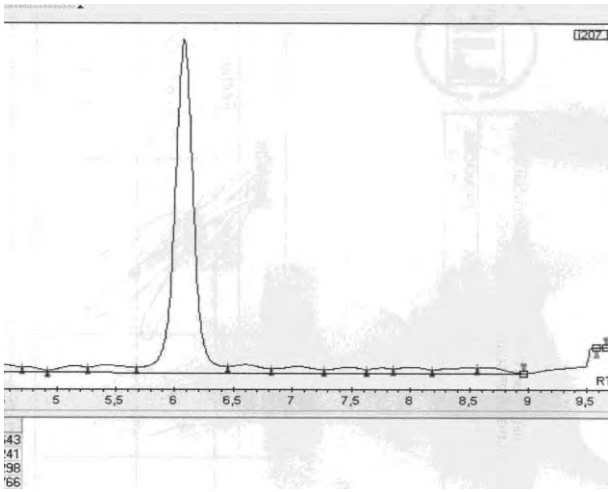


Figura 4. Cromatograma resultante con proporción 75:25.

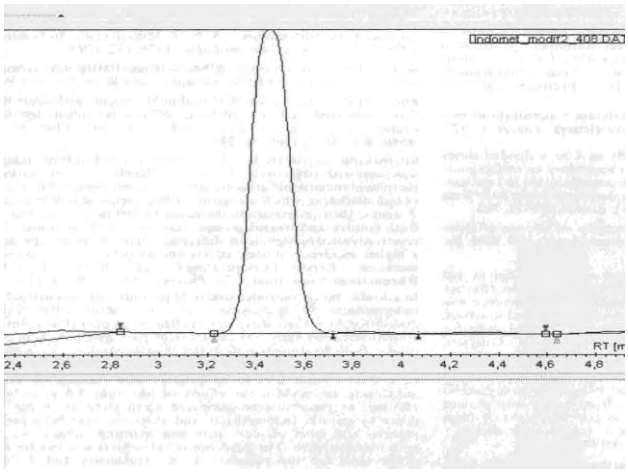


Figura 5. Cromatograma resultante con proporción 80:20.

2. Control de calidad

Tabla X. Resultados de las pruebas de control de calidad para suspensión de Indometacina.

PRUEBAS	RESULTADOS
Apariencia	Opalescente
Color	Rojo
pH	4.85± 0.085
Densidad	1.1582±0.0001
Resuspendibilidad	10 agitaciones
Volumen de sedimentación	9.86% ± 0.0986
Valoración	99 – 101%
Uniformidad de contenido	99 – 101%

Tabla XI. Tamaño de partícula

Malla	Cantidad recuperada (g)	Porcentaje (%)
20	0,008653	0,17
40	0,754338	14,82
60	4,054694	79,66
80	0,148628	2,92
100	0,07126	1,4
200	0,049373	0,97

El recuperado predominante es la malla numero 40, teniendo entonces la partícula un tamaño aproximado de 420µm, de acuerdo con la abertura de los tamices U.S. estándar.

Tabla XII. Resultados de las pruebas de control de calidad para jarabe de Indometacina.

PRUEBAS	RESULTADOS
Apariencia	Clara
Color	Transparente
pH	5.26±0.1901
Densidad	1.1436±0.0002
Resuspendibilidad	---
Volumen de sedimentación	---
Valoración	98 – 102%
Uniformidad de contenido	98 – 102%

3. Validación del sistema

- **Linealidad**

Tabla XIII. Linealidad del sistema.

X	**ABC (mUA*min)**						**Y**		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	4.1	4.1	4.1	4.1	3.9	4.3	4.1	0.1265	3.0851
12	5.3	5.4	5.2	5.1	5.2	5.3	5.25	0.1049	1.9977
24	8	8.9	8.3	8.2	8.9	8.4	8.45	0.3728	4.4122
48	14.7	14.7	14.8	14.7	15	14.6	14.725	0.1378	0.9361
60	17.6	17.9	17.5	17.9	17.3	17.6	17.633	0.2338	1.3259
X	**Cantidad recuperada (mcg/mL)**						Y		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	2.0545	2.0545	2.0545	2.0545	1.9998	2.1092	2.0545	0.0346	1.6837
12	2.3827	2.4100	2.3553	2.3280	2.3553	2.3827	2.3690	0.0287	1.2107
24	3.1211	3.3672	3.2031	3.1758	3.3672	3.2305	3.2441	0.1020	3.1428
48	4.9533	4.9533	4.9807	4.9533	5.0354	4.9260	4.9670	0.0377	0.7589
60	5.7464	5.8284	5.7190	5.8284	5.6643	5.7464	5.7555	0.0639	1.1109

En la tabla XIII se muestran los resultados obtenidos en la linealidad del sistema de cinco concentraciones del rango de trabajo, con estos resultados se obtuvó el coeficiente de

determinación y la ecuación de la recta. Con los datos se construyó la gráfica de la linealidad relacionando la concentración de la muestra contra la respuesta del equipo (Gráfico 1).

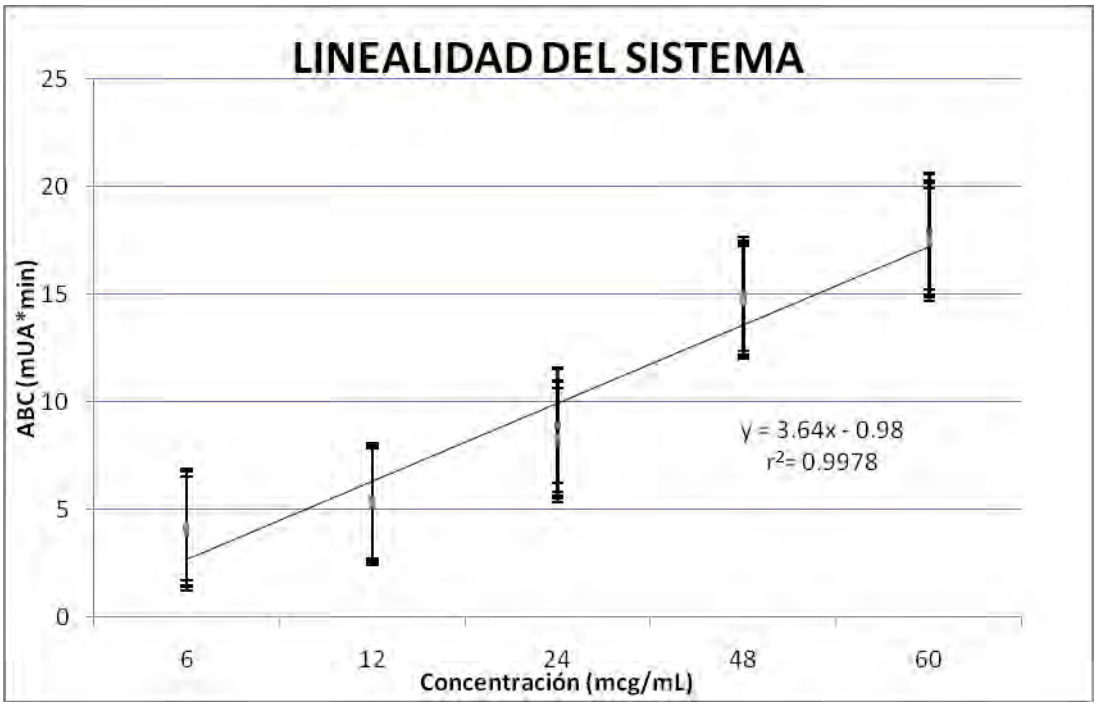


Grafico 1. Linealidad del sistema.

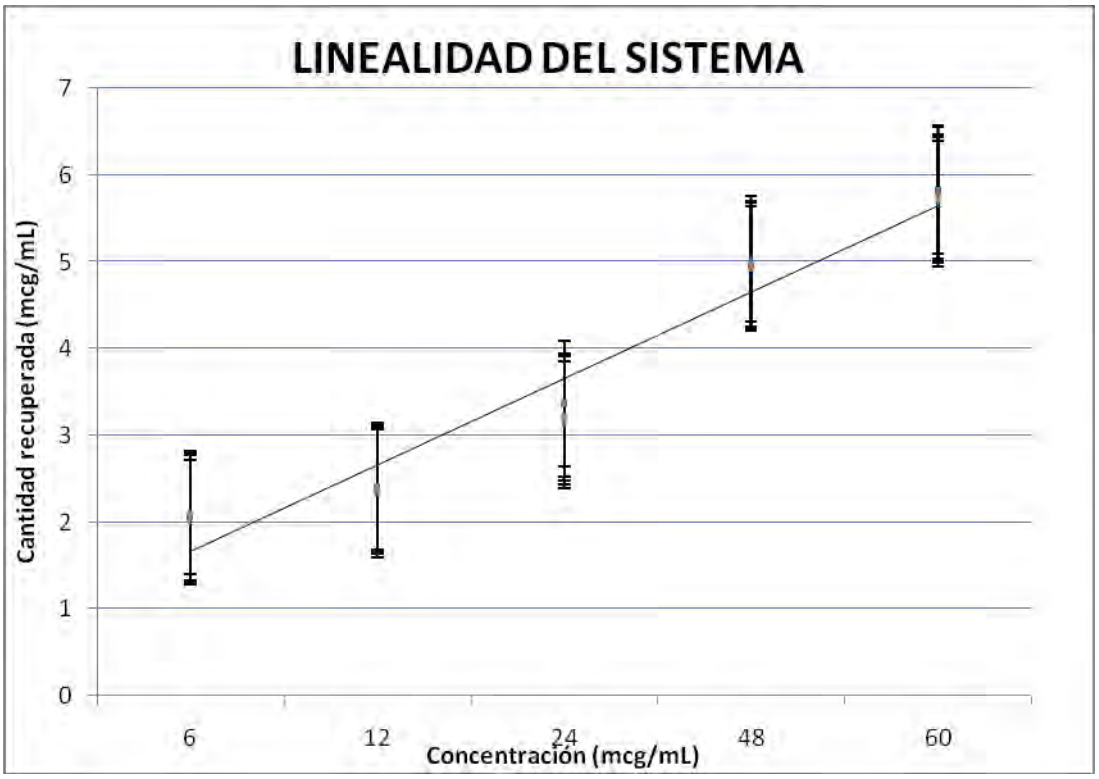


Grafico 2. Linealidad del sistema.

Tabla XIV. Precisión del sistema.

Conc. mcg/mL	ABC (mUA*min)
60	17,6
60	17,9
60	17,5
60	17,9
60	17,3
60	17,6
Promedio	17,63333333
Desv. STD	0,233809039
C.V.	1,325949181

En la tabla XIV se muestran los resultados de la precisión del sistema, en esta se observan seis relaciones de la concentración de la muestra de Indometacina en solución, a estos resultados se les determinó el coeficiente de variación.

Estas dos pruebas se realizaron para evaluar que el equipo se encontraba en las mejores condiciones de uso. En la precisión del sistema se obtuvó un coeficiente de variación de 1.3259% el cual es menor al 2% que se establece como criterio de aceptación. En la linealidad del sistema se obtuvó una ecuación de la recta igual a y = 3,64x - 0,98 que es del tipo y= mx + b con un coeficiente de determinación de 0,9978, el criterio de aceptación indica que debe ser mayor a 0.98.

El cumplimiento de las pruebas, indica que la respuesta medida por el equipo para la cuantificación de Indometacina es precisa y existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta medida por el equipo.

4. Validación del método

4.1 Selectividad

La finalidad de este parámetro es comprobar que el método es selectivo para el analito que se va a analizar, y que no existe interferencia de los productos de degradación, la matriz analítica, etc. El producto de degradación se obtuvo degradación por hidrólisis alcalina, la reacción se realizó disolviendo Indometacina en una solución de NaOH 0.1M dando: el ácido

p-clorobenzoico y ácido 5-metoxi-2-metil indol-3-acético, que se diferencian por su longitud de onda de absorción 460 y 297 nm, respectivamente. Se pudo comprobar que el método era selectivo al analizar la Indometacina con su producto de degradación (Figura 6 y 7), donde se observó que estos dos compuestos tienen un tiempo de retención distinto y que a pesar de que estuvierán juntos se distinguen uno de otro (Figura 7).

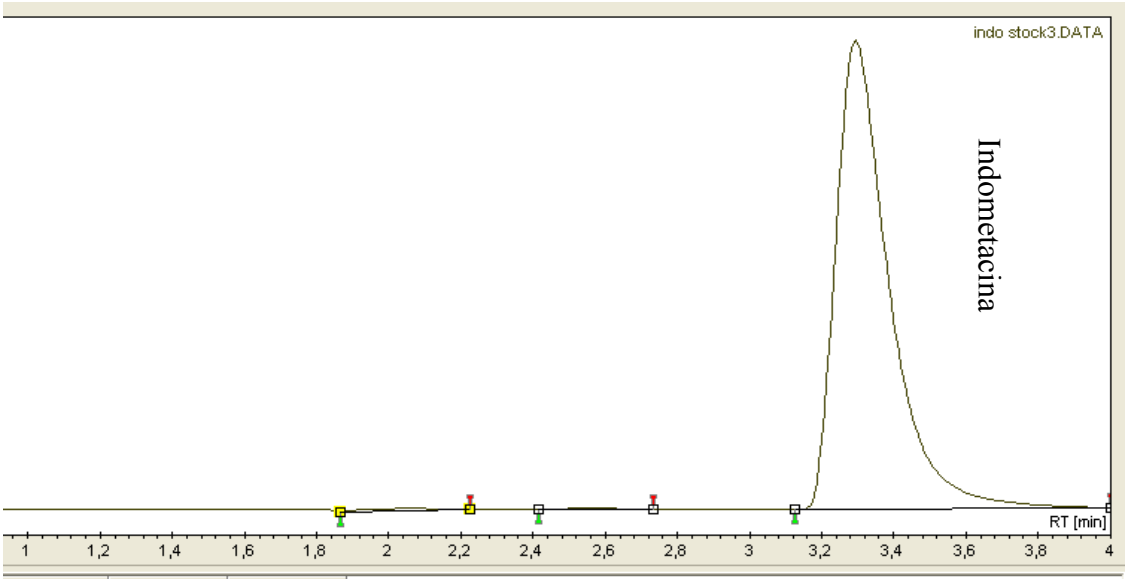


Figura 6. Cromatógrama resultante del estándar de Indometacina.

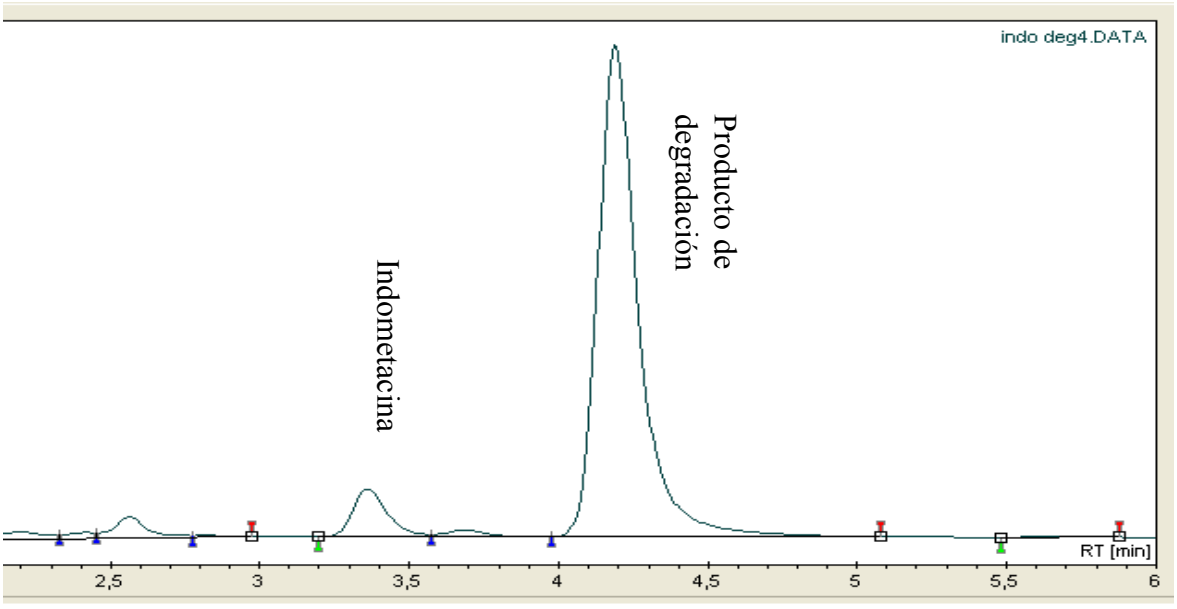


Figura 7. Cromatógrama resultante del producto de degradación de Indometacina.

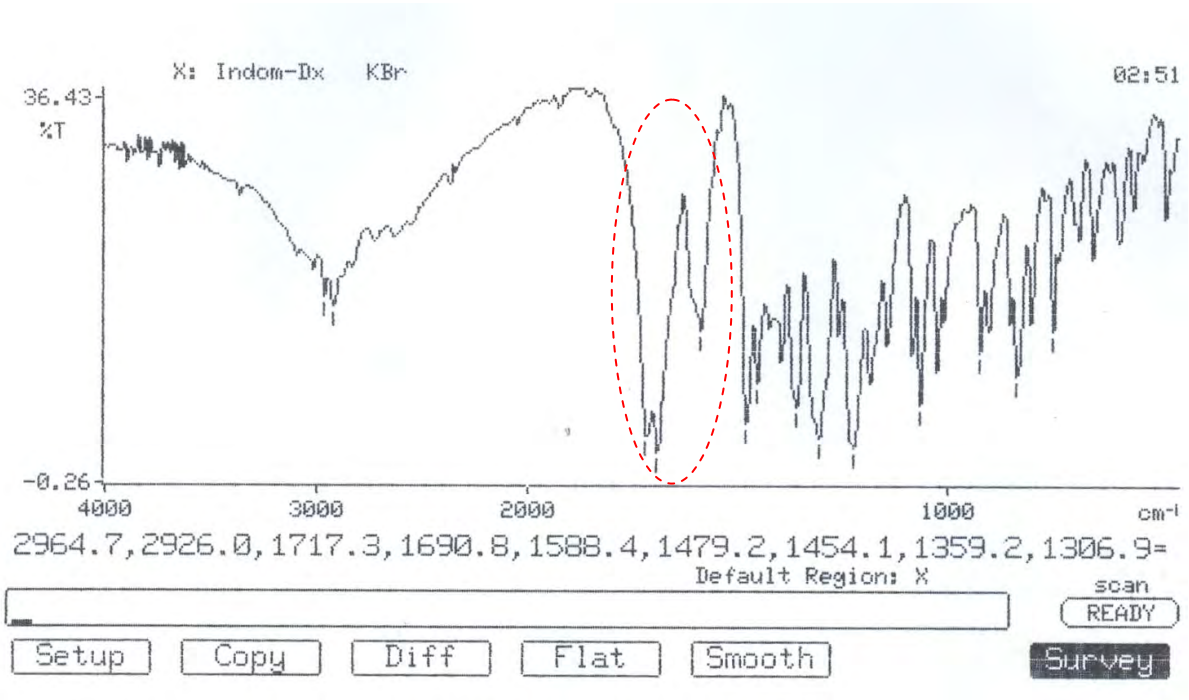


Figura 8. IR del estándar de Indometacina utilizado en las pruebas.

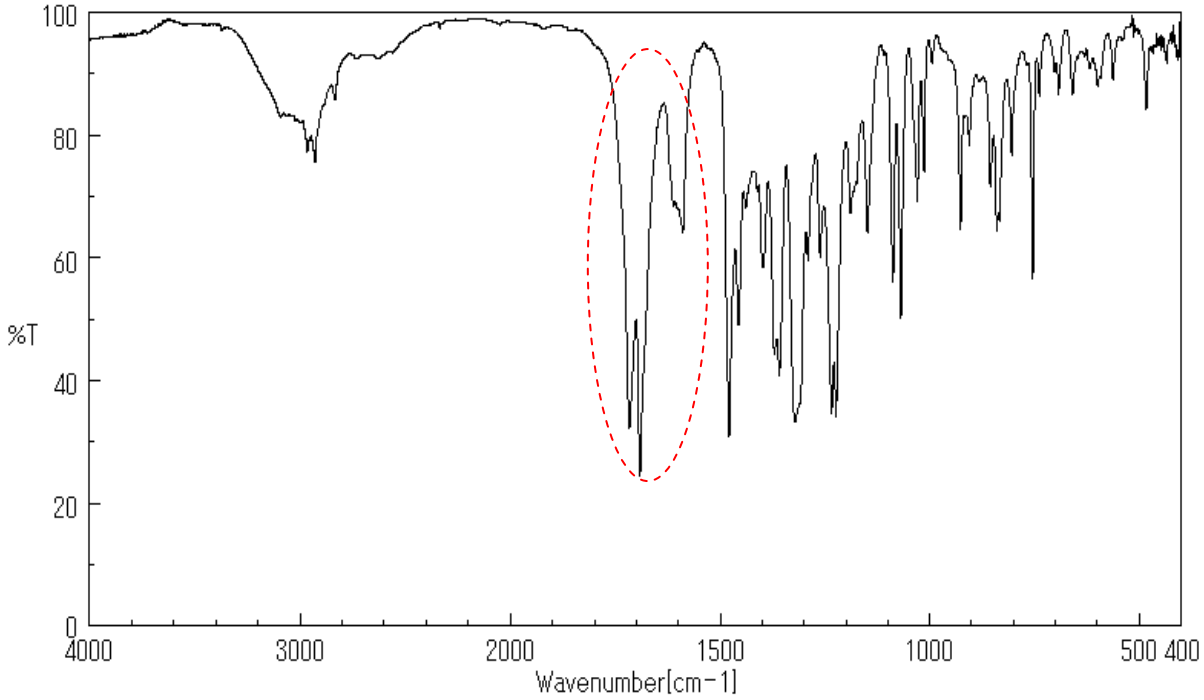


Figura 9. IR del estándar de Indometacina de referencia.

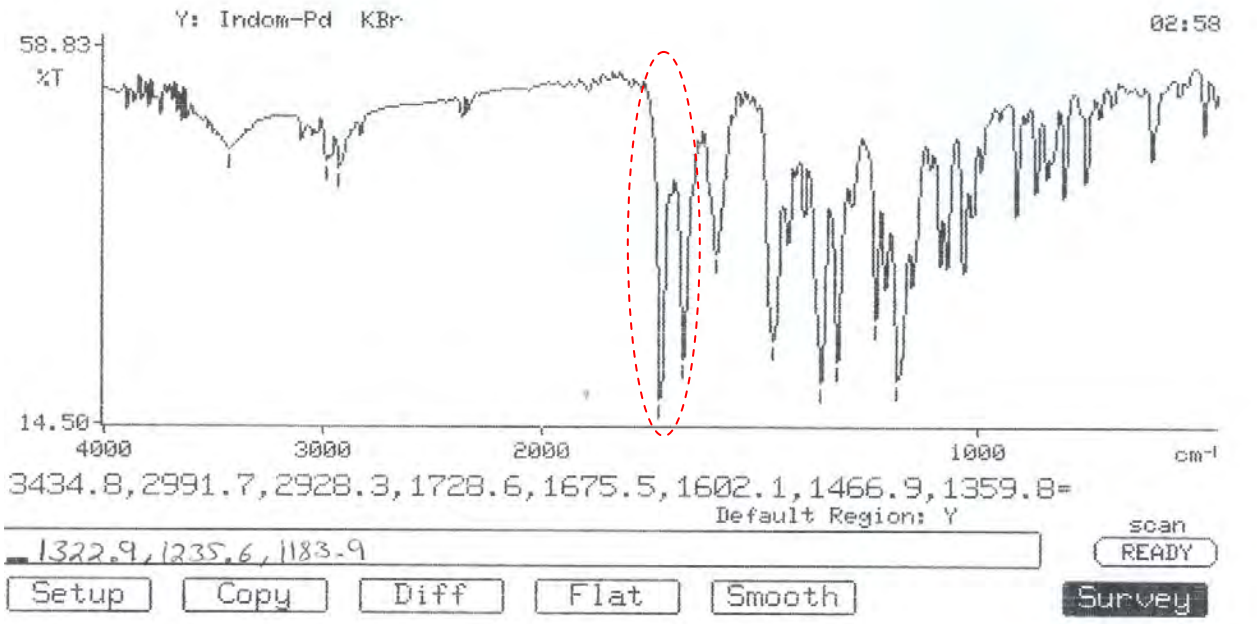


Figura 10. IR del producto de degradación de Indometacina de referencia.

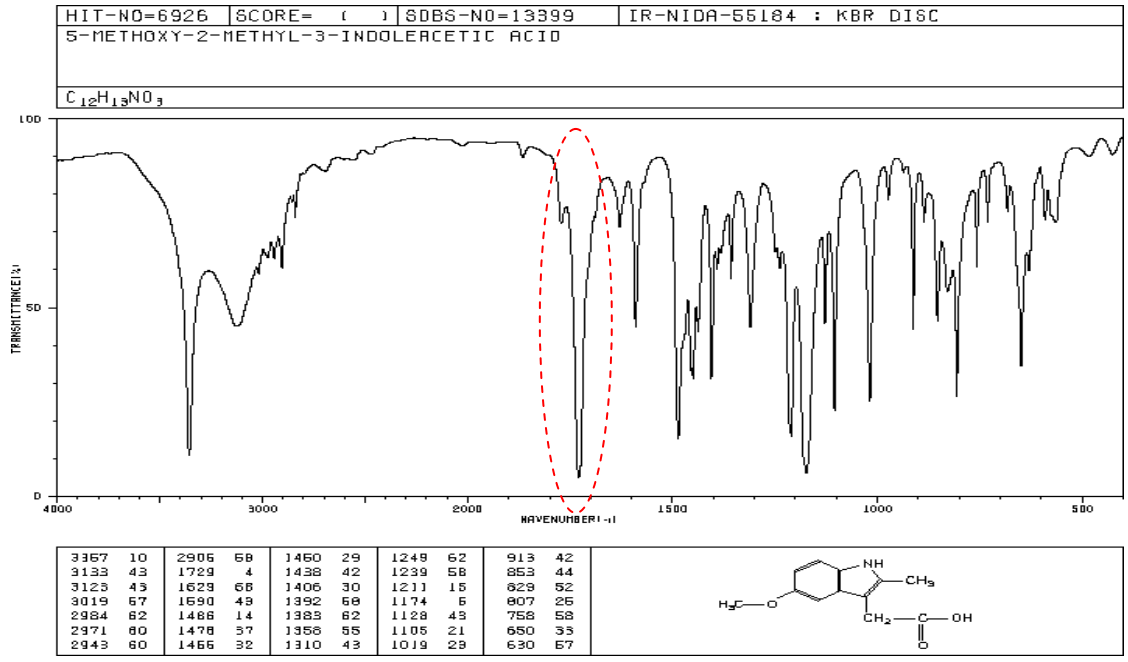


Figura 11. IR del producto de degradación de Indometacina de referencia.

4.2 Linealidad

- **Suspensión de Indometacina en jarabe de granadina.**

Tabla XV. Linealidad del método para suspensión de Indometacina.

X	ABC (mUA*min)						Y		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	16	16.2	15.9	15.7	15.9	16.2	15.9833	0.1941	1.2143
12	19.8	19.3	19.1	19.3	19.1	19.6	19.3667	0.2805	1.4482
24	26.4	26.2	27.5	26.3	26.3	27.6	26.7167	0.6494	2.4305
48	40.5	45.1	40.3	43.9	44.6	45	43.2333	2.2358	5.1714
60	54.3	54.7	57.1	54.4	55.3	55.2	55.1667	1.0309	1.8686
X	**Cantidad recuperada (mcg/mL)**						Y		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	11.7366	12.0170	11.5964	11.3161	11.5964	12.0170	11.7133	0.2721	2.3229
12	17.0641	16.3631	16.0827	16.3631	16.0827	16.7837	16.4566	0.3932	2.3894
24	26.3170	26.0366	27.8592	26.1768	26.1768	27.9994	26.7610	0.9104	3.4019
48	46.0847	52.5337	45.8043	50.8513	51.8327	52.3935	49.9167	3.1345	6.2794
60	65.4317	65.9925	69.3572	65.5719	66.8337	66.6935	66.6467	1.4452	2.1685

En la tabla XV se observa el área bajo la curva resultante de la muestra, con los que se calculó el coeficiente de determinación (r^2), la pendiente de la recta así como la ordenada al origen.

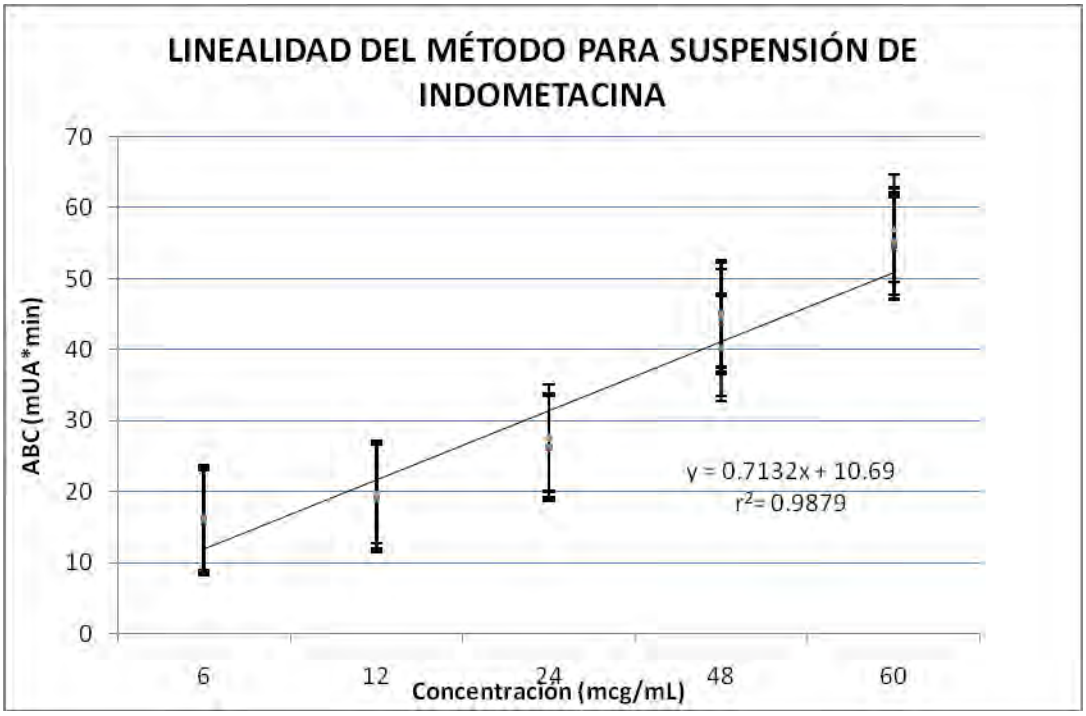


Grafico 3. Linealidad del método para suspensión de Indometacina.

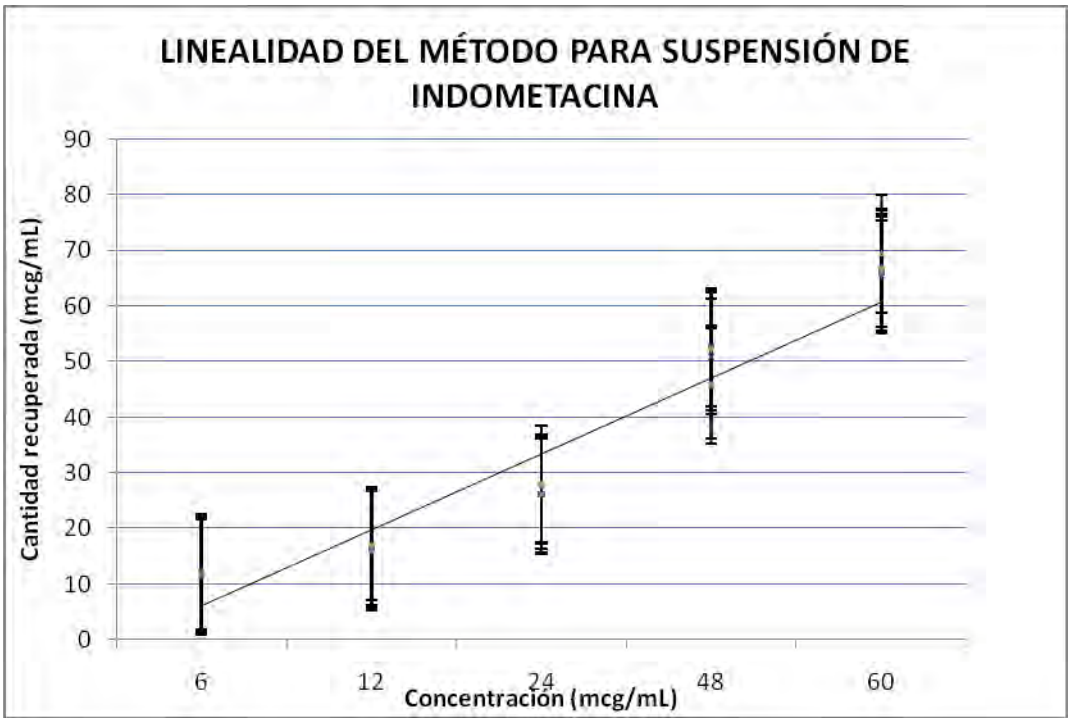


Grafico 4. Linealidad del método para suspensión de Indometacina.

La linealidad del método es un parámetro que determina la relación entre la concentración del analito y la respuesta del equipo, esta prueba se realizó determinando la respuesta a cinco niveles de concentración por sextuplicado cada uno. A los datos que se encuentran en la tabla XV se les aplicó un modelo de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados para determinar r^2 y la ecuación de la recta y= mx + b. El coeficiente de determinación que se obtuvó fue de 0,9879, siendo este mayor a los criterios de aceptación, el cual debe ser mayor o igual a 0,98, por lo tanto la respuesta del equipo fue directamente proporcional a la concentración del analito. La ecuación de la recta que describe el comportamiento es y= 0.7132x +10.69.

La inferencia a la pendiente se realizó empleando una t-Student para determinar la relación entre el analito y la respuesta del equipo, encontrando que los valores de respuesta dependen de la concentración, con una α de 0,05. El intervalo de confianza para la pendiente

fue de 0.00369 < m < 1.4293. Con esto se cumplió el criterio de aceptación de pendiente diferente de cero.

En cuanto a la inferencia de la ordenada al origen se empleo la misma prueba estadística que se utilizó para la pendiente. Con esto se obtuvó que la ordenada al origen tiene el siguiente intervalo de confianza es 0 < b < 21.239.

- **Jarabe de Indometacina en jarabe de natural.**

Tabla XVI. Linealidad del método para jarabe de Indometacina.

X	ABC (mUA*min)						Y		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	5.2	5	5.2	5.1	5.2	5.3	5.1667	0.1033	1.9990
12	6.9	6.2	6.4	6.7	6.7	6.7	6.6000	0.2530	3.8331
24	8.9	9	8.9	9	8.9	8.9	8.9333	0.0516	0.5781
48	15.4	15.8	15.6	16.3	16.3	16.2	15.9333	0.3882	2.4361
60	18.5	18	18.1	18.3	17.9	18.3	18.1833	0.2229	1.2256
X	**Cantidad recuperada (mcg/mL)**						Y		
Conc mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv STD	CV
6	1.2291	1.1722	1.2291	1.2006	1.2291	1.2575	1.2196	0.0293	2.4056
12	1.7120	1.5131	1.5699	1.6552	1.6552	1.6552	1.6268	0.0719	4.4177
24	2.2801	2.3085	2.2801	2.3085	2.2801	2.2801	2.2896	0.0147	0.6407
48	4.1266	4.2402	4.1834	4.3822	4.3822	4.3538	4.2781	0.1103	2.5774
60	5.0072	4.8651	4.8935	4.9504	4.8367	4.9504	4.9172	0.0633	1.2875

En la tabla XVI se observa el área bajo la curva resultante de la muestra, con los que se calculó el coeficiente de determinación (r^2), la pendiente de la recta así como la ordenada al origen.

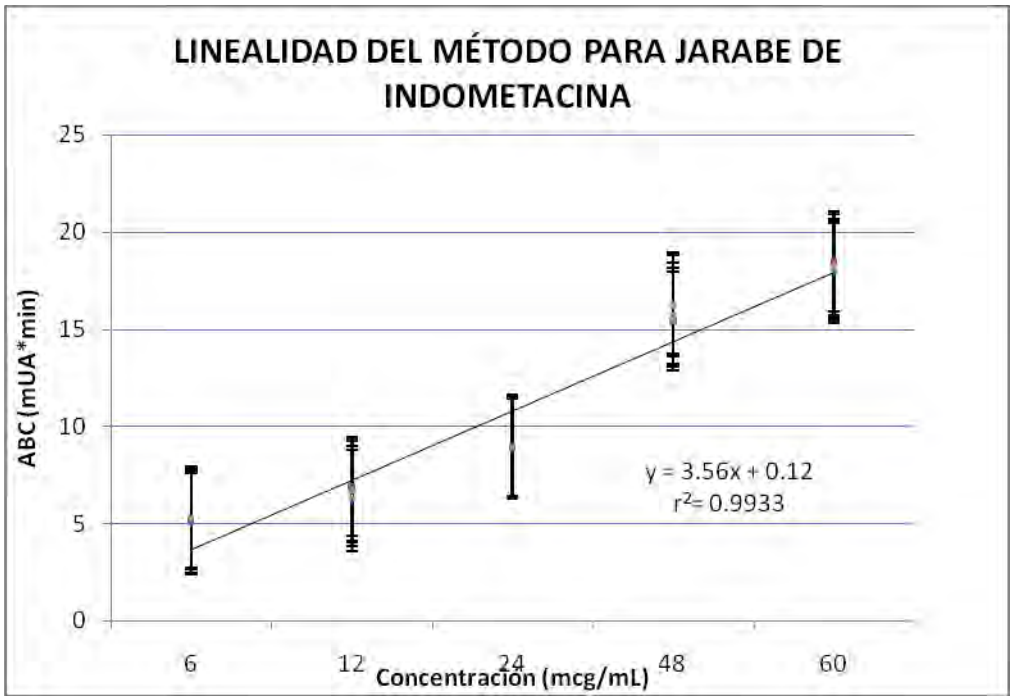


Grafico 5. Linealidad del método para jarabe de Indometacina.

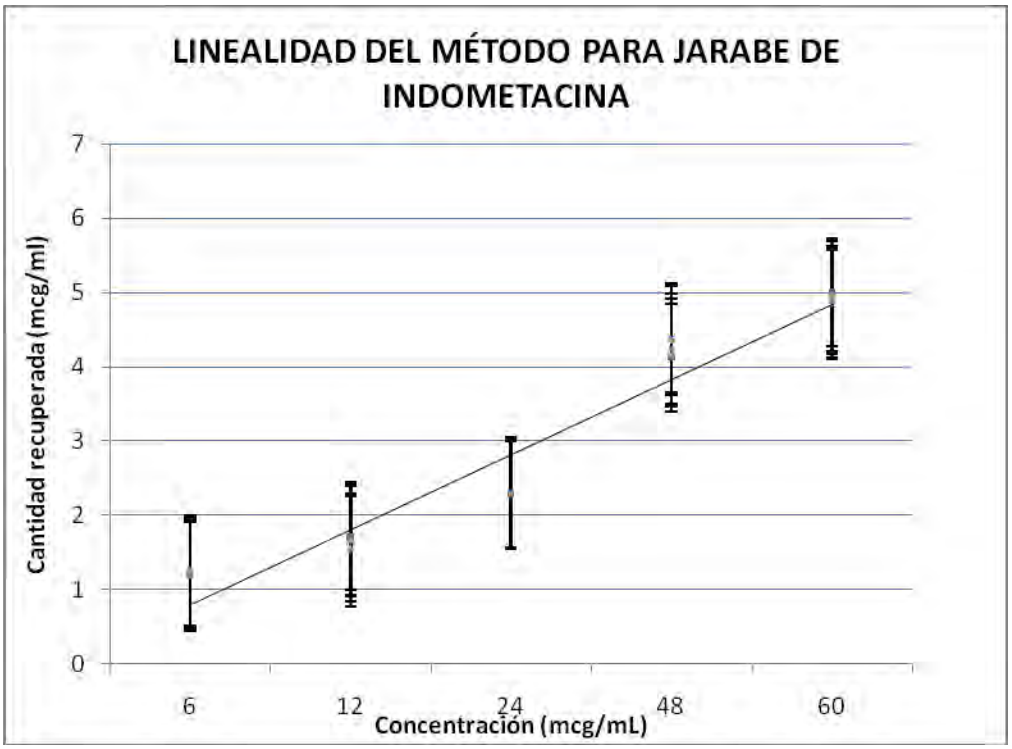


Grafico 6. Linealidad del método para jarabe de Indometacina.

La linealidad del método es un parámetro que determina la relación entre la concentración del analito y la respuesta del equipo, esta prueba se realizó determinando la respuesta a cinco niveles de concentración por sextuplicado cada uno. A los datos que se encuentran en la tabla XVI se les aplicó un modelo de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados para determinar r^2 y la ecuación de la recta y= mx + b. El coeficiente de determinación que se obtuvó fue de 0,9933, siendo este mayor a los criterios de aceptación, el cual debe ser mayor o igual a 0,98, por lo tanto la respuesta del equipo fue directamente proporcional a la concentración del analito. La ecuación de la recta que describe el comportamiento es y= 3.56x + 0.12.

La inferencia a la pendiente se realizó empleando una t-Student para determinar la relación entre el analito y la respuesta del equipo, encontrando que los valores de respuesta dependen de la concentración, con una α de 0,05. El intervalo de confianza para la pendiente fue de $0.000018 < m < 0.4962$. Con esto se cumplió el criterio de aceptación de pendiente diferente de cero.

En cuanto a la inferencia de la ordenada al origen se empleo la misma prueba estadística que se utilizó para la pendiente. Con esto se obtuvó que la ordenada al origen tiene el siguiente intervalo de confianza es $0 < b < 7.0405$.

4.3 Precisión

4.3.1 Repetibilidad

- **Suspensión de Indometacina en jarabe de granadina.**

En la tabla XVII y XVIII se muestran los resultados de precisión del método en términos de repetibilidad a un nivel de concentración por sextuplicado, donde se obtuvó el coeficiente de variación.

Tabla XVII. Repetibilidad para suspensión de Indometacina.

X	ABC (mUA*min)						Y				
Conc. mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv. STD	CV	Cant. Recuperada (mcg/mL)	%Recobro
6	16	16,2	15,9	15,7	15,9	16,2	15,9833	0,1941	1,2143	5,669	94,4864
24	26,4	26,2	27,5	26,3	26,3	27,6	26,7167	0,6494	2,4305	24,102	100,4250
60	54,3	54,7	57,1	54,4	55,3	55,2	55,1667	1,0309	1,8686	61,581	102,6350

- **Jarabe de Indometacina en jarabe de natural.**

Tabla XVIII. Repetibilidad para jarabe de Indometacina.

X	ABC (mUA*min)						Y				
Conc. mcg/mL	1	2	3	4	5	6	Promedio	Desv. STD	CV	Cant. Recuperada (mcg/mL)	%Recobro
6	5,2	5	5,2	5,1	5,2	5,3	5,16666667	0,10327956	1,99895915	5,854	97,5667
24	8,9	9	8,9	9	8,9	8,9	8,93333333	0,05163978	0,57805722	21,749	90,6196
60	18,5	18	18,1	18,3	17,9	18,3	18,1833333	0,2228602	1,22562894	50,930	84,8833

Al analizar los datos se puede observar que la variación entre las muestras para cada nivel de concentración del rango no son mayores a 2%, esto indica que el método fue preciso en términos de repetibilidad y se pudieron controlar adecuadamente los errores que pudieran presentarse en la adecuación del método analítico.

4.3.2 Precisión intermedia

- **Suspensión de Indometacina en jarabe de granadina.**

Tabla XIX. Precisión intermedia para suspensión de Indometacina.

	A1	A2
D1	57,13	54,96
	54,15	56,38
	54,16	55,52
	54,12	54,83
	54,21	55,28
	54,11	54,87
D2	54,30	54,87
	54,70	55,51
	57,10	54,88
	54,40	54,68
	55,30	55,14
	55,20	53,77

$$Yijk = \mu + Ai + Dj(i) + \epsilon k(ij)$$

Tabla XX. Tabla de Anadeva para suspensión de Indometacina.

Fuente	SC	gl	MC	F_{calc}	F_{tab}
Ai	0,0007	1	0,00073388	0,00087059	4,35124348
Dj(i)	1,6859	2	0,84296273	1,04560816	3,49282848
$\epsilon k(ij)$	16,1239	20	0,80619372		

Hipótesis 1	Ho: A1=A2 ; A1-A2=0	$F_{cal}<F_{tab}$ por lo tanto Ho se acepta
Hipótesis 2	Ho: D1=D2 ; D1- D2=0	Fcal<Ftab por lo tanto Ho se acepta

- **Jarabe de Indometacina en jarabe de natural.**

Tabla XXI. Precisión intermedia para jarabe de Indometacina.

	A1	A2
D1	18,5	20,7
	18	21,2
	18,1	20,6
	18,3	21
	17,9	20,5
	18,3	20,5
D2	23,7	19,8
	23,6	21,2
	23,2	20,6
	24,3	20,5
	25,1	20,8
	23,7	20,9

$$Yijk = \mu + Ai + Dj(i) + \epsilon k(ij)$$

Tabla XXII. Tabla de Anadeva para jarabe de Indometacina

Fuente	SC	gl	MC	F_{calc}	F_{tab}
Ai	47,6017	1	47,60166667	1,81570248	4,35124348
Dj(i)	52,4333	2	26,21666667	129,465021	3,49282848
$\epsilon k(ij)$	4,0500	20	0,2025		

Hipótesis 1 Ho: A1=A2 ; A1-A2=0 $F_{cal} < F_{tab}$ por lo tanto Ho se acepta

Hipótesis 2 Ho: D1=D2 ; D1- D2=0 $F_{cal} > F_{tab}$ por lo tanto Ho se rechaza

En las tablas XIX, XX, XXI, XXII se muestran los resultados de la reproducibilidad, la cual se realizó por dos analistas diferentes en dos días diferentes en un mismo nivel de concentración, bajo las mismas condiciones de laboratorio. Los resultados de esta prueba reflejarón que el método para suspensión de Indometacina fue reproducible y que no existe una diferencia entre los analistas ni entre los días, sin embargo para el jarabe de Indometacina existe una diferencia entre los días pero no entre los analistas.

4.4 Exactitud

En las tablas XVII y XVIII se muestra la cantidad recuperada y el % de recobro por cada nivel de concentración los cuales están dentro del criterio de aceptación, por lo tanto el método es exacto al 100%.

4.5 Estabilidad

- **Suspensión de Indometacina en jarabe de granadina.**

Tabla XXIII. Resultados de estabilidad de la muestra para suspensión de Indometacina.

	ABC (mUA*min)					
	T Ambiente			T Refrigeración		
	t_0	t_{24}	t_{48}	t_0	t_{24}	t_{48}
	54,40	54,87	54,96	54,40	54,87	54,96
	54,28	55,51	56,38	54,28	55,51	56,38
	54,48	54,88	55,52	54,48	54,88	55,52
Promedio	54,387	55,088	55,619	54,387	55,088	55,619
Desv. STD.	0,099	0,367	0,715	0,099	0,367	0,715
CV (%)	0,183	0,666	1,286	0,183	0,666	1,286

- **Jarabe de Indometacina en jarabe de natural.**

Tabla XXIV. Resultados de la estabilidad de la muestra para jarabe de Indometacina.

	ABC (mUA*min)					
	T Ambiente			T Refrigeración		
	t_0	t_{24}	t_{48}	t_0	t_{24}	t_{48}
	18,5	20,7	25,1	21,2	23,7	24,1
	18,3	20,5	23,6	20,7	23,6	25,1
	18,3	20,6	23,2	20,5	23,2	23,7
Promedio	18,367	20,600	23,967	20,800	23,500	24,300
Desv. STD.	0,115	0,100	1,002	0,361	0,265	0,721
CV (%)	0,629	0,485	4,179	1,733	1,126	2,968

La estabilidad de la muestra es muy importante debido a que no siempre se puede analizar al mismo tiempo en el que se prepara la muestra, para esto se debe almacenar por lo menos un periodo de 24 h a temperatura ambiente o a temperatura de refrigeración, para que la muestra se considere estable, debe cumplir con el criterio de aceptación C.V.≤ 2 %, al analizar los resultados obtenidos en las tablas XXIII y XXIV para esta prueba se obtuvó que ambas formulaciones cumplen con este criterio donde el C.V. no fue mayor al 2 %, con esto se puede saber que las muestra si es estable durante un periodo de 24 h, sin embargo las muestras de jarabe de Indometacina no se puede considerar estable ya que el valor obtenido es mayor al criterio de aceptación, este valor pudo ser provocado por la degradación de la molécula o de los componentes del jarabe (matriz). Por lo tanto las muestras son estables siempre y cuando no sean analizadas después de 48h de su preparación.

X. CONCLUSIONES

- El método permite identificar la Indometacina y comprobar si las formulaciones extemporáneas de Indometacina presentan una uniformidad de contenido adecuada para su administración.
- El control de calidad que se realizó a las formulaciones (suspensión y jarabe) asegura que si son preparadas según la fórmula maestra, son adecuadas para su administración.
- La Indometacina se mantiene estable en la formulación extemporánea hasta por 48 horas en condiciones de refrigeración conservando sus características iniciales.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Validation of chromatographic methods.USA: United States Department of Health and Human Services; 2002.
2. Tarinas A., Tápanes R., Ferrer G., Pérez J. Validation of high-performance liquid chromatography methods for determination of zidovudine, stavudine, lamivudine and indinavir in human plasma. Farm Hosp (Cuba) 2007; 31 (4): 243- 347.
3. NOM-059-SSAI-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de diciembre del 2008.
4. NOM-073-SSAI-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 04 de enero del 2006.
5. Colegio de químicos farmacéuticos biólogos. Guía de validación de métodos analíticos. México: CNQFB; 2002: 8 -11, 17-32, 57-70.
6. México. Secretaría de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 8ª. Ed. México: Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 2004: 21-31, 37-43, 367-383, 1883-1885.
7. USA. United States Pharmacopoeia 30/ National formulary 25. Rockville, MD: United States Pharmacopoeial Convention, Inc.; 2007: 2872-2883.
8. Lunn George. HPLC Methods for Pharmaceutical Análisis. USA: Edith. John Wiley and Sons; 1997: 486, 741, 819, 929.
9. Raymond P. Scott. Liquid Chromatography for the Analyst. 67a. Ed. USA: Marcel Dekker; 1994: 4-115.
10. Florey Klaus. Analytical Profiles of Drug Substances Volumen 13. UK: Academis Press; 1975: 211, 573.
11. The Merk Index. 11 ed.: USA: Merk and CO. Rahway, N. J.; 2001.

12. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. 2nd. edition. UK: James E. F. Reynolds; 1989.

13. Kenneth A. Connors. Chemical Stability of Pharmaceuticals A HanbooK for Pharmacists. 2nd edition. USA: John Wiley and Sons; 1999: 509-516.

14. Sharma P., Garg K, Narang A. A preliminary study on pharmacokinetics of oral indomethacin in premature infants in north India. Indian J Med Res (India). 2003; 117: 164-169.

15. Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. 7a edición: México: El manual moderno; 1999: 316-321, 1189.

16. Goodman Gilman A. Las bases Farmacológicas de la terapéutica Volumen 1. 9a edición: México; McGraw-Hill; 1996: 619-661.

17. Thompson PLM. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 48a Edición. México; 2009.

18. Ventura- Junca T.P:, González M.A., Arrizaga G.N. Indometacina en el tratamiento del ductus arterioso persistente en recién nacidos prematuros. Rev. Chil. Pediatr. (Chile) 1991; 62 (5); 293- 297.

19. Bautista S., Olaya P., Muñoz J, Ponce D´león F, Barbosa H. Estabilidad física y química de preparaciones liquidas extemporáneas elaboradas a partir de tabletas de captopril. Rev Col Cienc Quím Farm. 2003; 32 (1): 81- 86.

20. Timmins J., BHPharm, MRPharms, Barr A., DIPClinPharm. Paediatric hospital pharmacy practice- Current issues. Pharm J (USA) 1999; 6 : 134- 138.

21. Tuleu C., Marques J., Yeung V., Wong I. Extemporaneous manipulation of drugs in a paedriatric hospital pharmacy: an audit. IJPP (UK) 2003; 11: R78.

22. Tejera R. L., Suarez C. P., Antúnez J.M., Falcón G.H. Ductus arterioso persistente en el prematuro. Protocolos, diagnósticos y terapéuticos en Cardiología Pediátrica (España) 2008; 33: 1- 8.