



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **ESTUDIO DE ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA DE UNA PREPARACIÓN EXTEMPORÁNEA ELABORADA A PARTIR DE TABLETAS DE ESPIRONOLACTONA, PARA USO PEDÍATRICO**

**Katherine Lissette Maldonado Julio**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Departamento de Farmacia

Bogotá, Colombia

2014

# **ESTUDIO DE ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA DE UNA PREPARACIÓN EXTEMPORÁNEA ELABORADA A PARTIR DE TABLETAS DE ESPIRONOLACTONA, PARA USO PEDÍATRICO**

**Katherine Lissette Maldonado Julio**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias Farmacéuticas**

Director:

Ph.D Helber Barbosa Barbosa

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Departamento de Farmacia

Bogotá, Colombia

2014

*A Heriberto Julio Cuadrado que aunque no está ahora a mi lado permanece en mi corazón, a ti que desde donde estas celebras mis triunfos, a ti que me guías y me acompañas a cada momento.*



## **Agradecimientos**

A Dios, que no me abandona y cuida mi andar, a El gracias todos los días de mi vida por acompañarme en esta lucha.

A mi abuelo, porque aunque ya no está presente camina conmigo, a él que me dio el ejemplo y las ganas de seguir y crecer cada día.

A mi Familia, por el amor, por la comprensión, por ser mis guías y mis mejores amigos, a ellos gracias por las bases puestas en mí, para ser quien soy hoy.

A mi esposo, por su apoyo incesante, por su paciencia, por su amor.

A Helber Barbosa, mi Director de Tesis por su eterna paciencia, insistencia y apoyo incondicional.

A la Universidad Nacional y Universidad del Atlántico, por permitir mi crecimiento personal, profesional y académico, gracias por los conocimientos adquiridos.

A mis amigos, por alimentar mis ganas, por ayudarme a levantarme en cada caída.

A Procaps S.A.S. y a mis jefes por haber hecho posible la realización de este proyecto en todos los aspectos, tanto económicos como instrumentales y de infraestructura.

A mis compañeros de trabajo, gracias por su ayuda, sin ustedes tampoco habría sido posible.

A todos gracias por contribuir al desarrollo de este reto.

## Resumen

La espironolactona es un antagonista de la aldosterona que actúa en el túbulo distal renal e incrementa la excreción de sodio y agua reduciendo la eliminación de potasio. En pediatría, se ha utilizado por más de 40 años para tratar la insuficiencia cardiaca asociada con enfermedad cardiaca congénita y para aliviar la congestión pulmonar en los recién nacidos con enfermedad pulmonar crónica. A pesar de la frecuencia de su uso en niños, existen pocos estudios que documentan su eficiencia y seguridad.

La elaboración de una preparación extemporánea de espironolactona a partir de tabletas, ha sido una alternativa en la práctica hospitalaria, por presentar ventajas como permitir la individualización de la dosis para los pacientes que lo requieran y poder cumplir los tratamientos establecidos, evitando así los errores de dosificación cuando se administran dosis por fractura de tabletas.

En la presente investigación se validó una metodología analítica por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siendo ésta, selectiva, lineal, precisa y exacta, para la cuantificación del ingrediente activo. Posteriormente se realizó el estudio de estabilidad de preparaciones líquidas extemporáneas para administración por vía oral en pacientes pediátricos, elaboradas a partir de tabletas de espironolactona, utilizando dos solventes de uso común en hospitales. Vehículo 1: agua estéril y vehículo 2: dextrosa al 5%. Las muestras se almacenaron, durante 15 días a  $5^{\circ}\text{C}$  y  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Durante el estudio se realizaron mediciones de pH y observación de las características organolépticas de las suspensiones, las cuales no presentaron alteración durante el tiempo de estudio, indicando que se mantiene la estabilidad física de la preparación extemporánea.

El porcentaje de degradación de la espironolactona fue de un 7.71% para la preparación en agua estéril a  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , y 8.05% a  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , Para el vehículo 2, dextrosa al 5% el porcentaje de degradación fue de 6.23% a  $5^{\circ}\text{C}$  y de 7.44% a  $30^{\circ}\text{C}$ .

Los resultados indicaron que el factor temperatura tiene una incidencia en el proceso de degradación de la suspensión, ya que las suspensiones almacenadas a  $30^{\circ}\text{C}$  arrojaron los mayores porcentajes de degradación por lo que se recomendó almacenamiento en refrigeración. Los vehículos, muestran diferencias entre ellos, siendo la solución de dextrosa el vehículo donde se presenta menos degradación en comparación con el vehículo compuesto solo por agua. Se observó que la principal vía de degradación fue la hidrólisis, por lo que hubo un aumento de pH en 2 unidades, que fue de 5.2 a 7.2 durante el tiempo de estudio. Los 3 lotes evaluados se comportaron de manera similar.

**Palabras clave:** preparación extemporánea – estabilidad – espironolactona – preparación pediátrica extemporánea.

## Abstract

Spironolactone is an aldosterone antagonist which acts at the distal renal tubules and increases the excretion of sodium and water reducing the elimination of potassium. In pediatrics, it has been used for over 40 years to treat heart failure associated with congenital heart disease and to relieve pulmonary congestion in infants with chronic lung disease. Despite the frequency of its use in children, there are few studies documenting its effectiveness and safety.

The preparation of an extemporaneous preparation spironolactone from tablets has been an alternative in hospital practice, to present advantages and allow individualization of dosage for patients who require it and meet established treatments, thus avoiding errors dosing when doses are administered broken tablets.

In the present investigation an analytical methodology for high resolution liquid chromatography (HPLC), this being selective, linear, precise and accurate for the quantification of the active ingredient was validated. Subsequently the stability study Extemporaneous liquid preparations for administration oral was performed in pediatric patients , prepared from tablets spironolactone , using two solvents commonly used in hospitals. Vehicle 1: sterile water and vehicle 2: dextrose 5%. The samples were stored for 15 days at 5°C and 30°C ± 2°C.

During the study of pH measurements and observation of the organoleptic characteristics of the suspensions, which didn't show change during the study period, indicating that the physical stability of the extemporaneous preparation remains were made.

The percentage of degradation of a Spironolactone was 7.71% for the preparation in sterile water at 5 ° C ± 2 ° C , and 8.05 % at 30 ° C ± 2 ° C for the vehicle 2 , 5% dextrose percentage degradation was 6.23 % to 5 ° C and 7.44 % at 30 ° C.

The results indicated that the temperature factor has an impact on the degradation process of the suspension, and the suspensions stored at 30 ° C yielded the highest percentages of degradation so refrigerated storage is recommended . Vehicles show

differences between them, being the vehicle dextrose where less degradation occurs in comparison with the vehicle consisting of water alone. It was observed that the major route of degradation was the hydrolysis, so there was an increase of pH by 2 units, which was 5.2 to 7.2 during the study time. The 3 batches tested behaved similarly.

**Keywords:** extemporaneous preparation - stability - Spironolactone - pediatric Extemporaneous preparation.



## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 2-1.</b> Estructura química de la espironolactona.....	24
<b>Figura 3-1.</b> Esquema de linealidad del método y del sistema.....	41
<b>Figura 4-1.</b> Cromatograma correspondiente a la hidrólisis ácida con HCl 1N.....	46
<b>Figura 4-2.</b> Cromatograma correspondiente la hidrolisis básica con NaOH 1N.....	47
<b>Figura 4-3.</b> Cromatograma correspondiente a la degradación oxidativa.....	48
<b>Figura 4-4.</b> Cromatograma correspondiente a la degradación con calor (80°C x 3Horas).....	48
<b>Figura 4-5.</b> Cromatograma del agua estéril.....	49
<b>Figura 4-6.</b> Cromatograma de solución diluyente.....	49
<b>Figura 4-7.</b> Cromatograma de dextrosa al 5%.....	49
<b>Figura 4-8.</b> Cromatograma del placebo de la tableta.....	49
<b>Figura 4-9.</b> Cromatograma del metanol.....	49
<b>Figura 4-10.</b> Curva de calibración de la linealidad del sistema.....	51
<b>Figura 4-11.</b> Curva de calibración de la linealidad del método.....	52
<b>Figura 4-12.</b> Gráfico de los residuales para linealidad del sistema.....	54
<b>Figura 4-13.</b> Gráfico de los residuales para linealidad del método.....	54
<b>Figura 4-14.</b> Gráfico de regresión para agua estéril a 5°C.....	71
<b>Figura 4-15.</b> Gráfico de regresión para agua estéril a 30°C.....	71
<b>Figura 4-16.</b> Gráfico de regresión para dextrosa al 5% a 5°C.....	72
<b>Figura 4-17.</b> Gráfico de regresión para dextrosa al 5% a 30°C.....	72

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 4-1.</b> Datos de idoneidad del sistema.....	45
<b>Tabla 4-2.</b> Datos de linealidad del sistema.....	50
<b>Tabla 4-3.</b> Prueba t de Student para la linealidad del sistema.....	51
<b>Tabla 4-4.</b> Prueba F de Fisher y ANOVA para la linealidad del sistema.....	51
<b>Tabla 4-5.</b> Datos de la linealidad del método.....	52
<b>Tabla 4-6.</b> Prueba t de Student para la linealidad del método.....	53
<b>Tabla 4-7.</b> Prueba F de Fisher y ANOVA para linealidad del método.....	53
<b>Tabla 4-8.</b> Datos para la repetibilidad del sistema.....	55
<b>Tabla 4-9.</b> Datos para repetibilidad del método.....	56
<b>Tabla 4-10.</b> Datos para la precisión intermedia.....	56
<b>Tabla 4-11.</b> Prueba F de Fisher y ANOVA para la precisión intermedia.....	57
<b>Tabla 4-12.</b> Datos para la exactitud.....	57
<b>Tabla 4-13.</b> Prueba t de Student para la exactitud.....	58
<b>Tabla 4-14.</b> Prueba G de Cochran para la exactitud.....	58
<b>Tabla 4-15.</b> Datos de estabilidad a tiempo cero.....	59
<b>Tabla 4-16.</b> Datos de estabilidad a 12h.....	60
<b>Tabla 4-17.</b> Datos de estabilidad a 24h.....	61
<b>Tabla 4-18.</b> Datos de estabilidad a 48h.....	62
<b>Tabla 4-19.</b> Datos de estabilidad a 72h.....	63

<b>Tabla 4-20.</b> Datos de estabilidad a 168h.....	64
<b>Tabla 4-21.</b> Datos de estabilidad a 360h.....	65
<b>Tabla 4-22.</b> Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en agua a 5°C.....	66
<b>Tabla 4-23.</b> Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en agua a 30°C.....	66
<b>Tabla 4-24.</b> Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en dextrosa a 5°C.....	67
<b>Tabla 4-25.</b> Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en dextrosa a 30°C.....	67
<b>Tabla 4-26.</b> Prueba F de Fisher para el vehículo 1 (agua estéril) a 5°C.....	68
<b>Tabla 4-27.</b> Prueba F de Fisher para el vehículo 1 (agua estéril) a 30°C.....	68
<b>Tabla 4-28.</b> Prueba F de Fischer para el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 5°C.....	68
<b>Tabla 4-29.</b> Prueba F de Fischer para el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 30°C.....	68
<b>Tabla 4-30.</b> Datos de Y regresión, Y límite superior y Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 1 (agua estéril) a 5°C.....	69
<b>Tabla 4-31.</b> Datos de Y regresión, Y límite superior y Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 1 (agua estéril) a 30°C.....	69
<b>Tabla 4-32.</b> Datos de Y regresión, Y límite superior y Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 5°C.....	70
<b>Tabla 4-33.</b> Datos de Y regresión, Y límite superior y Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 30°C.....	70
<b>Tabla 4-30.</b> Datos de la estabilidad física.....	73

## Lista de Símbolos y abreviaturas

<i>FDA:</i>	Food and Drugs administration
<i>HPLC:</i>	High Performance Liquid chromatography
<i>NYHA:</i>	New York Heart Association
<i>ATC:</i>	Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system
<i>NP-HPLC:</i>	Normal Phase-HPLC
<i>RP-HPLC:</i>	Reverse Phase-HPLC
<i>RSD:</i>	Relative Standard Desviation
<i>CV:</i>	Coeficiente de variación
<i>USP:</i>	Unirte States Pharmacopeia
<i>IFA:</i>	Ingrediente farmaceutico activo
<i>pH:</i>	Potencial de hidrogeno

# Contenido

	<b>Pág.</b>
Resumen y abstract	
Lista de figuras	
Lista de tablas	
Lista de símbolos y abreviaturas	
Introducción.....	19
Capítulo I. Objetivos.....	21
1.1. Objetivo general.....	21
1.2. Objetivos específicos.....	21
Capítulo II. Marco Teórico.....	22
2.1. Preparaciones extemporáneas.....	22
2.1.1. Inestabilidad química.....	23
2.1.2. Inestabilidad microbiológica.....	23
2.1.3. Inestabilidad física.....	24
2.2. Espironolactona.....	24
2.2.1. Aspectos Químicos de la Espironolactona.....	24
2.2.2. Aspectos farmacológicos.....	25
2.2.2.1. Indicaciones.....	25
2.2.2.2. Propiedades Farmacológicas.....	25

2.2.2.3. Propiedades Farmacocinéticas.....	26
2.2.2.4. Dosis y vía de administración.....	28
2.2.2.5. Presentaciones disponibles en Colombia.....	28
2.3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	28
2.3.1. Cromatografía de fase normal.....	29
2.3.2. Cromatografía de fase reversa.....	30
2.3.3. Cromatografía de exclusión molecular.....	30
2.3.4. Cromatografía de intercambio iónico.....	30
2.3.5. Cromatografía basada en bioafinidad.....	31
2.4. Validación.....	32
2.4.1. Selectividad o especificidad.....	32
2.4.2. Linealidad.....	33
2.4.3. Precisión.....	33
2.4.4. Exactitud.....	34
2.4.5. Límite de detección.....	34
2.4.6. Límite de cuantificación.....	35
2.5. Estado del arte.....	36
Capítulo III. Materiales y Métodos.....	39
3.1. Estandarización del método.....	39
3.1.1. Condiciones cromatográficas.....	39
3.1.2. Soluciones empleadas.....	39
3.1.2.1. Hidróxido de sodio 1N.....	39
3.1.2.2. Solución diluyente.....	40
3.1.2.3. Ácido clorhídrico 1N.....	40
3.1.2.4. Peróxido de hidrogeno al 10%.....	40
3.1.3. Idoneidad del sistema.....	40
3.2. Validación de la metodología analítica.....	40
3.2.1. Selectividad.....	40

3.2.1.1. Frente a los excipientes.....	40
3.2.1.2. Frente a los compuestos de degradación.....	40
3.2.2. Linealidad.....	41
3.2.2.1. Del sistema.....	41
3.2.2.2. Del método.....	41
3.2.3. Precisión.....	42
3.2.3.1. Repetibilidad.....	42
3.2.3.2. Precisión intermedia.....	42
3.2.4. Exactitud.....	42
3.2.5. Estándares y reactivos.....	42
3.2.6. Materiales y equipos.....	43
3.2.6.1. Materiales.....	43
3.2.6.2. Equipos.....	43
3.3. Estudios de estabilidad.....	43
3.4. Elaboración del protocolo de preparación de la solución extemporánea.....	44
Capítulo IV. Resultados y Discusión.....	45
4.4. Estandarización del método.....	45
4.1.1. Idoneidad del sistema.....	45
4.2. Validación de la metodología.....	46
4.2.1. Selectividad:.....	46
4.2.1.1. Frente a los compuestos de degradación.....	46
4.2.1.2. Frente a los excipientes.....	48
4.2.2. Linealidad del sistema.....	50
4.2.3. Linealidad del método.....	51
4.2.4. Precisión.....	55
4.2.4.1. Repetibilidad del sistema.....	55
4.2.4.2. Repetibilidad del método:.....	55

4.2.4.3. Precisión intermedia:.....	56
4.2.5. Exactitud.....	57
4.3. Estudios de estabilidad de la preparación extemporánea.....	58
4.3.1. Estabilidad Química.....	59
4.3.2. Estabilidad física.....	74
4.4 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea.....	77
4.4.1. Propósitos.....	77
4.4.2. Consideraciones importantes.....	78
4.4.3. Materiales.....	78
4.4.4. Materia prima.....	78
4.4.5. Procedimiento.....	78
4.4.5.1. Alistamiento de los materiales posterior a la recepción de la solicitud por parte del médico prescriptor.....	78
4.4.5.2. Preparación de la suspensión.....	78
4.4.5.3. Acondicionamiento del producto.....	78
4.4.5.4. Recomendaciones.....	79
Conclusiones y recomendaciones.....	81
Conclusiones.....	81
Recomendaciones.....	82
Bibliografía	
Anexos	

## Introducción

En la actualidad, existen formas farmacéuticas que han evolucionado tecnológicamente, con el fin de mejorar la entrega de fármacos, para reducir efectos adversos y hacerlos más efectivos. Sin embargo, aún existe la limitación de la dosificación y el uso de medicamentos en pediatría, lo que en el ámbito clínico y hospitalario ha llevado al farmacéutico a adecuar la forma de entrega, generalmente sólida en forma de tableta y hacer asequible su administración en niños. Una preparación extemporánea es aquella que implica la manipulación de una determinada forma farmacéutica para facilitar su uso o administración al paciente, lo cual se puede lograr por dilución, reconstitución para uso inmediato o por cortos períodos. Usualmente, las formulaciones extemporáneas líquidas son más fáciles de administrar y poseen más flexibilidad para su dosificación. Cada preparación debe contener excipientes que aseguren la estabilidad física y química de las preparaciones.

La espironolactona es un antagonista de la aldosterona que actúa en el túbulo distal renal e incrementa la excreción de sodio y agua reduciendo la eliminación de potasio. En pediatría, está indicado para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca asociada con enfermedad cardíaca congénita y para aliviar la congestión pulmonar en los recién nacidos con enfermedad pulmonar crónica. A pesar de la poca documentación existente, la eficacia de este fármaco ha permitido su uso y su posterior manipulación para la obtención de preparaciones para adecuarlas a una vía de administración y a un paciente pediátrico en particular.

En Colombia, como en muchos otros países el principal problema de estas preparaciones extemporáneas es que no existe información suficiente acerca de su estabilidad y de las condiciones de su almacenamiento. Es posible, que al transformar un medicamento que

viene en una forma farmacéutica exclusiva, se modifiquen sus propiedades físicas y químicas, por consiguiente la estabilidad del mismo.

Es necesario que en hospitales y clínicas existan protocolos para la preparación, uso y almacenamiento de los medicamentos que son modificados para su administración, con un respaldo científico que permita a los profesionales de la salud la seguridad de que el procedimiento ha sido verificado con los instrumentos y la técnicas precisas para establecer la condiciones de estabilidad de estas preparaciones

## **Capítulo I. Objetivos**

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

- 1.1.1. Determinar la estabilidad física y química de una preparación extemporánea líquida elaborada a partir de tabletas de espironolactona, para su uso en pediatría.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1.2.1. Validar la metodología analítica para la cuantificación de espironolactona por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) según la norma vigente.
- 1.2.2. Determinar la influencia del vehículo sobre la estabilidad de la preparación extemporánea.
- 1.2.3. Establecer el tiempo de vida útil de la preparación extemporánea.
- 1.2.4. Elaborar el protocolo para la preparación extemporánea espironolactona, así como las recomendaciones para su uso y almacenamiento.

## Capítulo II. Marco Teórico.

### 2.1. PREPARACIONES EXTEMPORANEAS

Dentro del ámbito hospitalario, las preparaciones magistrales se clasifican en formulaciones normalizadas y preparaciones extemporáneas. Las primeras son aquellas aprobadas por el comité de farmacia y terapéutica para uso general en el hospital. Las segundas son aquellas que no se preparan de forma rutinaria, sino solamente para atender las necesidades de un paciente específico. La transformación de estos medicamentos forma parte de una de las responsabilidades más antiguas del farmacéutico de hospital la cual se ve sustentada en las necesidades o requerimientos específicos de pacientes que por sus características no pueden hacer uso de formas farmacéuticas comercialmente disponibles. Por lo tanto es necesario recurrir a realizar un reenvasado, que es definido como el procedimiento por el cual un medicamento se envasa para que pueda ser administrado al paciente en las dosis prescritas por el médico y que deba reunir los siguientes requisitos:

- Contener una cantidad de fármaco para una sola toma.
- Proporcionar una adecuada protección del contenido frente a los agentes ambientales.
- Permitir una fácil y completa identificación.
- Permitir ser administrado directamente del envase sin necesidad de ninguna manipulación adicional. (Herreros, 1997; Borrás, Pérez, & Jiménez, 1999; Bonal & Domínguez, 1992).

#### 2.1.1. Inestabilidad química

Los fármacos en preparaciones extemporáneas líquidas pueden ser susceptibles a reacciones químicas que conducen a la degradación. Las reacciones más comunes son la hidrólisis, la oxidación y reducción. Por lo general, la velocidad o el tipo de reacción se ven influenciadas por el pH y otros factores que pueden aumentar la velocidad de reacción, como la presencia de trazas de metales que catalizan la oxidación o—la exposición a la luz que cataliza la degradación oxidativa. La tasa de degradación química

por lo general aumenta con la temperatura, un factor que es la base para los ensayos de estabilidad acelerada de formulaciones farmacéuticas. Las preparaciones a base de comprimidos contienen excipientes como aglutinantes y desintegrantes, los cuales pueden reducir la estabilidad del principio activo al cambiar el pH a un valor en el que se produce la degradación más rápidamente (Connors K A, Amidon G L, Stella V. J.1986).

El fármaco en una preparación extemporánea puede estar parcial o totalmente en solución o en estado sólido en suspensión. Si se encuentra en la solución es más susceptible a la degradación química que en el estado sólido en que se encuentra en una suspensión, pero no se puede asumir en todos los casos, que una preparación extemporánea en forma de suspensión es más estable que aquella en forma de solución.

### **2.1.2. Inestabilidad microbiológica**

El crecimiento microbiano en una preparación extemporánea puede causar mal olor y turbidez, afectando adversamente la apariencia y estabilidad. Además, un alto número de microorganismos pone en riesgo a los pacientes especialmente a los inmunodeprimidos. Los subproductos del metabolismo microbiano pueden causar un cambio en el pH de la preparación y reducir la estabilidad química y solubilidad del fármaco. La contaminación microbiana durante la preparación debe ser minimizada mediante el uso de equipo limpio, agua estéril y evitar la contaminación de materias primas y envases. Cuando se utiliza un conservante de la preparación extemporánea como el benzoato de sodio o el ácido benzoico es necesario considerar el pH final de la preparación, que debe ser inferior a 5 de manera que la forma no ionizada activa predomine, pero que a su vez no afecte la estabilidad (Hugo W B., Russell A D,1987).

Los sistemas de conservación requieren de una evaluación rigurosa, que rara vez se realiza en las preparaciones extemporáneas, ya que existen factores que pueden reducir la eficacia del preservativo como el uso de materiales contaminados, la degradación química, la unión del conservante con otros agentes de la suspensión, almacenamiento incorrecto o uso poco higiénico del producto final.

### 2.1.3. Inestabilidad física

Las preparaciones extemporáneas pueden ser susceptibles a la sedimentación de los fármacos insolubles y de los auxiliares de formulación, causando endurecimiento y dificultad para la redispersión, lo que conduce a dosificaciones erráticas. Es importante tener en cuenta el cambio de olor y color como manifestación de inestabilidad así como el cambio del pH y el posible impacto en la estabilidad.

En pediatría, este método de manipulación de los medicamentos para adecuarlos a una vía de administración o a una dosis específica, es el más utilizado en ámbito hospitalario y es una las formas más comunes de administrar las tabletas de Espironolactona, principio activo base de este estudio, para el tratamiento del edema pulmonar en niños.

## 2.2. ESPIRONOLACTONA

### 2.2.1. Aspectos Químicos de la espironolactona

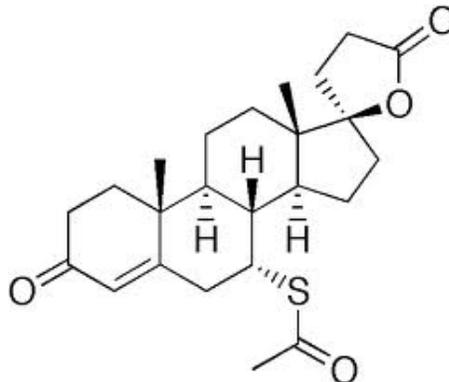


Figura 2-1. Estructura química de la espironolactona

- **Nombre químico:** Prepn-4-ene-21-carboxylic acid, 7-(acetylthio)-17-hydroxy-3-oxo-,  $\gamma$  lactone, (7 $\alpha$ ,17 $\alpha$ )-17Hydroxy-7 $\alpha$ -mercapto-3-oxo-17 $\alpha$ -pregn-4-ene-21-carboxylic acid  $\gamma$ -lactone acetate.
- **Estructura Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>S
- **Peso molecular:** 416.57g/mol
- **Numero CAS:** 52-01-7
- **pH estabilidad:** 3.5 – 6.5
- **Solubilidad:** es soluble en etanol (96%) y es insoluble en agua

## **2.2.2. Aspectos farmacológicos**

### **2.2.2.1. Indicaciones:**

La espironolactona se encuentra indicada en el tratamiento de la hipertensión esencial y el edema asociado con la insuficiencia cardíaca congestiva, el síndrome nefrótico y edema idiopático y en el diagnóstico del aldosteronismo primario. A través del bloqueo de los efectos conservadores de sodio de la aldosterona sobre los túbulos contorneados distales la espironolactona corrige uno de los mecanismos más importantes responsables de la formación del edema, si bien su eficacia depende de la presencia de la aldosterona. (Alfonso R. Gennaro, 2003)

### **2.2.2.2. Propiedades farmacológicas**

- **Mecanismo de acción:** Espironolactona es un antagonista específico de la aldosterona que actúa por bloqueo competitivo de los receptores intracelulares de la aldosterona a nivel renal y a nivel cardíaco. A nivel renal, produce disminución de la reabsorción de agua y sodio con ahorro de potasio y magnesio a nivel del túbulo contorneado distal y el túbulo colector. A nivel cardíaco, estudios básicos han demostrado una disminución de los niveles de noradrenalina miocárdicos (por aumento de la recaptación neuronal y extraneuronal) y disminución de la fibrosis cardíaca (por antagonismo de la acción de los fibroblastos). (Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud, 2009)
  
- **Actividad antagonista de la aldosterona:** Tanto en el hiperaldosteronismo primario como en el secundario se encuentran presentes niveles incrementados del mineralocorticoide aldosterona. Los estados edematosos en los cuales se encuentra implicado el hiperaldosteronismo secundario incluyen insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática y síndrome nefrótico. Al competir con los receptores de aldosterona, la espironolactona provee una terapéutica efectiva para el edema y la ascitis en estos síndromes. La espironolactona contrarresta el hiperaldosteronismo secundario inducido por la depleción de volumen y la pérdida asociada de sodio causada por la activa terapia

diurética. La espironolactona es efectiva disminuyendo las presiones sistólica y diastólica en pacientes con aldosteronismo primario y también, en la mayoría de los casos de hipertensión esencial, a pesar de que la secreción de aldosterona puede estar dentro de los límites normales en la hipertensión esencial benigna. A través de su acción antagonizando los efectos de la aldosterona, la espironolactona inhibe el intercambio de sodio por potasio en los túbulos distales renales y ayuda a prevenir la pérdida de potasio. No se ha demostrado que la espironolactona eleve el ácido úrico sérico, desencadene un ataque de gota o altere el metabolismo de los hidratos de carbono. (Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud, 2009)

- **Actividad en insuficiencia cardíaca:** Estudios clínicos en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva tratados con diuréticos de techo alto e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (el más importante de los cuales es el estudio RALES, Am.J.Cardiol 1996: 78; 902) han demostrado un antagonismo del escape de aldosterona cuando se agrega al tratamiento Espironolactona en dosis de 12,5 a 75 mg/día. En este estudio se observó aumento en la actividad plasmática de la renina, aumento de la excreción urinaria de aldosterona con disminución del péptido atrial natriurético y de la presión arterial. (Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud, 2009)

#### **2.2.2.3. Propiedades farmacocinéticas:**

- **Generalidades farmacocinéticas:** Espironolactona se absorbe bien por vía peroral, los alimentos no interfieren con su absorción, por lo que se recomienda ingerir la dosis 1 vez por día con el desayuno. Sufre un extenso metabolismo hepático. El efecto persiste durante 2 a 3 días luego de su administración oral. El inicio de acción comienza a las 3 horas de administrarse y el efecto pico ocurre a los 2 a 3 días. Con la administración crónica se aconseja ajustar la dosis cada 2 semanas (o como mínimo cada 5 días) para asegurar el efecto pleno del fármaco.
- **Farmacocinética específica:** La espironolactona se metaboliza rápida y extensamente. Los metabolitos predominantes son productos que contienen

azufre y se piensa que son los responsables principales, junto con la espironolactona, de los efectos terapéuticos del ingrediente activo. El metabolito más importante es la canrenona. Se desconoce la actividad de los metabolitos de la espironolactona en el hombre; sin embargo, en la rata adrenalectomizada las actividades antiminerlocorticoides de los metabolitos C, TMS, y HTMS, con respecto a la de la espironolactona, fueron de 1,10; 1,28; y 0,32, respectivamente. También con respecto a la espironolactona, la afinidad relativa por los receptores de aldosterona en cortes de riñón de rata fue de 0,19; 0,86; y 0,06, respectivamente. En humanos, las potencias de TMS y de 7 alfa-tioespironolactona en la reversión de los efectos del mineralocorticoide sintético fludrocortisona, en la composición electrolítica de la orina, fueron de 0,33 y de 0,26 respecto de la espironolactona. Sin embargo, teniendo en cuenta que no se determinaron las concentraciones séricas de estos esteroides, no se pudo descartar una absorción incompleta o metabolismo de primer pasaje como motivo para sus reducidas actividades in vitro.

Tanto la espironolactona como la canrenona se encuentran unidas a proteínas plasmáticas en más de un 90%. Los metabolitos se excretan primariamente por orina y secundariamente por bilis. En un estudio en el que se evaluaron los efectos de la comida sobre la absorción de la espironolactona en 9 voluntarios sanos, se observó que la comida incrementa la biodisponibilidad de la espironolactona no metabolizada en casi un 100%. Se desconoce la importancia clínica de este hallazgo. La espironolactona y sus metabolitos pueden cruzar la barrera placentaria y la canrenona se excreta por leche. (Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud, 2009)

#### **2.2.2.4. Dosis y vía de administración**

Para adultos, puede administrarse en dosis divididas o como una dosis diaria única. En la hipertensión esencial, la dosis usual en adultos es de 50 a 100 mg al día en casos severos se puede aumentar gradualmente a intervalos de dos semanas hasta 200 mg/día. En la insuficiencia cardiaca congestiva, la dosis usual en adultos es de

100mg/día. En caso de cirrosis, si la relación  $Na^+/K^+$  es mayor de 1.0, la dosis usual en adultos es de 100 mg/día. Si la relación es menor de 1.0, la dosis usual en adultos es de 200 a 400 mg/día. La dosis de mantenimiento debe determinarse individualmente.

**Edema en niños:** La dosis inicial es de 3 mg/kg de peso corporal en dosis divididas. La dosificación debe ajustarse con base en la respuesta y la tolerancia. Si es necesario se puede preparar una suspensión pulverizando las tabletas de Espironolactona con unas cuantas gotas de glicerina y agregando jarabe de cereza.

Para el tratamiento de las hipocaliemia / hipomagnesemia: 25 a 100 mg diarios pueden ser útiles en el tratamiento de hipocaliemia y/o hipomagnesemia inducida por diuréticos cuando los suplementos orales de potasio y/o magnesio son considerados como inadecuados. (Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud, 2009)

#### **2.2.2.5. Presentaciones disponibles en Colombia**

Existen tabletas con 25mg y con 100mg de espironolactona

### **2.3. CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION (HPLC)**

La Cromatografía líquida de alta eficacia o High performance liquid chromatography (HPLC) es un tipo de cromatografía en columna utilizada frecuentemente en bioquímica y química analítica. También se la denomina a veces Cromatografía líquida de alta presión o High pressure liquid chromatography (HPLC), aunque esta terminología se considera antigua y está en desuso. El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

En la HPLC isocrática el compuesto pasa por la columna cromatográfica a través de la fase estacionaria (normalmente, un cilindro con pequeñas partículas redondeadas con ciertas características químicas en su superficie) mediante el bombeo de líquido (fase móvil) a alta presión a través de la columna. La muestra a analizar es introducida en

pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. El tiempo que tarda un compuesto a ser eluido de la columna se denomina tiempo de retención y se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria. La utilización de presión en este tipo de cromatografías incrementa la velocidad lineal de los compuestos dentro la columna y reduce así su difusión dentro de la columna mejorando la resolución de la cromatografía. Los disolventes más utilizados son el agua, el metanol y el acetonitrilo. El agua puede contener tampones, sales, o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos.

Una mejora introducida a la técnica de HPLC descrita es la variación en la composición de la fase móvil durante el análisis, conocida como elución en gradiente. Un gradiente normal en una cromatografía de fase reversa puede empezar a un 5% de acetonitrilo y progresar de forma lineal hasta un 50% en 25 minutos. El gradiente utilizado varía en función de la hidrofobicidad del compuesto. El gradiente separa los componentes de la muestra como una función de la afinidad del compuesto por la fase móvil utilizada respecto a la afinidad por la fase estacionaria. (Castro R. et al 2004).

### **2.3.1. Cromatografía de fase normal**

La cromatografía de fase normal o "Normal phase HPLC" (NP-HPLC) fue el primer tipo de sistema HPLC utilizado en el campo de la química, y se caracteriza por separar los compuestos en base a su polaridad. Esta técnica utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil apolar, y se utiliza cuando el compuesto de interés es bastante polar. El compuesto polar se asocia y es retenido por la fase estacionaria. La fuerza de absorción aumenta a medida que aumenta la polaridad del compuesto y la interacción entre el compuesto polar y la fase estacionaria polar (en comparación a la fase móvil) aumenta el tiempo de retención.

La fuerza de interacción no sólo depende de los grupos funcionales del compuesto de interés, sino también en factores estéricos de forma que los isómeros estructurales a menudo se pueden diferenciar el uno del otro. La utilización de disolventes más polares en la fase móvil disminuye el tiempo de retención de los compuestos mientras que los disolventes más hidrofóbicos tienden a aumentar el tiempo de retención. (Helrich K. 1990).

### **2.3.2. Cromatografía de fase reversa**

La HPLC de fase reversa (RP-HPLC) consiste en una fase estacionaria apolar y una fase móvil de polaridad moderada. Una de las fases estacionarias más comunes de este tipo de cromatografía es la silica tratada con  $\text{RMe}_2\text{SiCl}$ , donde la R es una cadena alquil tal como  $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$  o  $\text{C}_8\text{H}_{17}$ . El tiempo de retención es mayor para las moléculas de naturaleza apolar, mientras que las moléculas de carácter polar eluyen más rápidamente.

El tiempo de retención aumenta con la adición de disolvente apolar a la fase móvil y disminuye con la introducción de disolventes más hidrofóbicos. La cromatografía de fase reversa es tan utilizada que a menudo se lo denomina HPLC sin ninguna especificación adicional. La cromatografía de fase reversa se basa en el principio de las interacciones hidrofóbicas que resultan de las fuerzas de repulsión entre un disolvente relativamente polar, un compuesto relativamente apolar, y una fase estacionaria apolar. (Helrich K. 1990).

### **2.3.3. Cromatografía de exclusión molecular**

La cromatografía de exclusión molecular, también conocida como cromatografía por filtración en gel, separa las partículas de la muestra en función de su tamaño. Generalmente se trata de una cromatografía de baja resolución de forma que se suele utilizar en los pasos finales del proceso de purificación. También es muy útil para la determinación de la estructura terciaria y la estructura cuaternaria de las proteínas purificadas.

La cromatografía de filtración molecular es un método de cromatografía en columna por el cual las moléculas se separan en solución según su peso molecular, o más precisamente, según su radio de Stokes.

En esta cromatografía, la fase estacionaria consiste en largos polímeros entrecruzados que forman una red tridimensional porosa. A los fines prácticos, las columnas se empaquetan con pequeñas partículas esféricas formadas por esos polímeros entrecruzados. En consecuencia, estas partículas son porosas, y el tamaño de los poros es tal que algunas moléculas (las demasiado grandes) no podrán ingresar a esos poros, en tanto que otras (las suficientemente pequeñas) podrán pasar libremente. Los poros quedan conectados formando una malla o red, lo cual determina una serie de caminos a ser recorridos por las moléculas que acceden al interior de esta. (Helrich K. 1990).

#### **2.3.4. Cromatografía de intercambio iónico**

En la cromatografía de intercambio iónico, la retención se basa en la atracción electrostática entre los iones en solución y las cargas inmovilizadas a la fase estacionaria. Los iones de la misma carga son excluidos mientras que los de carga opuesta son retenidos por la columna. Algunos tipos de intercambiadores iónicos son: i) Resinas de poliestireno, ii) intercambiadores iónicos de celulosa y dextranos (geles) y iii) Sílica porosa o vidrio de tamaño de poro controlado. En general los intercambiadores iónicos favorecen la unión de iones elevada carga y radio pequeño. Un incremento en la concentración del contraión (respeto a los grupos funcionales de la resina) reduce el tiempo de retención. Un incremento en el pH reduce el tiempo de retención en las cromatografías de intercambio catiónico mientras que una disminución del pH reduce el tiempo de retención en las cromatografías de intercambio aniónico. (Helrich K. 1990).

#### **2.3.5. Cromatografía basada en bioafinidad**

Este tipo de cromatografía se basa en la capacidad de las sustancias biológicamente activas de formar complejos estables, específicos y reversibles. La formación de estos complejos implica la participación de fuerzas moleculares como las interacciones de Van

der Waals, interacciones electrostáticas, interacciones dipolo-dipolo, interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno entre las partículas de la muestra y la fase estacionaria. (Helrich K. 1990).

Los métodos analíticos e instrumentales deben ser soportados por la verificación de determinados parámetros, en la que los requisitos especificados para estos, demuestran que el método es idóneo para un uso previsto. (Referencia: VIM, International Vocabulary for Basic and General Terms in Metrology: 2007)

#### **2.4. VALIDACION**

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficientemente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de los intervalos definidos. (Fernandez A., Aguilera Y., Morales I. y Alonso E. 2002)

La validación proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico y se realiza con carácter obligatorio cuando se desarrolla un nuevo procedimiento, ya que permite asegurar que el método propuesto hace lo que tiene que hacer. (Calpena AC., Escribano E., Fernandez C.1990)

Es necesario señalar que los métodos descritos en farmacopea u otros textos oficiales se consideran validados, aunque debe aclararse que ellos se refieren solamente a métodos generales y a materias primas. Estos no precisan de validación, aunque deben ser comprobados antes de su utilización rutinaria con la verificación de la idoneidad en la condiciones de laboratorio. Sin embargo, para el caso de las formas farmacéuticas terminadas, que pueden variar su composición cualitativa y cuantitativa según el fabricante habrá que proceder en cada caso a la validación del método analítico, para demostrar la aplicabilidad de estos métodos que no tienen en cuenta todos los posibles excipientes de una forma farmacéutica, será necesario, por lo menos, efectuar una validación abreviada que evalúe que la especificidad, exactitud y precisión son adecuadas. (Fernández A., Aguilera Y., Morales I. y Alonso E. 2002)

#### **2.4.1. Selectividad o especificidad**

Este parámetro se refiere a la propiedad del método de producir una señal medible debida solo a la presencia del analito, libre de interferencia de otros componentes, en la matriz de la muestra. Estos componentes pueden ser excipientes de un fármaco, productos de degradación, subproductos o productos laterales de síntesis de un fármaco, metabolitos del mismo analito en un fluido biológico, etc.

En el caso del análisis de un fármaco, resulta de gran utilidad contar con las materias primas, subproductos de síntesis y productos de degradación. De ser así, la selectividad puede controlarse simplemente por la adición de, por ejemplo, 1% de cada posible interferente al estándar del fármaco, verificando la separación cromatográfica. (Quattrocchi, De Andrizzi & Laba 1992)

#### **2.4.2. Linealidad**

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta. Además, conjuntamente se determina el rango lineal, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar la dosificación por interpolación en una curva estándar.

Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo. Normalmente el intervalo de concentraciones se utiliza entre el 50 y el 150% de la concentración de trabajo, aunque ello puede depender del tipo de ensayo. Se recomienda el trabajo con dos o más réplicas. (Fernández A., Aguilera Y., Morales I. y Alonso E. 2002)

Estas soluciones se inyectan al menos por duplicado y se determina la curva de regresión  $Y = bx + a$  sobre los puntos individuales de las réplicas sin promediar por el método de los cuadrados mínimos. Posteriormente se grafica para su documentación.

#### **2.4.3. Precisión**

La precisión describe la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas replicadas o medidas que se ha realizado exactamente de la misma forma. En general, la precisión de un método analítico se obtiene fácilmente mediante la simple repetición de la medida. (Skoog, Holler, & Nieman, 2001)

La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar,  $\sigma$ , estimada analíticamente por  $s$  o más comúnmente como la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV).

Generalmente la precisión se evalúa a tres niveles de concentración.

La precisión de un método analítico deberá estudiarse sobre:

**El sistema**, evaluando la dispersión de al menos 6 inyecciones del estándar.

**El método**, evaluando la dispersión de varias preparaciones de la muestra final homogénea. La evaluación corresponde a todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento. Así por ejemplo, resulta necesario considerar la imprecisión causada por las pesadas y las diluciones, factores frecuentemente olvidado.

En este caso, la precisión debe medirse en condiciones **repetitivas** (mismo analista, mismo día, mismo instrumento) y en condiciones **de precisión intermedia** (diferente analista, diferente día, diferente instrumento). (Quattrocchi, De Andrizzi, & Laba, 1992).

#### **2.4.4. Exactitud**

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado. No deben confundirse exactitud y precisión. La precisión esta relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da indicación de lo cerca que esta del valor verdadero se puede tener mediciones muy precisas pero no exactas, sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.

Según la ICH Q2A debe ensayarse la exactitud en métodos de análisis para la valoración en materia prima y en producto acabado y en métodos de análisis de cuantificación de impurezas.

La exactitud debe demostrarse en todo el rango especificado para el método analítico. Se recomiendan mínimo 9 determinaciones sobre 3 niveles de concentración que cubran el rango especificado, que podrían ser la concentración central y las concentraciones en los extremos del rango. Se expresara como porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra o como diferencia de la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza. (Validacion de métodos analíticos, AEFI, 2001)

#### **2.4.5. Límite de detección**

El límite de detección es la cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto, es comúnmente expresado como concentración del analito (Ministerio de salud CR, 1998)

#### **2.4.6. Límite de cuantificación**

El límite de cuantificación es la concentración más baja de analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables cuando se emplea el procedimiento exigido. Se mide mediante el análisis de muestras que contengan cantidades conocidas de analito en disminución, y la determinación del nivel más bajo al cual pueden alcanzarse grados aceptables de exactitud y precisión. Cuando la evaluación final se basa en la lectura Instrumental, tal vez sea necesario evaluar y tener en cuenta la magnitud de la respuesta de fondo (ruido). En muchos casos el límite de cuantificación es aproximadamente el doble que el de detección (Quattrocchi, De Andrizzi, & Laba, 1992)

## **2.5. ESTADO DEL ARTE**

Cuando hablamos de preparaciones extemporáneas, es necesario hacer un análisis retrospectivo de su utilización, y observar como esta práctica ha sido una alternativa por la que se ha optado desde hace mucho tiempo, manipular una forma farmacéutica específica para convertirla en otra, con el fin de adecuar una dosis o una vía de administración. Sabemos que principalmente este tipo de transformaciones se realizan a nivel de hospitales para el tratamiento de pacientes pediátricos, para quienes hay menos facilidad de dosis y de formas de entrega de medicamento. A continuación se observan algunos de esos estudios:

En el presente año, N. Provenza y colaboradores publicaron un estudio de estabilidad física y química de 4 formulaciones de suspensiones libres de alcohol, para su uso en pediatría. En el estudio, se evaluó la influencia de los excipientes en la liberación de Espironolactona en las suspensiones con concentración de 5mg/mL. Se compararon las estabildades físicas y químicas de las suspensiones almacenadas a 4, 25, y 40°C por periodo de 60 días. Se determinó la reología, tamaño de partícula, predicción de vida útil, pH y la cantidad de Espironolactona por HPLC. Se realizó además un perfil de disolución de cada formulación y se comparó con las tabletas comerciales. Químicamente, las suspensiones de Espironolactona fueron estables por 60 días almacenadas a las tres temperaturas, la suspensión IV tuvo un óptimo valor de pH. En cuanto a la estabilidad física, hubo sedimentación en la suspensión IV y flotación de la Espironolactona en la suspensión I, II y III, la suspensión III tuvo mayor viscosidad y una liberación más lenta. Se concluyó que la suspensión IV era la más estable y poseía las mejores propiedades, además su análisis microbiológico estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Se desarrolló y se evaluó una formulación extemporánea de propanofenona, se determinó su estabilidad y los niveles plasmáticos en sangre de tres pacientes pediátricos. Juárez O. y colaboradores, publicaron en el año 2009 este estudio, en el que realizaron una preparación extemporánea en forma de suspensión, a la cual se le realizó un estudio de estabilidad por HPLC a temperatura ambiente y refrigeración por 90 días y análisis microbiológico. Luego de confirmar su estabilidad química y microbiológica se

administraron dosis en 3 pacientes pediátricos: paciente 1 de 18 meses de edad, el paciente 2 de 3 años de edad y el paciente 3 de 9 años de edad. Se midieron sus niveles plasmáticos. En conclusión, el medicamento fue estable ya que mantuvo sus propiedades sin cambios importantes durante el tiempo esperado. Sin embargo, solo debe considerarse como opción temporal.

Ana C. Salgado y colaboradores, publicaron en el 2005, la investigación de un estudio de estabilidad de una preparación extemporánea líquida de Espironolactona, destacando la importancia de la calidad microbiológica de la misma. Se prepararon 12 suspensiones, utilizando tabletas del producto comercial para obtener una concentración de 2.5mg/mL, seis de ellas se dejaron sin preservativos y a las otras 6 se les adicionó 0.2%(w/v) de sorbato de potasio. Se almacenaron por 2 meses a 5 +/- 3°C y 22 +/-3°C y fueron analizadas para determinar su estabilidad química y microbiológica. Se utilizó una técnica por HPLC validada. Se observó que la espironolactona se degradó en un 5% y que fue susceptible de contaminación microbiana, ya que por ser jarabes, la presencia de la sucrosa hace a las formulaciones susceptibles de contaminación lo que reduce notablemente la estabilidad de las mismas. Según el estudio realizado, el uso de 0.2%(w/v) de sorbato de potasio previene la contaminación bacteriana y concluyen que la calidad microbiológica de una preparación extemporánea es crucial cuando el farmacéutico manipula las preparaciones extemporáneas.

Se estudió la estabilidad de preparaciones líquidas extemporáneas para administración peroral, elaborada a partir de tabletas de captopril de dos marcas comerciales del mercado Colombiano, codificadas como A y B utilizando solventes de uso común en hospitales. Bautista S. y colaboradores publicaron este artículo en el año 2003, y determinaron la estabilidad física y química de la preparación extemporánea de captopril almacenando muestras de vehículo 1 agua destilada + vitamina C (98:2)% y vehículo 2: dextrosa al 10% + vitamina C (98:2)% a 5°C, 25°C y 40°C y cuantificando la cantidad de fármaco presente por medio de una técnica por cromatografía líquida de alta resolución, previamente validada. Concluyeron que la temperatura menos favorable para la estabilidad de la preparación fue la de 40°C, el vehículo 1 que presentó un efecto mayor

sobre la degradación de fármaco en la preparación, y que las marcas no influyeron en el desarrollo del estudio ya que hubo un comportamiento similar entre los mismos.

## Capítulo III. Materiales y Métodos.

### 3.1. Estandarización del método:

Consta de información primaria, definición del sistema preliminar y ajuste de los parámetros cromatográficos.

#### 3.1.1. Condiciones cromatográficas:

Se desarrolló y validó la metodología analítica para cuantificar espironolactona en las suspensiones preparadas en dos vehículos de uso hospitalario, debido a que la USP 35 solo reporta método para la materia prima y la tableta. Se utilizaron las condiciones establecidas por la farmacopea para la tableta, sin hacer cambios considerables: Columna empaque L1 (C18) de 15cm x 4.6mm

Longitud de onda de 230nm

Flujo de 1.0mL/minuto

Volumen de inyección de 20uL

Fase móvil compuesta por metanol y agua en la proporciones 60:40, respectivamente.

#### 3.1.2. Soluciones empleadas:

**3.1.2.1. Hidróxido de sodio 1N:** Se pesó 10.8g de Hidróxido de Sodio Grado Reactivo y se disolvió en 100mL de agua. Se completó a volumen con 170mL del mismo diluyente.

**3.1.2.2. Solución diluyente:** Se mezcló agua con acetonitrilo grado reactivo en proporciones iguales.

**3.1.2.3. Ácido clorhídrico 1N:** Se diluyo 41.7mL con agua hasta 500mL.

**3.1.2.4. Peróxido de hidrogeno al 10%:** Se diluyo 167mL de Peróxido de Hidrogeno al 30% con agua hasta 500mL.

### **3.1.3. Idoneidad del sistema:**

Para verificar la idoneidad del sistema cromatográfico, se realizaron 6 inyecciones de la solución estándar de Espironolactona a una concentración de 0.5mg/mL y se verificó que: el factor de asimetría no sea mayor de 2.0 y la desviación estándar relativa de las inyecciones fuese no más de 1.5%, tal como lo exige la USP 35.

## **3.2. Validación de la metodología analítica:**

Determinada la idoneidad del sistema se procedió a la validación de cada uno de los siguientes parámetros.

### **3.2.1. Selectividad**

#### **3.2.1.1. Frente a los excipientes**

Para la determinación de este parámetro se preparó un placebo que contenía los excipientes presentes en la tableta y se suspendió en los dos vehículos a utilizarse en este estudio: dextrosa al 5% y agua estéril. Además se realizaron inyecciones de la fase móvil, la solución diluyente, y de cada vehículo por separado sin placebo.

#### **3.2.1.2. Frente a los compuestos de degradación:**

Se sometió la solución de espironolactona a 0.5mg/mL a varios procesos de degradación forzada, para determinar que no haya interferencias cuando se cuantifique el activo durante el estudio de estabilidad. Se prepararon las muestras a la concentración de estudio y fueron expuestas a las siguientes condiciones: 1mL de Hidróxido de sodio 1.0N, 1mL de Ácido Clorhídrico 1.0N, 1mL de peróxido de hidrogeno al 10%, y se calentó a 80°C por 3 horas. Cabe anotar, que se neutralizó el pH de cada muestra antes de ser aforadas con la solución diluyente.

### **3.2.2. Linealidad:**

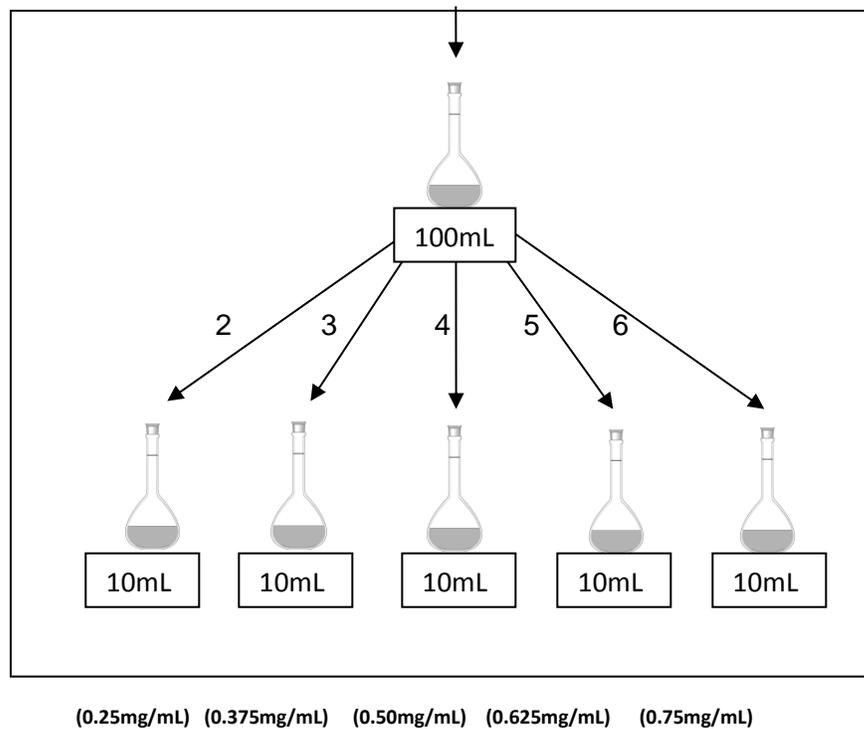
#### **3.2.2.1. Del sistema:**

La linealidad del sistema fue determinada, analizando soluciones preparadas con estándar secundario de Espironolactona en las siguientes concentraciones: 0.25, 0.375,

0.50, 0.625 y 0.75mg/mL. Se realizaron tres réplicas de cada nivel de concentración tal como lo indica la ICH.

### 3.2.2.2. Del método

Para determinar la linealidad del método se preparó la suspensión con placebo de la tableta cargado de estándar secundario de Espironolactona, a las mismas concentraciones de la linealidad del sistema. Se trabajó con 3 réplicas en cada nivel de la curva de calibración. Se prepararon 3 suspensiones madre y de cada una se tomaron las correspondientes alícuotas. Ver figura 3-1.



**Figura 3-1. Esquema de linealidad del método y del sistema**

### 3.2.3. Precisión

#### 3.2.3.1. Repetibilidad

Este parámetro se determinó, tanto para el método como para el sistema, realizando 6 inyecciones de las soluciones a concentraciones de 0.5mg/mL.

### **3.2.3.2. Precisión intermedia**

La precisión intermedia fue evaluada mediante el análisis de muestras preparadas por dos analistas en dos días diferentes. Cada día, cada analista preparo 3 réplicas de muestra de la siguiente manera: se tomaron 6 tabletas de Espironolactona de 25mg, se maceraron y se suspendieron cuidadosamente en 30mL de vehículo (dextrosa al 5% y agua estéril), se agito hasta homogeneizar. Se tomó una alícuota de 5mL, se transfirió a un matraz aforado de 50mL y se completó a volumen con solución diluyente. La concentración aproximada de cada muestra fue de 0.5mg/mL.

### **3.2.4. Exactitud**

La exactitud se obtuvo de las muestras preparadas para la linealidad, en los niveles de concentración de 50%, 100% y 150%.

### **3.2.5. Estándares y reactivos**

- Estándar secundario de Espironolactona lote: 0T00N091211. Concentración en base anhidra: 99.0%. Concentración en base es: 98.8%
- Agua estéril. Quibi S.A. Lote: 12K0745
- Metanol grado HPLC Merck Lote: I670207 304
- Acetonitrilo grado HPLC JT Baker Lote: M02C63
- Ácido clorhídrico fumante al 34% Merck Lote: K43975817 244
- Peróxido de hidrogeno al 30% Merck Lote: K43478610 241
- Hidróxido de sodio Lentejas. Merck Lote: B0868798 304
- Dextrosa al 5%. Baxter viaflex. Lote: SX11B17

### **3.2.6. Materiales y equipos**

#### **3.2.6.1. Materiales**

- Columna cromatográfica marca shodex C-18 (150 x 4.6) mm; 5um, No. P012570
- Material de vidrio (matraces aforados, pipetas volumétricas, beakers, erlenmeyer, frascos ámbar de 30mL, probetas, viales y reservorios para HPLC)

- Magnetos.
- Tapas rosca plásticas de 24mm
- Jeringas desechables
- Filtros de 0.45um

### **3.2.6.2. Equipos**

- Baño de calentamiento Brookfield Modelo: TC-402D Serial: BB10C0995.
- Equipo de Agua Direct Q8. Marca Millipore. Serial: F1JA92335B
- Cromatógrafo líquido de alta resolución marca Merck Hitachi Modelo: D-7000 Serial: 1337-45
- Balanza analítica XP205 Mettler Toledo.
- pH metro Seven Easy Mettler Toledo AG Serial: 1231285207-8603 Shiwerenbach Switzerland.
- Ultrasonido Branson 8510. Serial: 851OR-DTH.
- Nevera Sanyo Medicoool Modelo: MDR-414F. Serial: 60203423
- Agitador magnético RT15 P S1 marca Ika Works Inc. Serial: 03279448.

### **3.3. Estudios de estabilidad.**

- Previo a todo el estudio de estabilidad se realizó el control de calidad de las tabletas utilizadas para preparar los lotes de la preparación extemporánea. según la USP 35, el rango de aceptación para la valoración de las tabletas es de 95.0 – 105.0%, dentro del cual se encuentran los resultados obtenidos. Para el lote A: 100.2%, lote B: 100.1% y lote C: 99.9%.
- Para los estudios de estabilidad se utilizaron los siguientes vehículos:  
**Vehículo 1:** Agua estéril  
**Vehículo 2:** Dextrosa al 5%
- Preparación de la suspensión: Se tomaron 100 tabletas de Espironolactona de 25mg, y se transfirieron a un matraz aforado de 500mL, se adicionaron, 150mL de vehículo y se desintegraron con agitación constante por 30 minutos. Se aforaron

con el vehículo correspondiente. Este mismo procedimiento se realizó para cada lote y cada vehículo por separado.

- Concentración de la suspensión: 5.0mg/mL
- Almacenamiento: Se almacenaron las muestras a 30°C y 5°C, en frascos de vidrio color ámbar con tapa rosca plástica.
- Tiempo de muestreo: 12h, 24h, 48h, 72h, 168h, 360h.
- El estudio de estabilidad física es inherente al estudio de estabilidad química, en cada muestreo se realizaron mediciones de pH y descripciones de las características organolépticas como son color y olor.

#### **3.4. Elaboración del protocolo de preparación de la solución extemporánea.**

El protocolo de preparación de la solución extemporánea se elaboró una vez determinado el vehículo, las condiciones de pH y temperatura a la cual es más estable y fueron además establecidas las recomendaciones para su almacenamiento y su uso.

## Capítulo IV. Resultados y Discusión

### 1.1. Estandarización del método

A continuación se presentan los resultados y la discusión de los diferentes parámetros de validación del método analítico para la cuantificación de la Espironolactona en la preparación extemporánea. Igualmente los datos y discusión del estudio de estabilidad de la misma, expuesta a las condiciones de estudio

#### 4.1.1. Idoneidad del sistema

En la tabla 4-1, se encuentran referenciados los valores correspondientes a los parámetro establecidos para definir si el sistema es idóneo, para cada una de las inyecciones del estándar de Espironolactona para una concentración de 0.5 mg/mL

Inyección	Tiempo de retención	Área	K'	Platos teóricos	Asimetría
1	10,21	8303121	5,23	4828	1,25
2	10,23	8309163	5,24	4921	1,24
3	10,19	8291628	5,19	4858	1,25
4	10,21	8328947	5,21	4869	1,26
5	10,22	8270311	5,24	4889	1,24
6	10,23	8300013	5,22	4838	1,24
Promedio	10,22	8300531	5,22	4867	1,25
SD	0,02	19398,29	0,02	34,20	0,01
CV	0,16	0,23	0,37	0,70	0,65

**Tabla 4-1.** Datos idoneidad del sistema

Mediante la observación y análisis de los datos de tiempo de retención, área, factor de capacidad, platos teóricos y asimetría, obtenidos a partir de los cromatogramas para la idoneidad del sistema, se puede decir que cumple con los parámetros establecidos por la USP 35, por tanto es un sistema confiable para utilizarlo en la validación y análisis de la metodología para la cuantificación de espironolactona.

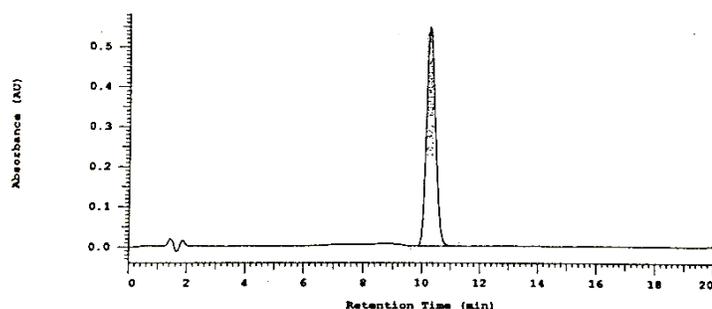
## 4.2. Validación de la metodología

### 4.2.1. Selectividad:

#### 4.2.1.1. Frente a los compuestos de degradación.

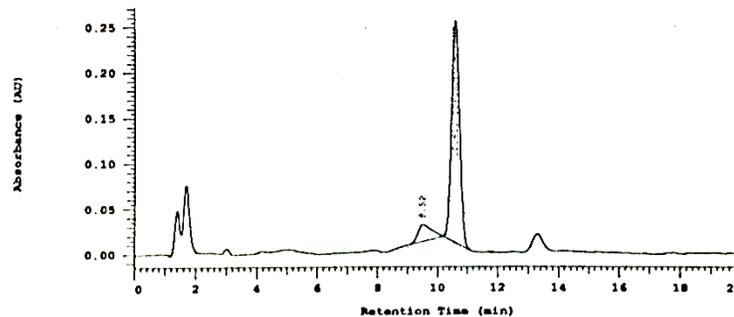
Se sometieron las muestras de Espironolactona a condiciones de degradación : hidrólisis ácida, básica, degradación con calor y oxidación.

▪ **Hidrólisis ácida:** Al analizar el cromatograma correspondiente a la degradación de la solución con ácido clorhídrico 1N, se observó que no se produjo un cambio significativo en el mismo, ni señales diferentes a la correspondiente al analito en estudio. La Espironolactona tiene un tiempo de retención de 10 minutos y una intensidad de 0.5 AU aproximadamente. Es fácil observar que no hay más señales diferentes al pico del principio activo y el frente de solvente. Figura 4-3.



**Figura 4-1.** Cromatograma correspondiente a la hidrólisis ácida con HCl 1N.

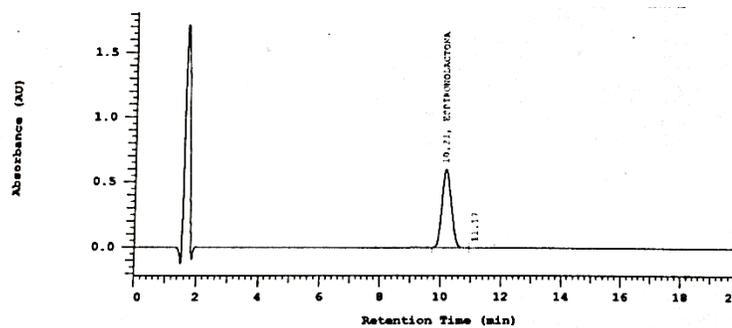
▪ **Hidrólisis básica:** El cromatograma obtenido de la degradación con Hidróxido de sodio evidencian la disminución del área del pico de la Espironolactona significativamente, la diferencia entre las áreas es del 65% con respecto al área del pico en la muestra en condiciones normales y se puede observar además que la intensidad del pico disminuyó notablemente. Cabe anotar que durante el proceso preparación de la muestra de degradación, al adicionar 1mL de la solución de Hidróxido de Sodio 1N a los 4mL de solución de trabajo se produjo una coloración amarilla intensa que desapareció al neutralizar.



**Figura 4-2.** Cromatograma correspondiente a la hidrolisis basica con NaOH 1N.

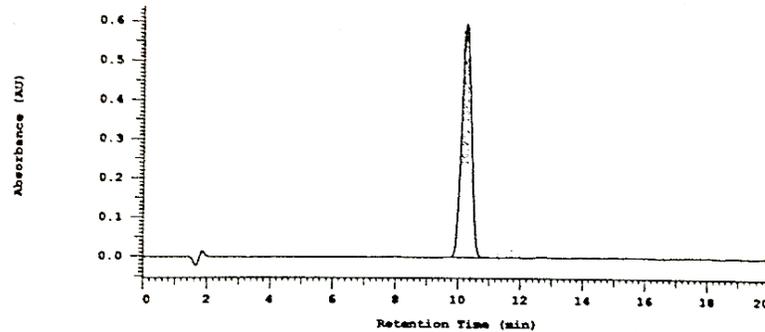
En la Figura 4-2, aparece una señal a los 13.32 minutos que tiene un espectro parecido al de Espironolactona y según la literatura es muy probable que sea el producto de degradación más importante de este activo, que es la canrenona o impureza F, el cual reporta un tiempo de retención relativo de 1.2 con respecto al pico de estudio. (British Pharmacopeia, 2012). A los 9.52 minutos se observa otra señal que a diferentes longitudes de onda no mostro un espectro que coincidiera con el espectro de la Espironolactona. Los picos que se encuentran en el cromatograma antes de los 2 minutos de corrida pertenecen al frente de solvente.

- **Oxidación:** No se observó cambio significativo en el área del pico de estudio, ni señales diferentes al mismo, la primera señal a los 2 minutos corresponde al frente de solvente. La Espironolactona aparece como en los cromatogramas anteriores a un tiempo de retención de 10 minutos aproximadamente.



**Figura 4-3.** Cromatograma correspondiente a la degradacion oxidativa.

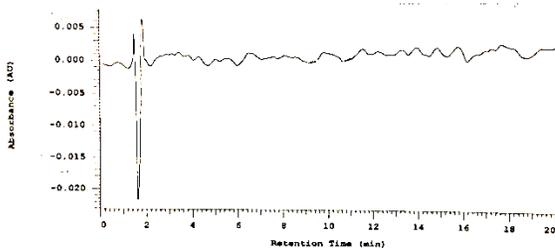
- **Calor:** Con el calentamiento al 80°C por el tiempo determinado, no se observó mayor diferencia entre los cromatogramas, solo señales correspondientes al frente de solvente y al pico de Espironolactona a los 10.5 minutos. La alta temperatura no modificó las características del activo.



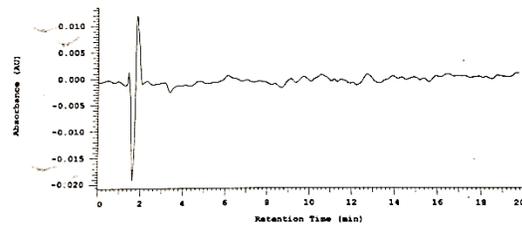
**Figura 4-4.** Cromatograma correspondiente a la degradación con calor (80°C x 3Horas).

#### 4.2.1.2. Frente a los excipientes:

Con la preparación del placebo de la tableta, suspendido en los vehículos de estudio, no se observaron interferencias que limiten la utilización de este método para la cuantificación de Espironolactona, no obstante se corrieron todas las soluciones blanco para verificar y descartar cualquier tipo de señal que pudiese aparecer en los cromatogramas de los placebos, entre ellas cada vehículo por separado, la fase móvil, y la solución diluyente.



**Figura 4-5.** Cromatograma del agua estéril.



**Figura 4-6.** Cromatograma de solución diluyente.

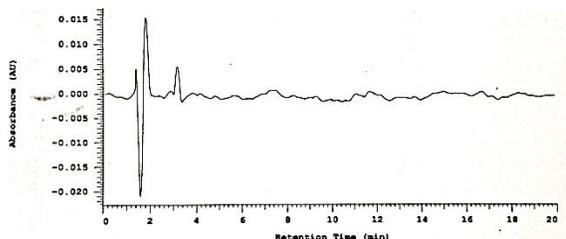


Figura 4-7. Cromatograma de Dextrosa al 5%.

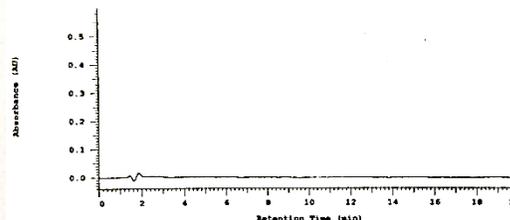


Figura 4-8. Cromatograma del placebo de la tableta.

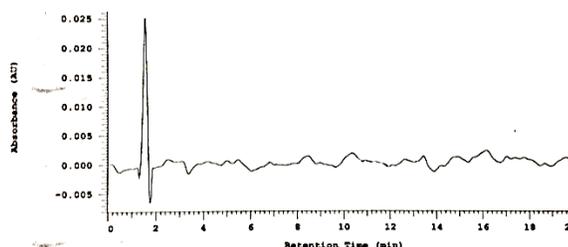


Figura 4-9. Cromatograma del metanol.

De la figura 4-5 a la figura 4-9, se observan los cromatogramas correspondientes a cada una de las condiciones mencionadas. Mediante el análisis visual de los mismos, podemos deducir que ninguno de estos solventes y vehículos tienen influencia alguna sobre el desarrollo del presente estudio.

#### 4.2.2. Linealidad del sistema

Se reportan los datos de la linealidad del sistema como del método, así mismo las gráficas, test de t student, F de Fisher y ANOVA que demuestran la linealidad para cada uno de ellos.

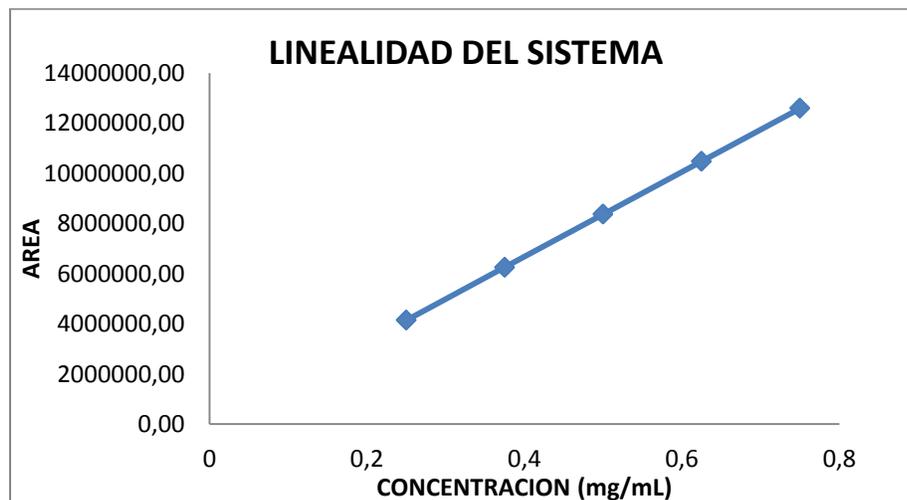
La linealidad del sistema y del método, se estudió para cinco niveles de concentración realizando tres réplicas de cada concentración, tal como lo establece los lineamientos. Se emplearon concentraciones entre 0.25 y 0.75 mg/mL para el sistema y el método. Para la linealidad del método se utilizaron muestras de placebo enriquecido con estándar secundario de Espironolactona las cuales se sometieron al correspondiente análisis según el método establecido.

En la tabla 4-2, se observan los datos correspondientes a las respuestas en área de las concentraciones preparadas para la determinación de la validez de este parámetro. Se

calcularon los factores de respuesta y su coeficiente de variación que fue de 1,32%, menos de 2.0% que es el máximo en el criterio de aceptación planteado.

Niveles	Muestra	Concentración (mg/mL)	Respuesta en áreas	Factores de Respuesta (y/x)
Nivel I (50%)	1	0,25	4168827	16675308,00
	2	0,25	4192664	16770657,80
	3	0,25	4159818	16639272,00
Nivel II (75%)	4	0,375	6297728	16793942,53
	5	0,375	6241719	16644584,67
	6	0,375	6415300	17107467,87
Nivel III (100%)	7	0,5	8286191	16572382,40
	8	0,5	8225465	16450929,76
	9	0,5	8094595	16189189,11
Nivel IV (125%)	10	0,625	10413158	16661052,72
	11	0,625	10534370	16854991,92
	12	0,625	10422544	16676070,32
Nivel V (150%)	13	0,75	12637352	16849802,67
	14	0,75	12764960	17019946,67
	15	0,75	12602093	16802790,33
<b>PROMEDIO</b>			<b>16713892,58</b>	
<b>SD</b>			<b>221207,04</b>	
<b>CV</b>			<b>1,32</b>	

Tabla 4-2. Datos de linealidad del sistema



**Figura 4-10.** Curva de calibración de la linealidad del sistema

A partir del tratamiento de los datos, se obtiene la ecuación de la recta:  $y = 16901737,15x - 887082,91767$  y se grafica la curva de calibración ajustada (Figura 4-10).

PARÁMETRO	HIPÓTESIS NULA	t observado	t tabulado	CONCEPTO
Intercepto (a)	Ho: $\alpha = 0$	0,97	2.16	Se acepta la hipótesis nula
Pendiente (b)	Ho: $\beta = 0$	99,78	2.16	Se rechaza la hipótesis nula
Correlación (r)	Ho: $r = 0$	99,78	2.16	Se rechaza la hipótesis nula

**Tabla 4-3.** Prueba t de Student para la linealidad del sistema

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRATICA	F	F tabulado
Regresión	133907211832037	1	133907211832037	9956,88	4.96
Error residual	174833270613,64	13			
Falta de ajuste	115606212601,00	3	38535404200	6,51	3.71
Error puro	59227058012,64	10	5922705801		
Total	134082045102650	14			

**Tabla 4-4.** Prueba F de Fischer y ANOVA para la linealidad del sistema

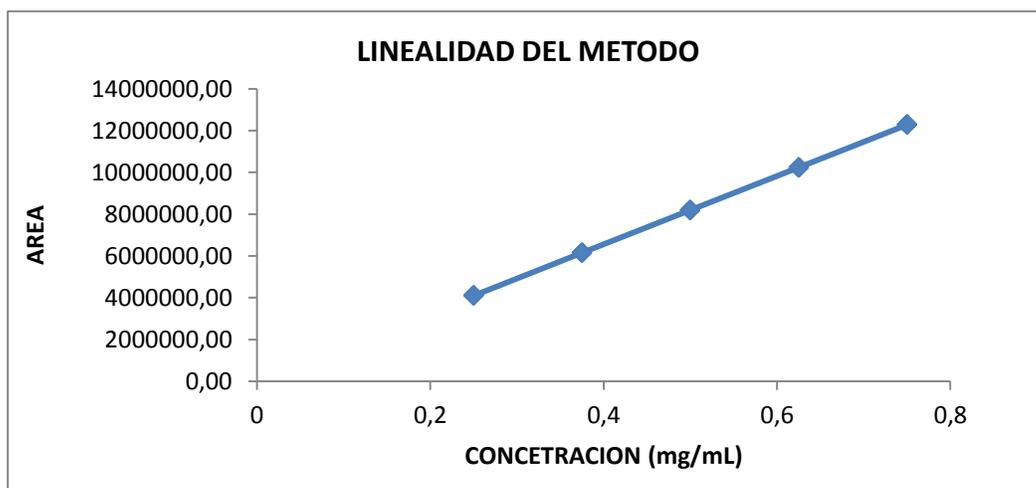
#### 4.2.3. Linealidad del método

Niveles	Muestra	Concentración (mg/mL)	Respuesta en áreas	Factores de Respuesta (y/x)
Nivel I (50%)	1	0,25	4179000	16716000,00
	2	0,25	4188337	16753348,00
	3	0,25	4162724	16650896,00
Nivel II (75%)	4	0,375	6108754	16290010,67
	5	0,375	6129845	16346253,33
	6	0,375	6019847	16052925,33
Nivel III (100%)	7	0,5	8047161	16094322,00
	8	0,5	8153189	16306378,00
	9	0,5	8018270	16036540,00
Nivel IV (125%)	10	0,625	10234991	16375985,60
	11	0,625	10458670	16733872,00
	12	0,625	10393834	16630134,40

Nivel V (150%)	13	0,75	12266029	16354705,33
	14	0,75	12243355	16324473,33
	15	0,75	12248422	16331229,33
PROMEDIO				16399804,89
SD				244205,39
CV				1,49

**Tabla 4-5.** Datos de la linealidad del método

Al igual que en la linealidad del sistema se calculan los factores de respuesta y se hallan los coeficientes de variación, para la linealidad del método este fue de 1,49%, por debajo del criterio de aceptación (tabla 4-5).



**Figura 4-11.** Curva de calibración de la linealidad del método

Igualmente se calculó la ecuación de la recta:  $y = 16342543,43x - 18890$ , y se graficaron los datos ajustados obtenidos de la misma (figura 4-11)

PARÁMETRO	HIPÓTESIS NULA	t observado	t tabulado	CONCEPTO
Intercepto (a)	Ho: $\alpha = 0$	0.22	2.16	Se acepta la hipótesis nula
Pendiente (b)	Ho: $\beta = 0$	99.59	2.16	Se rechaza la hipótesis nula
Correlación (r)	Ho: $r = 0$	99.59	2.16	Se rechaza la hipótesis nula

**Tabla 4-6.** Prueba t de Student para la linealidad del método

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRATICA	F	F tabulado
Regresión	125193157348084	1	125193157348084	9918,82	4.96
Error residual	164083160627,73	13			
Falta de ajuste	120065289469,73	3	40021763157	9,09	3.71
Error puro	44017871158	10	4401787116		
Total	125357240508712	14			

**Tabla 4-7.** Prueba F de Fisher y ANOVA para linealidad del método.

Dentro de los rangos de concentración estudiados, tanto para la linealidad del sistema como para la linealidad del método, se observó valores de  $r^2$  alrededor de 0.99, lo que indica un comportamiento lineal. En las tablas 4-3 y 4-6 se muestra la prueba t de Student para un nivel de confianza del 95% y  $n - 2$  grados de libertad. En esta prueba, se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de la experiencia analítica, y este valor posteriormente se compara con el llamado valor crítico o tabulado. Este valor se obtiene de la tabla de t student para un determinado porcentaje de confiabilidad. Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, el t calculado debería ser inferior al t crítico (Duffau B, et al, 2010). Se observó que las pendientes y las correlaciones son estadísticamente diferentes de cero, mientras que los interceptos no son estadísticamente diferentes de cero, lo cual nos indica que hay proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango que comprende de 0.25 a 0.75mg/mL, y que además la recta pasa por el origen.

Así mismo, el análisis de varianza mediante el test F de Fischer (tabla 4-4 y 4-7) demostró una regresión significativa, ya que los F calculados resultaron mayores que el valor de la tabla, lo que indica que el método es lineal. Se observa además que los F de Fisher calculados para la falta de ajuste son mayores que los tabulados también, por lo cual se recurre a graficar y analizar los residuos. A continuación se presentan los gráficos para análisis de los residuos de linealidad del sistema y del método.

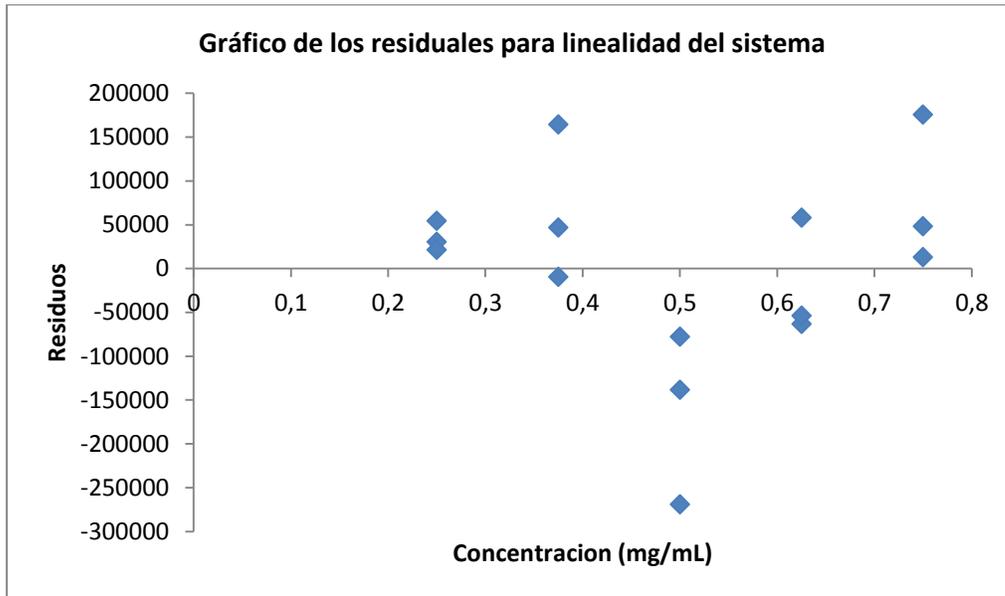


Figura 4-12. Gráfico de los residuales para linealidad del sistema

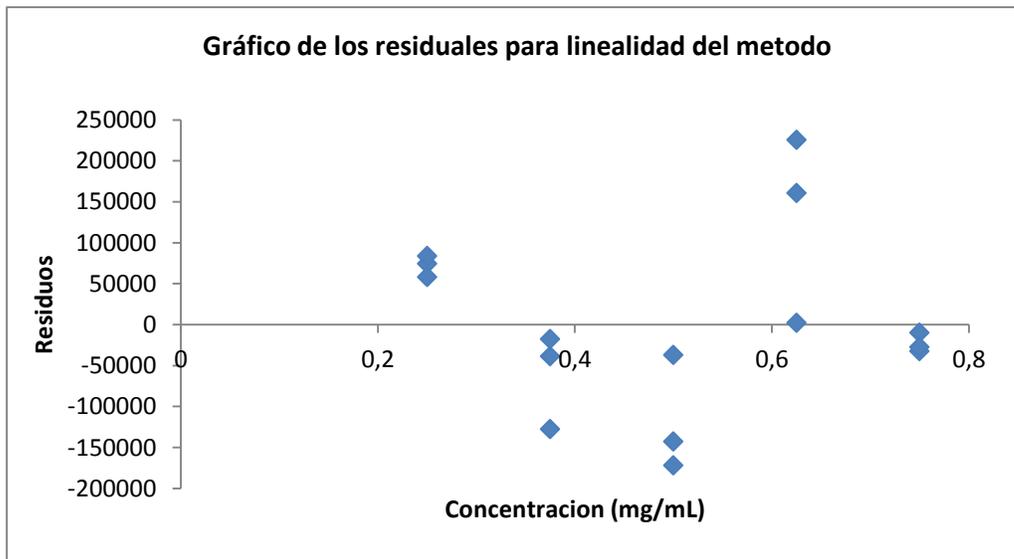


Figura 4-13. Gráfico de los residuales para linealidad del método.

En las figuras 4-12 y 4-13, se observó que la forma como se encuentran distribuidos los datos no muestra una tendencia específica por lo que podemos decir que el método es confiable y que es un método lineal.

#### 4.2.4. Precisión:

Para el parámetro de precisión se determinó la repetibilidad del sistema y del método haciendo inyecciones por sextuplicado de las soluciones preparadas tal como se describió en la metodología. Además, la precisión intermedia con la prueba de F de Fisher y ANOVA para comprobar la viabilidad del método analítico desde el punto de vista de la precisión.

##### 4.2.4.1. Repetibilidad del sistema

Se presentan en la tabla 4-8, los datos correspondientes a la repetibilidad del sistema.

INYECCION	AREA
1	7947161
2	7896237
3	7953189
4	7954622
5	8018270
6	7988958
PROMEDIO	7959739,50
SD	41326,56
CV	0,52

**Tabla 4-8.** Datos para la repetibilidad del sistema

##### 4.2.4.2. Repetibilidad del método:

De igual manera a la repetibilidad del sistema, en la repetibilidad del método se observan los datos arrojados por el cromatografo de las áreas y tiempos de retención de la espironolactona, además del coeficiente de variación. Tabla 4-9.

INYECCION	AREA
1	8614792
2	8650939
3	8579017
4	8608381
5	8663825
6	8599147
PROMEDIO	8619350,17
SD	32099,52
CV	0,37

**Tabla 4-9.** Datos para repetibilidad del método.

Para el parámetro de precisión desde el punto de vista de repetibilidad, se obtuvieron coeficientes de variación inferiores al 2% que es el valor máximo aceptado para método cromatográficos, para el sistema el CV fue 0.52%, mientras que para el método el CV fue 0.37%, lo que indica que hay una adecuada repetibilidad y por consiguiente tanto el sistema como el método son precisos.

#### 4.2.4.3. Precisión intermedia:

CONCENTRACION (mg/mL)	ANALISTA	RESPUESTA EN ÁREA	
		DÍA 1	DÍA 2
0.5	1	8024434	8085082
		8014034	8081085
		8107600	7890474
	2	8051158	8095452
		8055711	8016182
		7979259	8155277

**Tabla 4-10.** Datos para la precisión intermedia

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F <sub>exp</sub>	F <sub>tab</sub>
Analista	1	1883259075	1883259075	0.34	5.12
Día	1	695493228	695493228	0.13	5.12
Error	9	49499596931.625	549995214.625		
Total	11	52078349234.625	4734395384.966		

**Tabla 4-11.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la precisión intermedia.

En la tabla 4-10, se pueden observar los resultados del parámetro de precisión intermedia realizado para 2 analistas y dos días. Las pruebas se realizaron a una concentración de 0.5mg/mL obtenida de la dilución de la suspensión en solución diluyente. Para el análisis de estos datos, se realizó un análisis de varianza, mediante la prueba F de Fisher (Tabla 4-11), que consiste en hallar el F experimental y compararlo con el F tabulado en la literatura. Los resultados 0.34 y 0.13 correspondientes a analista y día, respectivamente, son menores que el F tabulado de 5.12, lo que indica que no existen diferencias significativas en los resultados por cambio de analista o al realizar el análisis en días diferentes. Teniendo en cuenta que el parámetro de precisión cumple con los requerimientos establecidos para repetibilidad de sistema, del método y precisión intermedia podemos decir que el método analítico para cuantificación del principio activo de estudio es preciso.

#### 4.2.5. Exactitud

Nivel de concentración	Muestra	Concentración teórica	Área	Concentración hallada	% Recuperación
50%	1	0,247	4179000	0,25306	102,5
	2	0,247	4188337	0,25363	102,7
	3	0,247	4162724	0,25208	102,1
100%	1	0,495	8047161	0,48730	98,4
	2	0,495	8153189	0,48372	97,7
	3	0,495	8018270	0,48555	98,1
150%	1	0,742	12266029	0,74278	100,1
	2	0,742	12243355	0,74140	99,9
	3	0,742	12248422	0,74171	100,0

**Tabla 4-12.** Datos para la exactitud

<b>Promedio</b>	100,16
<b>Desviación estándar</b>	1,887
<b>Desviación estándar relativa</b>	1,884
<b>t exp</b>	0,254
<b>t tab</b>	2,306

**Tabla 4-13.** Prueba t de Student para la exactitud

<b>Muestra</b>	<b>Nivel 50%</b>	<b>Nivel 100%</b>	<b>Nivel 150%</b>
1	51,2	98,4	150,2
2	51,3	97,7	149,9
3	51,0	98,1	149,9
<b>Promedio</b>	51,2	98,1	150,0
<b>SD</b>	0,159	0,362	0,146
<b>CV</b>	0,310	0,369	0,097
<b>n</b>	3	3	3
<b>Varianza</b>	0,025	0,131	0,021
<b>G cal</b>	0,7378		
<b>G tab</b>	0,8709		

**Tabla 4-14.** Prueba G de Cochran para la exactitud.

Los porcentajes de recuperación obtenidos de este parámetro, se encontraron en un intervalo de 102.7% y 97,7% (ver tabla 4-12). Como se muestra en la tabla 4-13, el test de t student nos facilita el análisis de los datos obtenidos y que el valor experimental de t es menor que el valor de t tabulado, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los datos y el 100%. La prueba G de Cochran, permite apreciar que existe homogeneidad entre las varianzas para los diferentes niveles de concentración, es decir, el nivel de concentración no afecta la variabilidad de los resultados (ver tabla 4-14).

Todos los resultados de la validación del método de cuantificación de Espironolactona por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), muestran que el método es selectivo, lineal, preciso y exacto, lo que indica que puede ser confiablemente utilizado para la determinación de este activo.

### 4.3. Estudios de estabilidad de la preparación extemporánea

#### 4.3.1. Estabilidad Química

El propósito de los estudios de estabilidad en uso es suministrar la información necesaria para el etiquetado de la preparación, las condiciones de almacenamiento y el periodo de utilización de los productos multidosis después de abierto el envase, reconstitución, dilución de una solución o transformación de una tableta en suspensión, como es el caso de la preparación extemporánea base de este estudio.

A continuación se presentan las tablas correspondientes a los datos obtenidos en el estudio de estabilidad de la preparación extemporánea de Espironolactona a 5 y 30°C, en el vehículo 1 (agua estéril) y vehículo 2 (dextrosa al 5%).

Tiempo de muestreo (horas)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente
0	A	Agua estéril	1	99.359
			2	98.349
			3	98.9245
		Dextrosa al 5%	1	98.851
			2	98.7334
			3	98.654
	B	Agua estéril	1	98.8553
			2	98.1921
			3	98.6703
		Dextrosa al 5%	1	98.7937
			2	98.6602
			3	98.6758
	C	Agua estéril	1	98.7134
			2	98.345
			3	98.875
Dextrosa al 5%		1	97.432	
		2	98.0113	
		3	97.9985	

**Tabla 4-15.** Datos estabilidad a tiempo cero

La tabla 4-15, corresponde a los datos obtenidos al comienzo del estudio de estabilidad es decir en tiempo cero, del cual partimos para ver el desarrollo y análisis de los resultados que se obtuvieron durante todo el estudio. En la siguiente tabla, Tabla 4-16 hasta la tabla 4-21, se presentan los datos obtenidos en los siguientes tiempos de

muestreo correspondiente a un intervalo de 12 horas. Se determinaron los muestreos cada 12 horas, debido a que esta es la forma en que se administra la dosis, 2 veces al día, y debido a esto se decidió simular el comportamiento de la suspensión después de cada dosis administrada.

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente
12h	5	A	Agua estéril	1	98.4563
				2	97.2453
				3	98.2341
			Dextrosa al 5%	1	96.2725
				2	95.3808
				3	95.3337
		B	Agua estéril	1	97.4563
				2	97.5425
				3	98.0135
			Dextrosa al 5%	1	95.9109
				2	96.7342
				3	95.7660
	C	Agua estéril	1	97.6932	
			2	96.9749	
			3	97.7324	
		Dextrosa al 5%	1	96.3243	
			2	96.2614	
			3	97.2868	
	30	A	Agua estéril	1	98.6579
				2	97.7632
				3	97.5681
			Dextrosa al 5%	1	97.2526
				2	98.5871
				3	97.7339
B		Agua estéril	1	96.7781	
			2	98.2341	
			3	97.5130	
		Dextrosa al 5%	1	96.7480	
			2	97.1934	
			3	96.9915	
C	Agua estéril	1	96.6839		
		2	98.9796		
		3	97.2394		
	Dextrosa al 5%	1	97.2315		
		2	96.6612		
		3	97.6828		

**Tabla 4-16.** Datos estabilidad a 12h

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente
24h	5	A	Agua estéril	1	96.5885
				2	95.6200
				3	94.6313
			Dextrosa al 5%	1	95.0545
				2	95.5643
				3	96.0010
		B	Agua estéril	1	95.1002
				2	95.4970
				3	95.6466
			Dextrosa al 5%	1	94.7863
				2	95.6120
				3	94.5478
	C	Agua estéril	1	96.5786	
			2	95.6478	
			3	95.1712	
		Dextrosa al 5%	1	96.5484	
			2	96.0128	
			3	96.2016	
	30	A	Agua estéril	1	96.8757
				2	94.8491
				3	95.1209
			Dextrosa al 5%	1	94.4732
				2	94.2480
				3	95.8338
B		Agua estéril	1	95.7760	
			2	94.6824	
			3	94.7260	
		Dextrosa al 5%	1	94.7490	
			2	94.9505	
			3	95.4833	
C	Agua estéril	1	93.8757		
		2	94.9587		
		3	94.7740		
	Dextrosa al 5%	1	95.2128		
		2	95.4150		
		3	94.5117		

Tabla 4-17. Datos estabilidad a 24h

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente
48h	5	A	Agua estéril	1	94.9879
				2	94.2497
				3	94.0341
			Dextrosa al 5%	1	96.5089
				2	96.5469
				3	96.7890
		B	Agua estéril	1	94.9107
				2	94.0576
				3	94.0115
			Dextrosa al 5%	1	95.3719
				2	94.4839
				3	95.0349
	C	Agua estéril	1	94.0932	
			2	94.3152	
			3	94.0239	
		Dextrosa al 5%	1	95.4380	
			2	95.7139	
			3	95.6660	
	30	A	Agua estéril	1	94.0370
				2	93.1715
				3	93.5189
			Dextrosa al 5%	1	94.0638
				2	94.2973
				3	94.7010
B		Agua estéril	1	94.7937	
			2	95.4972	
			3	95.0012	
		Dextrosa al 5%	1	94.2505	
			2	94.6276	
			3	95.1014	
C	Agua estéril	1	93.6043		
		2	93.3452		
		3	94.5610		
	Dextrosa al 5%	1	93.1843		
		2	94.3072		
		3	94.2081		

Tabla 4-18. Datos estabilidad a 48h

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente	
72h	5	A	Agua estéril	1	95.9388	
				2	95.2443	
				3	95.5460	
			Dextrosa al 5%	1	95.9189	
				2	95.9920	
				3	94.9990	
		B	Agua estéril	1	95.9092	
				2	96.2271	
				3	95.8113	
			Dextrosa al 5%	1	95.7056	
				2	94.9050	
				3	95.2000	
	C	Agua estéril	1	94.1566		
			2	94.0920		
			3	94.3591		
		Dextrosa al 5%	1	94.9029		
			2	95.0037		
			3	95.1013		
	30	5	A	Agua estéril	1	94.8274
					2	95.0775
					3	94.7010
			Dextrosa al 5%	1	94.8178	
				2	94.4785	
				3	94.4110	
B		Agua estéril	1	94.1007		
			2	94.3856		
			3	94.5655		
		Dextrosa al 5%	1	94.2837		
			2	94.7388		
			3	94.8378		
C	Agua estéril	1	94.7836			
		2	94.2038			
		3	94.2932			
	Dextrosa al 5%	1	93.8061			
		2	94.6555			
		3	93.1930			

Tabla 4-19. Datos estabilidad a 72h

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente
168	5	A	Agua estéril	1	94.3285
				2	94.0215
				3	94.8372
			Dextrosa al 5%	1	94.7631
				2	95.0122
				3	94.5634
		B	Agua estéril	1	94.3021
				2	94.6473
				3	94.0012
			Dextrosa al 5%	1	94.1519
				2	94.1772
				3	94.1028
	C	Agua estéril	1	95.0111	
			2	94.2311	
			3	94.5429	
		Dextrosa al 5%	1	94.2736	
			2	95.0123	
			3	94.2400	
	30	A	Agua estéril	1	94.3562
				2	94.6781
				3	94.5192
			Dextrosa al 5%	1	94.5673
				2	94.2244
				3	94.3112
B		Agua estéril	1	94.0000	
			2	94.1622	
			3	94.3577	
		Dextrosa al 5%	1	94.0221	
			2	94.3288	
			3	94.5221	
C	Agua estéril	1	94.3200		
		2	94.1198		
		3	94.0133		
	Dextrosa al 5%	1	94.0322		
		2	93.9991		
		3	94.0019		

Tabla 4-20. Datos estabilidad a 168h

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	Replicas	% Remanente	
360	5	A	Agua estéril	1	92.3881	
				2	93.0182	
				3	92.5363	
			Dextrosa al 5%	1	93.3338	
				2	93.6577	
				3	93.3823	
		B	Agua estéril	1	93.0192	
				2	93.3771	
				3	93.2292	
			Dextrosa al 5%	1	93.3001	
				2	93.3902	
				3	93.1199	
	C	Agua estéril	1	93.9322		
			2	93.5544		
			3	93.3349		
		Dextrosa al 5%	1	92.3310		
			2	93.9244		
			3	93.4756		
	30	5	A	Agua estéril	1	93.0484
					2	93.2929
					3	93.8882
			Dextrosa al 5%	1	93.1243	
				2	93.0348	
				3	93.2001	
B		Agua estéril	1	93.5362		
			2	93.0187		
			3	93.4789		
		Dextrosa al 5%	1	93.2301		
			2	93.1328		
			3	93.6371		
C	Agua estéril	1	92.1155			
		2	93.2877			
		3	92.1043			
	Dextrosa al 5%	1	93.2992			
		2	92.1302			
		3	92.2010			

Tabla 4-21. Datos estabilidad a 360h

Luego de la obtención de los datos correspondientes a la estabilidad de la preparación extemporánea, se procedió a la realización de los análisis estadísticos pertinentes que pudieran demostrar la similitud de datos obtenidos entre lotes, para esto se realizó una comparación de modelos entre los mismos y por medio de F de Fisher se determinó si se podían o no combinar los lotes. Luego se realizó una prueba de ANOVA para comprobar la veracidad de esta afirmación. A continuación se presentan las tablas que muestran los resultados obtenidos luego de calcular F de Fisher con respecto al F de la tabla para los modelos, la pendiente y el intercepto.

<b>CALCULO DE F COMPARACION DE MODELOS</b>	
F Calculado	0,24
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=4, gld=57$	2,56
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE PENDIENTE</b>	
F Calculado	0,48
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=57$	3,17
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE INTERCEPTO</b>	
F Calculado	0,51
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=61$	3,17

**Tabla 4-22.** Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en agua a 5°C.

<b>CALCULO DE F COMPARACION DE MODELOS</b>	
F Calculado	0,23
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=4, gld=57$	2,56
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE PENDIENTE</b>	
F Calculado	0,46
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=57$	3,17
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE INTERCEPTO</b>	
F Calculado	0,49
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=61$	3,17

**Tabla 4-23.** Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en agua a 30°C.

<b>CALCULO DE F COMPARACION DE MODELOS</b>	
F Calculado	0,47
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=4, gld=57$	2,56
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE PENDIENTE</b>	
F Calculado	0,94
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=57$	3,17
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE INTERCEPTO</b>	
F Calculado	1,01
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=61$	3,17

**Tabla 4-24.** Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en dextrosa a 5°C.

<b>CALCULO DE F COMPARACION DE MODELOS</b>	
F Calculado	0,53
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=4, gld=57$	2,56
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE PENDIENTE</b>	
F Calculado	1,05
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=57$	3,17
<b>CALCULO DE F COMPARACION DE INTERCEPTO</b>	
F Calculado	1,13
F Tabulado $\alpha=0.05, gln=2, gld=61$	3,17

**Tabla 4-25.** Comparación de modelos, pendientes e interceptos para la preparación extemporánea en dextrosa a 30°C.

Para inferir el comportamiento final de las suspensiones partiendo de los datos obtenidos, es necesario realizar una prueba de F de Fischer con el fin de determinar si es posible combinar los lotes, poder promediar los resultados obtenidos y sobre ellos realizar el respectivo análisis y conclusión de los datos. Este análisis estadístico sigue una distribución F, en la cual la hipótesis nula no puede ser rechazada. Basándonos en el método de mínimos cuadrados, por medio del cual es posible hacer este procesamiento, A continuación se presentan las tablas correspondientes a la prueba F de Fisher, realizada para cada condición por separado.

Fuente de variación	Grados de libertad	SC	CM	Fcalculado
Entre lotes	2	0,144062497	0,07203125	0,0186
Dentro de lotes (error)	60	231,7949117	3,86324853	
Total	62	231,9389742	3,7409512	

**Tabla 4-26. ANOVA para el vehiculo 1 (agua estéril) a 5°C.**

Fuente de variación	Grados de Libertad	SC	CM	Fcalculado
Entre lotes	2	1,707978867	0,85398943	0,2014
Dentro de lotes (error)	60	254,428978	4,24048297	
Total	62	256,1369569	4,13124124	

**Tabla 4-27. ANOVA para el vehiculo 1 (agua estéril) a 30°C.**

Fuente de variación	Grados de Libertad	SC	CM	Fcalculado
Entre lotes	2	1,881015197	0,9405076	0,3789
Dentro de lotes (error)	60	148,9273113	2,48212185	
Total	62	150,8083265	2,43239236	

**Tabla 4-28. ANOVA para el vehiculo 2 (Dextrosa al 5%) a 5°C.**

Fuente de variación	Grados de Libertad	SC	CM	Fcalculado
Entre lotes	2	3,923841061	1,96192053	0,5522
Dentro de lotes (error)	60	213,1804244	3,55300707	
Total	62	217,1042654	3,5016817	

**Tabla 4-29. ANOVA para el vehiculo 2 (Dextrosa al 5%) a 30°C.**

Para la prueba F de Fisher se ubicó el valor de 3.925 en la tabla con grados de libertad del numerador igual a 2 y grados de libertad del denominador igual a 60, cuando  $1 - \alpha$  es igual a 0.975, unificado para las cuatro condiciones. En las tablas 4-26, 4-27, 4-28 y 4-29, se observa que los resultados correspondientes a los F calculados son menores que el F tabulado, por lo cual podemos decir que no hay diferencia significativa entre los lotes para cada condición y concluimos que se pueden combinar.

A partir de los datos obtenidos durante todo el estudio de estabilidad y luego de determinar que no hubo diferencias significativas entre lotes, se hizo posible establecer y

construir por medio del método de mínimos cuadrados, las gráficas que nos permiten hallar el porcentaje final de degradación por cada condición y además determinar el tiempo de vida útil experimental mínima.

La vida útil experimental está limitada por aquel punto en el tiempo al que, una de las características de calidad no cumple más los requerimientos. (Anexo 2, Informe 43 OMS, 2009). Para ello, se calcula la línea de regresión a partir de todos los pares de valores, por el método de los mínimos cuadrados. Se traza la recta de regresión partiendo del valor medio del ensayo inicial para todos los lotes. Se tiene en cuenta además que se requiere el valor de  $t$  para  $n - 1$  grados de libertad y  $\alpha = 0.05$ , que ubicado en la tabla del test de  $t$  student equivale a 2.0. A continuación se presentan las tablas correspondientes al tratamiento para cada condición de temperatura y vehículo.

**Tabla 4-30.** Datos de  $Y$  regresión,  $Y$  límite superior e  $Y$  Límite inferior para la preparación en el vehículo 1 (agua estéril) a 5°C.

Tiempo	YR	Yc Límite superior	Yc Límite inferior	% Degradación
0	96.60	99.50	93.98	2.87
12	96.60	99.35	93.84	2.98
24	96.46	99.21	93.71	3.10
48	96.18	98.93	93.43	3.33
72	95.91	98.65	93.16	3.58
168	94.80	97.55	92.05	4.75
360	92.58	95.43	89.74	7.71
0	96.47	99.59	93.35	3.25
12	96.34	99.45	93.22	3.35
24	96.20	99.31	93.09	3.45
48	95.93	99.04	92.83	3.68
72	95.67	98.77	92.56	3.92
168	94.59	97.70	91.48	5.06
360	92.45	95.66	89.23	8.05

**Tabla 4-31.** Datos de  $Y$  regresión,  $Y$  límite superior e  $Y$  Límite inferior para la preparación en el vehículo 1 (agua estéril) a 30°C.

Tiempo	YR	Yc Límite superior	Yc Límite inferior	% Degradación
0	96.55	98.57	94.53	2.10
12	96.43	98.45	94.41	2.20
24	96.31	98.33	94.29	2.31
48	96.07	98.08	94.05	2.52
72	95.83	97.84	93.82	2.74
168	94.86	96.88	92.85	3.75
360	92.94	95.02	90.85	6.23

**Tabla 4-32.** Datos de Y regresión, Y límite superior e Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 5°C.

Tiempo	Y Regresión	Yc Límite superior	Yc Límite inferior	% Degradación
0	96.26	99.05	93.48	2.90
12	96.13	98.92	93.35	3.00
24	96.01	98.78	93.23	3.10
48	95.75	98.52	92.98	3.32
72	95.49	98.26	92.72	3.55
168	94.47	97.24	91.69	4.63
360	92.42	95.29	89.54	7.44

**Tabla 4-33.** Datos de Y regresión, Y límite superior e Y Límite inferior para la preparación en el vehículo 2 (Dextrosa al 5%) a 30°C.

Teniendo en cuenta estos datos, que no permiten ver los porcentajes de degradación reales, podemos decir que la suspensión menos estable, es la preparada en agua estéril y almacenada a 30°C por arrojar el porcentaje de degradación más alto de todas las condiciones estudiadas 8.05%, y además que la más estable es la suspensión preparada en dextrosa y almacenada a 5°C, en nevera. Es evidente además que almacenadas en nevera en ambos vehículos la degradación también es menor.

Durante el estudio de estabilidad se observó un porcentaje de degradación de aproximadamente 8.05%. Debido a esto no es posible efectuar una asignación de orden cinética y de la constante de velocidad (K), por lo cual se selecciona el modelo de orden cero por ser el más sencillo y seguro dentro de las recomendaciones existentes.

Sabiendo esto, se graficaron los datos obtenidos y se obtuvieron las siguientes figuras:

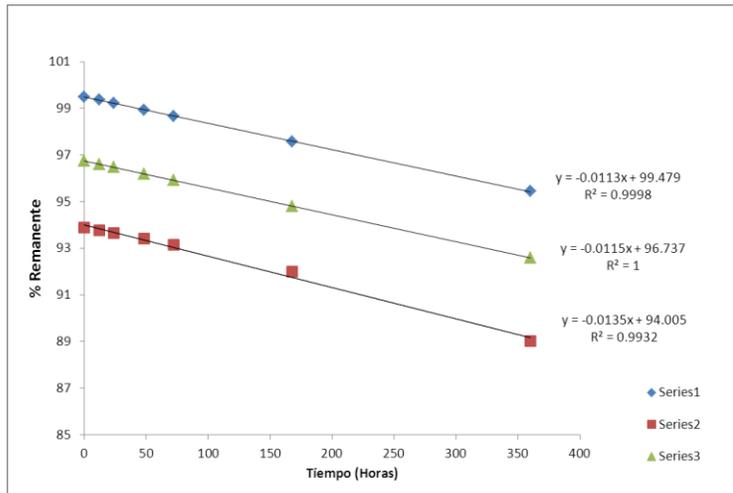


Figura 4-13. Gráfico de Regresión para agua estéril a 5°C

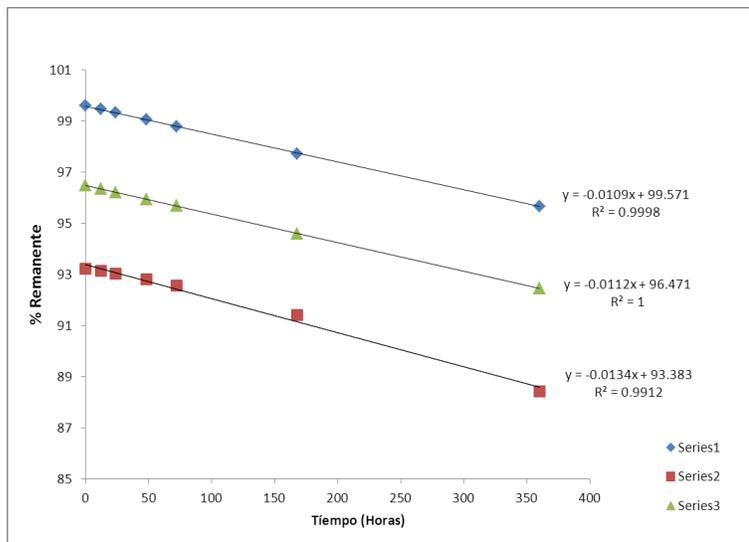
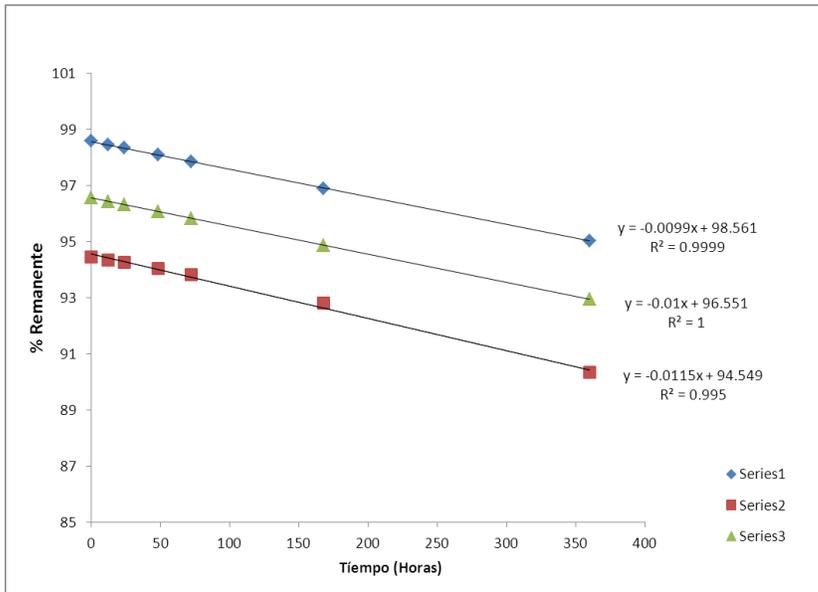
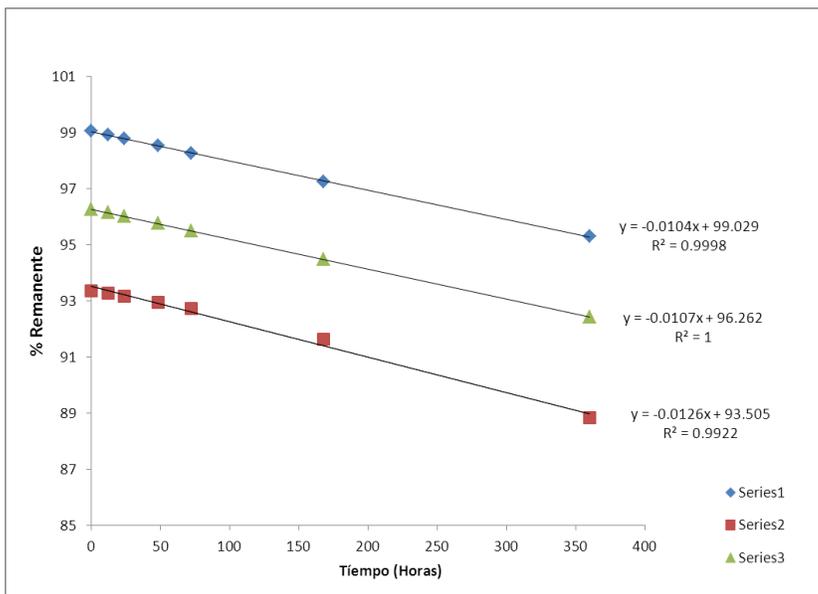


Figura 4-14. Gráfico de Regresión para agua estéril a 30°C



**Figura 4-15.** Gráfico de Regresión para Dextrosa al 5% a 5°C



**Figura 4-16.** Gráfico de Regresión para Dextrosa al 5% a 30°C

En las figuras de la 4-13 a la figura 4-16, se muestran los límites de confianza tanto superior como inferior. Teniendo en cuenta que, el intercepto de la curva del límite de confianza inferior sobre el valor de control límite, da la mínima vida útil experimental, y sabiendo entonces que el modelo escogido es cinética de orden cero podemos, por medio de la ecuación de la recta determinar y conociendo el intercepto y la pendiente

cual es el tiempo mínimo de vida útil experimental. Es de gran relevancia anotar que el por ser una estabilidad en uso, su tratamiento es similar al de una estabilidad a largo plazo en la cual no se predice el tiempo de vida útil del medicamento, sin tener en cuenta la forma farmacéutica, sino que se demuestra con las bases científicas de los resultados obtenidos el tiempo en el cual el mismo se degrada hasta mínimo el 90.0%. Teniendo en cuenta que las suspensiones bases de este estudio alcanzaron hasta una concentración final de 89.0% podemos soportar que químicamente estas suspensiones son estables, aun al tiempo que son utilizadas normalmente en el ámbito hospitalario, que son 96 horas, es decir, 4 días y recomendar incluso su almacenamiento hasta 168horas, es decir, 7 días.

### 4.3.2. Estabilidad física

Tiempo de muestreo (horas)	Temperatura (°C)	Lote	Vehículo	pH	color	olor
0	N.A.	A	Agua estéril	5.29	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.34	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.27	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.30	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	5.22	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.29	Amarillo	Menta
12	5	A	Agua estéril	5.25	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.46	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.28	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.43	Amarillo	Menta
	C	Agua estéril	5.29	Amarillo	Menta	
		Dextrosa al 5%	4.45	Amarillo	Menta	
	30	A	Agua estéril	5.22	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.55	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.25	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.46	Amarillo	Menta
	C	Agua estéril	5.24	Amarillo	Menta	
		Dextrosa al 5%	5.48	Amarillo	Menta	
24	5	A	Agua estéril	5.35	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.50	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.32	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.53	Amarillo	Menta
	C	Agua estéril	5.34	Amarillo	Menta	
		Dextrosa al 5%	5.49	Amarillo	Menta	
	30	A	Agua estéril	5.85	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.96	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.83	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.92	Amarillo	Menta
	C	Agua estéril	5.82	Amarillo	Menta	
		Dextrosa al 5%	5.94	Amarillo	Menta	
48	5	A	Agua estéril	5.83	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.66	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.80	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.64	Amarillo	Menta
	C	Agua estéril	5.85	Amarillo	Menta	
		Dextrosa al 5%	5.68	Amarillo	Menta	
	30	A	Agua estéril	5.86	Amarillo	Menta

			Dextrosa al 5%	5.89	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.90	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.90	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	5.85	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.92	Amarillo	Menta
72	5	A	Agua estéril	5.91	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.86	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.93	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.86	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	5.93	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	5.88	Amarillo	Menta
	30	A	Agua estéril	5.89	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.00	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	5.90	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.03	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	5.91	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.10	Amarillo	Menta
168	5	A	Agua estéril	6.29	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.12	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	6.25	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.15	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	6.22	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.13	Amarillo	Menta
	30	A	Agua estéril	6.64	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.72	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	6.60	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.75	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	6.62	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.70	Amarillo	Menta
360	5	A	Agua estéril	6.92	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.81	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	6.91	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.82	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	6.90	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	6.85	Amarillo	Menta
	30	A	Agua estéril	7.21	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	7.11	Amarillo	Menta
		B	Agua estéril	7.19	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	7.15	Amarillo	Menta
		C	Agua estéril	7.20	Amarillo	Menta
			Dextrosa al 5%	7.11	Amarillo	Menta

Tabla 4-33. Datos de la estabilidad física

Durante el desarrollo del estudio de estabilidad física, no se observó cambios en el color de las preparaciones extemporáneas dado que se mantuvo visiblemente igual a la suspensión preparada inicialmente, por lo que se consideró que este parámetro no cambia significativamente según inspección visual. Las preparaciones conservaron durante el tiempo de estudio, el olor a menta característico de la tableta, incluido en la formulación de la misma. El color se mantuvo visiblemente igual a la suspensión preparada inicialmente. Las temperaturas y los vehículos no tuvieron influencia en estos parámetros, ya que las preparaciones no cambiaron sus características organolépticas. Los datos de pH (tabla 4-33), evidencian homogeneidad entre lotes. Se observa que en el vehículo 2 (dextrosa al 5%), el pH aumenta en mayor proporción que el vehículo 1 (agua estéril). El aumento de este, puede atribuirse al proceso de hidrólisis que sufre la molécula durante su almacenamiento, ya que se generan iones hidroxilo que van aumentando el pH de la preparación.

Las suspensiones a los 15 días de estudio, es decir a las 360h, presentan pH mayores de 6.5 correspondiente al pH de estabilidad de Espironolactona, sin embargo mantienen sus características y hasta este punto no siguen degradándose en gran medida. Se observa que los pH a temperatura de 30°C en ambos vehículos, en comparación con las preparaciones almacenadas a 5°C, es mayor, por lo que se podría decir que temperaturas a 30°C mayores catalizan la hidrólisis del activo y como consecuencia aumenta a mayor velocidad el pH de las mismas.

#### **4.4 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea**

##### **4.4.1. Propósitos**

Establecer el procedimiento para realizar las preparaciones extemporáneas líquidas de espironolactona vía peroral y/o nasogástrica, utilizadas en pacientes pediátricos ambulatorios y hospitalarios a la concentración de 5mg/mL habitualmente manejada en una clínica de III nivel de complejidad, a partir de la presentación comercial tabletas de 25mg; de acuerdo a los resultados del estudio de estabilidad realizado.

#### **4.4.2. Consideraciones importantes**

La adecuación de formas farmacéuticas debe ser realizada en un área limpia, ya que requiere la manipulación directa del producto, retirando su envase original para ser entregado en una presentación no comercial, por tal motivo debe ser realizado en el área gris de la central de mezclas de farmacia. Después de cada actividad de adecuación del medicamento, se debe efectuar el reempaque de las tabletas que contenga la presentación comercial a fin de no generar residuos de medicamentos sin identificar. Los estudios de estabilidad que dieron origen a este protocolo fueron realizados con los materiales e insumos aquí presentados, se recomienda hacer uso de los descritos (Se recomienda usar en todos los casos tabletas de 25mg). La estabilidad del principio activo permite el almacenamiento a temperatura ambiente, pero se recomienda almacenar la preparación bajo refrigeración, a fin de evitar contaminación de la preparación extemporánea. Si el uso está programado para un periodo no mayor a 3 días, puede ser almacenada la preparación a temperatura ambiente.

#### **4.4.3. Materiales**

Los materiales y equipos utilizados para la preparación extemporánea en forma de suspensión peroral de Espironolactona son:

1. Mortero de porcelana con pistilo de porcelana
2. Jeringa desechable de 10mL.
3. Frasco ámbar de 30mL con tapa rosca plástica.
4. Etiqueta de identificación del medicamento (dosis, concentración, recomendaciones, etc.)
5. Guantes de látex, tapabocas

#### **4.4.4. Materia prima**

1. Tabletillas de Espironolactona de 25mg
2. Dextrosa al 5%, bolsa por 500mL, o agua destilada estéril frasco por 500mL.

#### **4.4.5. Procedimiento**

##### **4.4.5.1. Alistamiento de los materiales posterior a la recepción de la solicitud por parte del médico prescriptor:**

- Recepción de la orden médica
- Adecuación (alistamiento y verificación de la limpieza) de los materiales a utilizar.
- Alistamiento del personal encargado para la realización de esta labor.

##### **4.4.5.2. Preparación de la suspensión**

Para la preparación de 30mL de la suspensión de Espironolactona a una concentración de 5mg/mL, se estableció con base en los estudios de la misma, el siguiente protocolo de elaboración:

1. Extraer 6 tabletas de Espironolactona etiquetadas en el blíster como Espironolactona de 25mg.
2. Llevar las tabletas a un mortero de porcelana, triturar hasta obtener un polvo fino con ayuda del pistilo, teniendo cuidado de botar el polvo.
3. Adicionar 10mL de vehículo, (agua o dextrosa al 5%), y humectar.
4. Transferir el contenido del mortero a un frasco ámbar de 30mL con tapa rosca. Transferir el contenido total haciendo lavados de 5mL del mortero hasta completar el volumen deseado.
5. Agitar vigorosamente hasta homogeneizar.
6. Almacenar en un lugar limpio y seco a una temperatura de 5°C, o en un lugar fresco a una temperatura que no supera más de 30°C, por un periodo máximo de 7 días.

##### **4.4.5.3. Acondicionamiento del producto**

- Garantizar que todas las preparaciones estén previamente etiquetadas antes de abandonar la zona de adecuación de las mismas. Para ello se pueden usar las etiquetas adjuntas a este protocolo o las que considere el hospital, pero

con la condición que no se omita ningún detalle de la información descrita en las etiquetas adjuntas a este protocolo.

- Retirar las agujas de las jeringas con capuchón y depositarlas en el sitio demarcado para su almacenamiento.
- Colocar las jeringas en la caneca de residuos de jeringas.

#### **4.4.5.4. Recomendaciones**

- Verificar antes y después del proceso que no queden residuos de medicamentos que puedan contaminar próximos lotes.
- La homogenización de la suspensión previa administración al paciente es de vital importancia, por lo cual es de particular relevancia indicarle al paciente (o acudiente) la correcta agitación de la preparación extemporánea que le está siendo entregada, sobre todo si se va a mantener en condiciones de refrigeración.
- Garantizar que el paciente (o acudiente) entienda todas las instrucciones contenidas en la etiqueta.
- Utilizar tabletas de Espironolactona con sabor a menta.

## **Conclusiones y recomendaciones**

### **Conclusiones**

La metodología analítica empleada para la cuantificación de Espironolactona en la preparación extemporánea, es selectiva, lineal, precisa y exacta, lo que brinda a los resultados total confiabilidad.

Durante el estudio de estabilidad se observó que la suspensión preparada en dextrosa al 5%, almacenada en nevera a 5°C, mostro el menor porcentaje de degradación de todos las condiciones planteadas, siendo este 6.2%, concluyendo de esta manera que es la preparación extemporánea más estable. A diferencia de esta, la suspensión preparada en agua estéril y almacenada a 30°C, fue la menos estable con un porcentaje de degradación de 8.1%.

Estos porcentajes de degradación demuestran que entre los factores escogidos para la realización de este estudio, el más relevante es el vehículo. No hubo cambios de color, ni de olor en ninguna de las presentaciones, sus características organolépticas se mantuvieron estables. A medida que aumento el tiempo, consecutivamente iba aumentando el pH de la suspensión, hasta alcanzar su pH de estabilidad a los 15 días de estudio y conservar su concentración hasta este último muestreo.

## **Recomendaciones**

Se recomienda continuar con el estudio de estabilidad de este tipo de preparaciones, puesto que para la práctica hospitalaria son de vital importancia en el devenir diario de los ajustes de dosis y de vía de administración. Conocer el verdadero uso y almacenamiento de estas preparaciones soportadas en una base científica permite contribuir a la seguridad de los pacientes, que en la mayoría de los casos son pacientes pediátricos.

Además, tener en cuenta la estabilidad microbiológica, que sea realizada a futuro en un proyecto para fundamentar el uso de estas preparaciones a más tiempo.

## **Bibliografía**

- Allen LV, Erickson MA. Stability of Ketoconazol, metolazone, metronidazol, procainamida hydrochloride and spironolactone in extemporaneously compounded oral liquids. Am J Health Sys Pharm 1996;53(17): 20
- Anexo 2, Informe 43 OMS, 2009
- Bautista S., Olaya M., Muñoz I., Ponce L., Barbosa H. "Estabilidad física y química de preparaciones liquidas extemporáneas elaboradas a partir de tabletas de captopril". Revista Colombiana de Ciencias Quimica y Farmacia. Vol 32, No. 1, 2003. Pp 81 – 86.
- British Pharmacopeia, 2012.
- Bruton, L. L., Lazo J. S., & Keith, L. P. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eleventh Edition. New York: Mc Graw Hill.2006.
- Calpena AC, Escribano E, Fernández C. Validación de métodos analíticos. Farm Clin 1990;17(9):749-58.
- Castro, R.; Martins, R.V., et all. "High capacity and low cost detection of prion protein gene variant alleles by denaturing HPLC". Jorunal of Neuroscience Methods, 139:263-269. 2004.
- Carstensen, J.T. y Nelson E., "Terminology regarding labeled and contained amounts in dosage forms", Journal of Pharmaceutical Sciences, 65, (2): 311-312 (1976).
- Connors K A, Amidon G L, Stella V. J. Chemical Stability of Pharmaceuticals. New York: John Wiley, 1986.

- DOCUMENTO TÉCNICO GUÍA DE ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS. Ministerio de Protección Social de Colombia.
- Duffau B, Rojas F, Guerrero I, Roa L, Rodríguez L, Soto M, Aguilera M, Sandoval S. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*. "Aspectos generales sobre la validación de métodos". Departamento de Salud Ambiental. 2010.
- Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud. 2009.
- Estadística. Murray R. Spiegel. McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. A. Segunda Edición. 1991.
- Fernández A., Aguilera Y., Morales I. y Alonso E. Validación de los métodos analíticos para la identificación y cuantificación del dextrometorfano jarabe. *Rev Cubana Farm* v.36 n.1. 2002.
- Guía para el desarrollo y presentación de los estudios de estabilidad de medicamentos; mayo de 1994.
- Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. Edition 2. B. Magnusson et al. NT TECHN REPORT 537.
- Hartmann V., Krummen K., Schnabel G. y Bethke H., "Techniques of Stability Testing and Shelf-life Predictions", *Pharm. Ind.* 44, (1), 71-79 (1982)
- Helrich K. Official Methods of the Association of Official Analytical Chemistry (AOAC Official Methods of Analysis), 15 th. Ed., Vol. 2. Pág 750-768. 1990.
- Herreros, A. Guía para el desarrollo de servicios farmacéuticos hospitalarios: Formulaciones magistrales. OPS.1997.

- Hugo W B., Russell A D, (Eds). Pharmaceutical Microbiology, 4th Edition, Blackwell, 1987
- ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE EVALUATION FOR STABILITY DATA Q1E. 2003
- ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE STABILITY TESTING OF NEW DRUG SUBSTANCES AND PRODUCTS Q1A(R2). 2003
- ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1). 2005.
- Juarez H. Florez C., Ramirez B., Sandoval E., Garcia R, Florez J. “Desarrollo y evaluacion de una formulacion extemporanea de propafenona para uso pediatrico”. Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas, Vol 40, Num 1. 2009. Pp 42-45.
- Mathur LK, Wickman A. Stability of extemporaneously compounded spironolactone suspensions. Am J Hosp. Pharm 1989; 46:2040-2.
- Méndez E., Antequera Rodríguez-Rabadán J, Puebla García V\*\*, Pardo de Torres J, Gallego Lago V, Herreros de Tejada A. Formulaciones orales acuosas: una administración más segura para pediatría. 2008.
- Murray R. Spiegel. Estadística. McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A. Segunda edicion. 1991.
- Provenza N., Calpena A, Mallandrich M., Ruiz A. and Clares B.. “Development, physical-chemical stability, and reléase studies od four alcohol-free Spironolactone suspensions for use un pediatrics”. Dx.doi.org/10.14227/DT210114P19. Febrero, 2014.

- Probabilidad y estadística para ingenieros. Ronald E. Walpole, Raymond H. Myers, Sharon L. Myers. Sexta Edición. Prentice Hall. Hispanoamericana S.A. Mexico. 1991.
- Salgado A., Rosa M., Duarte A. and Almeida A. Stability of spironolactone in an extemporaneously prepared aqueous suspension: the importance of microbiological quality of compounded paediatric formulations. The European Journal of Hospital Pharmacy Science Volume 11. 2005. Issue 3. P. 68 – 73
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A.. Principios de Análisis Instrumental. Quinta Edición. Madrid: Mc Graw Hill / Interamericana de España, S.A.U. 2001.
- Soto Alvarez J., González Vilchez F.. Análisis coste-efectividad del uso de espironolactona en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica. AN. MED. INTERNA (Madrid) Vol. 18, N.º 8, pp. 421-425, 2001.
- USP 35. (2012). Farmacopea de los Estados Unidos de América. Rockville, MD: Junta Directiva de la Farmacopea de los Estados Unidos de América.
- Quattrocchi, O. A., De Andrizzi, S. A., & Laba R. F. (1992). Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica. Buenos Aires: Artes Gráficas Farro S.A.
- Validación de métodos analíticos. Asociación española de farmacéuticos de la industria. AEFI. 2001.

## Anexo A: Modelo de etiqueta para preparación extemporánea a partir de tabletas de Espironolactona.

<p style="text-align: center;"><b>ESPIRONOLACTONA 5mg/mL.</b></p> <p><b>Administración por vía peroral.</b></p> <p><b>Agitar antes de usar. Almacenar a _____ °C.</b></p> <p><b>Proteger de la luz. Mantener cerrado y fuera del alcance de los niños.</b></p> <p><b>Fecha de elaboración: _____ . Hora: _____ .</b></p> <p><b>Fecha de Vencimiento: _____ . Hora: _____ .</b></p> <p><b>Lote No.: _____</b></p>
--