UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# Estudio de estabilidad física y química de una preparación líquida extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas

**Emilse Yolima Machado Mercado**

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Área curricular de Farmacia
Barranquilla, Colombia
2014

# Estudio de estabilidad física y química de una preparación líquida extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas

**Emilse Yolima Machado Mercado**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magíster en Ciencias Farmacéuticas**

Director:

Prof. Helber de Jesús Barbosa Barbosa, M. Sc

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Área curricular de Farmacia

Barranquilla, Colombia

2014

*A Dios Quien merece cada uno de mis triunfos, quien me levanta, es mi fortaleza, mi guía y ayuda en cada lucha y me da licencia para cumplir mis sueños. A mis padres, Leopoldino y Emilse, por su amor incondicional, el toque necesario para lograr lo imposible. A mis hermanos, Nino y Diego, y a mi sobrina Mónica para motivarlos a perseguir sus sueños hasta alcanzarlos. A Paúl, mi despertar y motivo para ser mejor cada día.*

.

# Agradecimientos

A C.I. Farmacápsulas S.A. por los conocimientos, habilidades y destrezas adquiridas que me permitieron llevar a cabo la parte experimental.

A mi director de tesis, profesor Helber de Jesús Barbosa Barbosa, por sus aportes académicos y logísticos y su valioso tiempo para la culminación de este maravilloso proyecto.

A todos los docentes que me impartieron sus conocimientos y despertaron mi espíritu investigativo y amor por las ciencias farmacéuticas.

A Jhoan Alberto Arzuza Jiménez, coordinador de estabilidad y validaciones de C.I. Farmacápsulas S.A. por su colaboración y asesoría.

A Johana Mercado Pájaro, por la consecución de la dextrosa al 50% para realizar los diferentes ensayos preliminares de la investigación.

A Rocío Isabel Estrada Mercado, coordinadora de desarrollo de C.I. Farmacápsulas S.A por la generosa donación de la glicerina USP para realizar los diferentes ensayos preliminares de la investigación.

A mis compañeros Juan José Carrascal Sánchez, Químico Farmacéutico de la Universidad de Cartagena, aspirante a magíster en ciencias farmacéuticas y Katherine Lissette Maldonado Julio, Químico Farmacéutico de la Universidad del Atlántico, aspirante a magíster en Ciencias Farmacéuticas, por su apoyo, colaboración y aportes académicos durante toda la maestría.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá por permitirme ser parte de esta prestigiosa institución y por los conocimientos adquiridos y a la Universidad del Atlántico, mi *Alma Mater,* por la formación académica adquirida. La colaboración conjunta de estas dos universidades permitió mi superación profesional a través de los estudios de postgrado.

# Resumen

En la presente investigación se validó la metodología analítica por HPLC que demostró ser selectiva, lineal, exacta y precisa para la cuantificación de clindamicina en una preparación extemporánea elaborada a partir de cápsulas de 300 mg de clindamicina de una marca comercial del mercado colombiano utilizando dos solventes de uso hospitalario, dextrosa al 50% y agua destilada, y glicerina como agente humectante. Las muestras se envasaron en frascos PET ámbar de 30 mL con tapa rosca plástica.

Posteriormente, se llevó a cabo el estudio de estabilidad física, química y microbiológica durante 15 días a dos condiciones de almacenamiento, 5º C ± 2º C de temperatura y 30º C ± 2º C de temperatura y 70% ± 5% de humedad relativa.

Se encontró que las condiciones más favorables para que la clindamicina sea estable en la preparación extemporánea son elaborarla con el vehículo 2 (agua destilada + glicerina) y almacenarla a 5º C+/-2°C de temperatura, ya que no se presentó cambio de color, olor, alteración del pH a través del tiempo y se observó un menor porcentaje de degradación (2,94%) al tiempo final del estudio (360 horas).

Los resultados indicaron que el vehículo es el factor que mayor incidencia presenta sobre la estabilidad del principio activo en las preparaciones liquidas extemporáneas desarrolladas, siendo el vehículo 1, el menos favorable.

**Palabras clave**: Clindamicina- Validación por HPLC- Estabilidad- Preparación extemporánea

# Abstract

In this research the analytical methodology by HPLC was validated to demonstrate specificity, linearity, accuracy and precision for the determination of clindamycin in an extemporaneous preparation made of clindamycin 300 mg/capsule available in Colombian market, by adding two solvents used in hospitals, dextrose solution 50%, and distilled water, and glycerine as humectant. Samples were packaged in 30 mL amber PET bottles with screw cap plastic.

Subsequently, the study of physical, chemical and microbiological stability was carried out for 15 days at two storage conditions, 5º C ± 2º C of temperature and 30º C ± 2º C of temperature, and 70% ± 5% of relative humidity.

It was found that the most favorable conditions for the stability of the clyndamycin in the extemporaneous preparation is to develop it with the vehicle 2 (distilled water + glycerine), and to store it at 5° C, since no changes in color, smell, or pH were observed during the study and a lower percentage of degradation (2.94%) was obtained at the end of the study (360 hours)

Based on the results it may conclude that the vehicle is the factor that shows a more incidence on the stability of clyndamycin extemporaneous liquid preparations, being vehicle 1 the least favorable.

**Keywords**: Clindamycin-Validation by HPLC-Stability Extemporaneous Preparation

# Contenido

**Pág.**

**Resumen** ..... **IX**

**Abstract** ..... **IX**

**Lista de figuras** ..... **XIV**

**Lista de tablas** ..... **XV**

**Lista de símbolos y abreviaturas** ..... **XVII**

**Introducción** ..... **1**

**1.Marco teórico** ..... **3**

1.1 Preparaciones extemporáneas ..... 3

1.1.1 Inestabilidad química ..... 5

1.1.2 Inestabilidad microbiológica ..... 6

1.1.3 Inestabilidad física ..... 6

1.1.4 Aseguramiento de calidad y seguridad. Pruebas de potencia, estabilidad y esterilidad ..... 7

1.1.5 Recomendaciones ..... 7

1.1.6 Estado del arte ..... 8

1.2 Clindamicina ..... 12

1.2.1 Aspectos farmacológicos ..... 12

- Mecanismo de acción ..... 13
- Farmacocinética ..... 13
- Efectos secundarios ..... 14
- Contraindicaciones ..... 14
- Interacciones medicamentosas ..... 14
- Dosis ..... 14
- Presentaciones comerciales ..... 145

1.2.2 Propiedades fisicoquímicas ..... 15

- Nombres químicos ..... 15
- Sinónimos ..... 15
- Punto de fusión ..... 16
- pKa ..... 16
- Especies químicas ..... 16
- Propiedades físicas ..... 16
- Estabilidad ..... 17

1.3 Validación de métodos analíticos ..... 17

1.3.1 Selectividad o especificidad ..... 18

1.3.2 Linealidad ..... 18
1.3.3 Precisión ..... 19
1.3.4 Exactitud ..... 19
1.3.5 Límite de detección ..... 20
1.3.5 Límite de cuantificación ..... 20

**2.Validacion del método analitico HPLC para la cuantificación de clindamicina en una preparación líquida extemporánea ..... 21**
2.1 Materiales, equipos y métodos ..... 21
2.1.1 Materiales ..... 21
2.1.2 Equipos ..... 26
2.1.3 Método de cuantificación ..... 22
- Preparación de la solución estándar ..... 22
- Preparación de la solución muestra ..... 23

2.2 Parámetros de validación ..... 23
2.2.1 Idoneidad del sistema ..... 23
2.2.2 Selectividad ..... 24
- Frente a los excipientes ..... 24
- Frente a los productos de degradación ..... 25

2.2.3 Linealidad ..... 26
2.2.4 Precisión del sistema y del método ..... 28
2.2.5 Exactitud ..... 29
2.3 Resultados y discusión ..... 30
2.3.1 Idoneidad del sistema ..... 30
2.3.2 Selectividad ..... 32
- Frente a los excipientes ..... 32
- Frente a los productos de degradación ..... 33

2.3.3 Linealidad ..... 37
- Linealidad del sistema ..... 37
- Linealidad del método ..... 41

2.3.4 Precisión ..... 44
- Precisión del sistema ..... 44
- Precisión del método ..... 45
- Precisión intermedia ..... 45

2.3.5 Exactitud ..... 47
2.4 Conclusión ..... 49

**3.Estudio de estabilidad de la preparación líquida extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas ..... 50**
3.1 Materiales, equipos y métodos ..... 50
3.1.1 Materiales ..... 50
3.1.2 Equipos ..... 51
3.1.3 Método de cuantificación ..... 51
3.1.4 Descripción del estudio ..... 51
- Elaboración de las preparaciones extemporáneas ..... 51
- Análisis y muestreo de las preparaciones extemporáneas ..... 53
- Evaluacion de la estabilidad física ..... 53
- Evaluacion de la estabilidad química ..... 53
- Evaluacion de la estabilidad microbiológica ..... 53

3.1.5 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea ..... 54

3.2 Resultados y discusión ..... 54
3.2.1 Descripción del estudio ..... 54
- Elaboración de las preparaciones extemporáneas ..... 54
- Evaluacion de la estabilidad física ..... 54
- Evaluacion de la estabilidad química ..... 63
- Determinacion de igualdad de modelos ..... 81
- Análisis estadístico de mínimos cuadrados ..... 83
- Evaluacion de la estabilidad microbiológica ..... 89

3.2.2 Conclusión del estudio de estabilidad ..... 90
3.2.3 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea ..... 91
- Propósito ..... 91
- Materiales ..... 91
- Procedimiento ..... 91
- Recomendaciones ..... 92

**4. Conclusiones y recomendaciones ..... 93**
4.1 Conclusiones ..... 93
4.2 Recomendaciones ..... 94

**A. Anexo: Modelo de etiqueta para una preparación extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas ..... 95**

**B. Anexo: Registro de temperatura y humedad relativa del cuarto de estabilidad natural a 30º C ± 2º C de temperatura y 70% ± 5% de humedad relativa ..... 96**

**Bibliografía ..... 977**

# Lista de figuras

**Pág.**

**Figura 1-1:** Estructura química de la clindamicina. ..... 16
**Figura 2-1:** Montaje de reflujo. ..... 26
**Figura 2-2:** Cromatograma de la idoneidad del sistema. ..... 30
**Figura 2-3:** Cromatograma de la fase móvil. ..... 32
**Figura 2-4:** Cromatograma del placebo 1. ..... 33
**Figura 2-5:** Cromatograma del placebo 2. ..... 33
**Figura 2-6:** Cromatograma de la hidrólisis ácida. ..... 34
**Figura 2-7:** Cromatograma de la hidrólisis básica. ..... 35
**Figura 2-8:** Cromatograma de la hidrólisis neutra. ..... 35
**Figura 2-9:** Cromatograma de la peroxidación. ..... 36
**Figura 2-10:** Cromatograma de la fotólisis. ..... 36
**Figura 2-11:** Curva de regresión ajustada para la linealidad del sistema. ..... 39
**Figura 2-12:** Curva de regresión ajustada para la linealidad del método. ..... 42
**Figura 3-1:** Preparaciones extemporáneas envasadas en frascos PET ámbar. ..... 54
**Figura 3-2:** Degradación de la clindamicina a valores de pH menores de 4,0. ..... 59
**Figura 3-3:** Degradación de la clindamicina a valores de pH de 5,0 a 9,0. ..... 59
**Figura 3-4:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 1 a 5º C. ..... 60
**Figura 3-5:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5%. ..... 61
**Figura 3-6:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 2 a 5º C. ..... 61
**Figura 3-7:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5%. ..... 62
**Figura 3-8:** Aspecto físico de la preparaciones extemporáneas 1 (izquierda) y 2 (derecha). ..... 63
**Figura 3-9:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 1 a 5º C. ..... 85
**Figura 3-10:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5%. ..... 86
**Figura 3-11:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 2 a 5º C. ..... 87
**Figura 3-12:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5%. ..... 88

# Lista de tablas

**Pág.**

**Tabla 2-1**: Criterio de aceptación para la idoneidad del sistema. ..... 24
**Tabla 2-2**: Composición cualicuantitativa del placebo 1. ..... 24
**Tabla 2-3**: Composición cualicuantitativa del placebo 2. ..... 25
**Tabla 2-4**: Preparaciòn de las muestras para la linealidad del sitema y del método. .. 27
**Tabla 2-5**: Criterios de aceptación para la linealidad del sistema y del método. ..... 28
**Tabla 2-6**: Criterios de aceptación para la precisión del sistema y del método. ..... 29
**Tabla 2-7**: Criterios de aceptación para la exactitud. ..... 29
**Tabla 2-8**: Datos de la idoneidad del sistema para 7-epiclindamicina. ..... 30
**Tabla 2-9**: Datos de la idoneidad del sistema para clindamicina..... 31
**Tabla 2-10**: Resultados para la idoneidad del sistema. ..... 31
**Tabla 2-11**: Datos de la linealidad del sistema. ..... 38
**Tabla 2-12**: Prueba t de Student para la linealidad del sistema ..... 39
**Tabla 2-13**: Prueba de ANOVA para la linealidad del sistema. ..... 39
**Tabla 2-14**: Resultados para la idoneidad del sistema. ..... 40
**Tabla 2-15**: Datos de la linealidad del método. ..... 41
**Tabla 2-16**: Prueba t de Student para la linealidad del método ..... 42
**Tabla 2-17**: Prueba de ANOVA para la linealidad del método. ..... 42
**Tabla 2-18**: Resultados para la linealidad del método. ..... 43
**Tabla 2-19**: Datos de repetibilidad del sistema. ..... 44
**Tabla 2-20**: Datos de repetibilidad del método ..... 45
**Tabla 2-21**: Datos de precisión intermedia para la concentración 1,2 mg/mL..... 45
**Tabla 2-22**: Prueba de ANOVA para la precisión intermedia de la concentración 1,2mg/mL..... 46
**Tabla 2-23**: Resultados para la precisión. ..... 47
**Tabla 2-24**: Datos para la exactitud. ..... 47
**Tabla 2-25**: Prueba t de Student para la exactitud ..... 48
**Tabla 2-26**: Prueba de G de Cochran…..... 48
**Tabla 2-27**: Resultados para la exactitud. ..... 49
**Tabla 3-1**: Fómula cualicuantitativa de la prepacración extemporánea 1 ..... 52
**Tabla 3-2**: Fómula cualicuantitativa de la preparación extemporánea 2 ..... 52
**Tabla 3-3**: Datos de estabilidad física de la preparación extemporánea 1..... 55
**Tabla 3-4**: Datos de estabilidad física de la preparación extemporánea 2..... 57
**Tabla 3-5**: Datos de estabilidad química de la preparación extemporánea 1..... 64
**Tabla 3-6**: Datos de estabilidad química de la preparación extemporánea 2..... 73
**Tabla 3-7**: Prueba F de Fischer para la preparación extemporánea 1 a 5º C ..... 81

**Tabla 3-8**: ANOVA para la preparación extemporánea 1 a 5º C ..... 81
**Tabla 3-9**: Prueba F de Fisher para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 81
**Tabla 3-10**: ANOVA para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 82
**Tabla 3-11**: Prueba F de Fisher para la preparación extemporánea 2 a 5º C ..... 82
**Tabla 3-12**: ANOVA para la preparación extemporánea 2 a 5º C ..... 82
**Tabla 3-13**: Prueba F de Fisher para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 82
**Tabla 3-14**: ANOVA para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 82
**Tabla 3-15**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 1 a 5º C ..... 83
**Tabla 3-16**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 84
**Tabla 3-17**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 2 a 5º C ..... 84
**Tabla 3-18**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R..... 84
**Tabla 3-19**: Resultados de los análisis microbiológicos para las preparaciones extemporáneas en el tiempo inicial..... 89
**Tabla 3-20**: Resultados de los análisis microbiológicos para las preparaciones extemporáneas en el tiempo final..... 90
**Tabla 3-21**: Resultados de la evaluación de la estabilidad física, química y microbiológica de las preparaciones extemporáneas..... 90

# Lista de Símbolos y abreviaturas

## Abreviaturas

| Abreviatura | Término |
|---|---|
| $^{o}C$ | Grados Celsius |
| $C_{18}$ | Sustituyente alquílico con 18 átomos de carbono |
| *g* | Gramo |
| *gld* | Grados de libertad del denominador |
| *gln* | Grados de libertad del numerador |
| *G.R.* | Grado reactivo |
| *h* | Hora |
| $H_2O_2$ | Peróxido de hidrogeno |
| *HCl* | Ácido clorhídrico |
| *HPLC* | *High performance liquid chromatography* |
| *H.R.* | Humedad relativa |
| *ICH* | The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use |
| *IM* | Intramuscular |
| *Kg* | Kilogramo |
| *mg* | Miligramo |
| *min* | Minuto |
| *mL* | Mililitro |
| *mm* | Milímetro |
| *N* | Normal |
| *NaCl* | Cloruro de sodio |
| *NaOH* | Hidróxido de sodio |
| *NF* | National Formulary |
| *nm* | Nanómetro |
| *OH* | Grupo hidroxilo |
| *PET* | *Polyethylene terephthalate* |
| *pH* | Potencial de hidrógeno |
| *pKa* | Logaritmo negativo de la constante de disociación de un ácido débil |
| *ufc* | Unidades formadoras de colonias |
| *USP* | United States Pharmacopeia |
| *UV* | Ultravioleta |

# Introducción

La prescripción de medicamentos es una actividad de gran importancia en terapéutica y de una trascendencia en el campo clínico, sobre todo cuando es referida a la solución de problemas individuales. Los medicamentos prescritos y posteriormente administrados, son elaborados por la industria farmacéutica, la cual garantiza la conservación de las propiedades fisicoquímicas durante un tiempo, por lo general de dos o tres años y que corresponde al tiempo de vida útil.

En ocasiones, es necesario realizar transformaciones de dichos medicamentos para adecuarlos a las dosis, necesidades y estados patológicos del paciente, empleando para ello la elaboración de preparaciones extemporáneas para pacientes que por lo general son neonatos, niños o ancianos que presentan dificultades para la deglución de las formas farmacéuticas sólidas existentes en el mercado.

Muchos medicamentos necesarios para los pacientes pediátricos no están disponibles comercialmente en las dosis apropiadas, ni en las formas de administración que permitan su uso racional en este grupo de población. Sin embargo en los centros hospitalarios se está realizando la transformación de cápsulas de clindamicina en una suspensión, con el fin de ser prescrita en esta forma para el tratamiento de infecciones en las unidades pediátricas, de uso inmediato o en cortos períodos, para facilitar la dosificación de acuerdo al peso y necesidades del paciente y más específicamente en neonatos. Dicho tratamiento ha arrojado resultados satisfactorios en niños de muy temprana edad, los cuales no pueden deglutir las cápsulas, que es la forma de presentación peroral de clindamicina en el mercado colombiano. Las transformaciones realizadas en los centros hospitalarios no cuentan con estudios que respalden su estabilidad física ni química, que permita su uso seguro y eficaz. Por lo tanto, es fundamental establecer no solo un protocolo para la correcta elaboración de estas preparaciones, sino realizar estudios conducentes a encontrar el vehículo y las condiciones fisicoquímicas apropiadas que garanticen su estabilidad física y química, así sea por tiempos cortos, además de fijar las

condiciones de almacenamiento y que posteriormente sean usadas con la confianza de que cumplen con el objetivo terapéutico.

La estabilidad de estas preparaciones destinadas para la administración inmediata o en períodos cortos, no puede derivarse de la información reportada en la literatura sobre la estabilidad del fármaco en la forma farmacéutica de cápsulas; por ende, es necesario realizar estudios que garanticen la calidad, seguridad y contenido del principio activo esperados en la preparación extemporánea, a fin de evitar el fracaso terapéutico y las reacciones adversas y de esta manera mejorar la calidad de vida del paciente.

En el caso de la clindamicina no existen estudios que demuestren la estabilidad física ni química de la preparación extemporánea elaborada a partir de cápsulas, por lo que en esta investigación se realizaron los estudios de estabilidad con dos vehículos utilizados a nivel hospitalario, se elaboró el protocolo de preparación de la misma para la normalización del procedimiento, lo que permite disminuir costos al optimizar recursos y tiempo, con el fin de utilizar la preparación extemporánea con la confianza de que cumple con el objetivo terapéutico. Además, se determinaron las condiciones de almacenamiento adecuadas para su conservación, garantizando su estabilidad física y química y así usar racionalmente y de forma segura esta preparación en beneficio del paciente.

.

# 1. Marco teórico

## 1.1 Preparaciones extemporáneas

La mayoría de los medicamentos no son elaborados para ser usados en la población pediátrica, por varias razones. El mercado es relativamente pequeño, lo que limita el rendimiento de inversiones y retraso en el proceso de la comercialización de un medicamento para niños por la percepción de una mayor responsabilidad legal y los requisitos reglamentarios exigidos para la realización de los estudios respectivos. En consecuencia, casi el 75% de los fármacos disponibles en los Estados Unidos para adultos no han sido etiquetados para su uso en neonatos y niños menores de 12 años, a pesar de ser necesarios en esta población (1). En la mayoría de los casos se recurre a la elaboración de preparaciones extemporáneas líquidas elaboradas a partir de formas farmacéuticas sólidas, con el fin de hacerlos accesibles para la población infantil.

Cuando los fármacos no están disponibles comercialmente en la forma de dosificación adecuada para la población infantil, pueden presentarse situaciones como:

- Se retrasa o se omiten tratamientos potencialmente efectivos
- Se utiliza una forma de dosificación para adultos sin alteración
- Se necesita contactar al fabricante para recomendaciones de uso
- La preparación de una formulación extemporánea es basada en la información de la literatura o en consultas con profesionales de la salud.

Aunque no existe un protocolo establecido oficialmente para la elaboración de preparaciones extemporáneas a partir de tabletas o cápsulas, generalmente se realiza triturando las tabletas o colocando el contenido de las cápsulas en un mortero y adicionando un líquido, hasta obtener una suspensión. Muchos fármacos sometidos a una preparación extemporánea pueden ser inestables y se carece de información sobre la forma correcta de su preparación, condiciones de almacenamiento y el tiempo de vida útil (2, 3).

Cuando no se cuenta con datos de estabilidad del fármaco o de la preparación específica, se recomienda utilizar como fecha límite de uso máximo para preparaciones magistrales o extemporáneas no estériles, que se envasan en envases impermeables y resistentes a luz y se almacenan a temperatura ambiente controlada, las siguientes.

1.- para líquidos no acuosos y formulaciones sólidas, cuando el ingrediente activo se obtiene de un producto farmacéutico fabricado, la fecha límite de uso es anterior al 25% del tiempo que resta hasta la fecha de caducidad del producto ó 6 meses.

2.- cuando el ingrediente activo se obtiene de una sustancia NF o USP, la fecha límite de uso no supera los 6 meses.

3.- para formulaciones que contienen agua y preparadas a partir de ingredientes sólidos, la fecha límite de uso es anterior a 14 días para preparaciones liquidas almacenadas a temperaturas entre 2º y 8º C.

4.- para todas las demás formulaciones, la fecha límite de uso es anterior a la duración de la terapia ó 30 días, lo que suceda primero.

Estas fechas límites de uso son indicativas y factibles de extensión cuando existen datos de estabilidad aplicables y científicamente validados, que correspondan exactamente a la preparación en cuestión (4).

Si las alternativas no son posibles y la flexibilidad de un producto farmacéutico no es conveniente para el tratamiento de un paciente, es preferible considerar una preparación extemporánea líquida peroral y el método más frecuentemente utilizado, es triturar tabletas para convertirlas en un polvo fino en un mortero y formar posteriormente una suspensión mediante la adición de un volumen de agua. En ocasiones se adicionan excipientes como preservativos, agentes suspensores y aromatizantes al producto final.

Un vehículo universalmente utilizado es la mezcla de agua, glicerina o jarabe con metilcelulosa y para-hidroxibenzoatos. Otros vehículos incluyen alcohol etílico, particularmente cuando el fármaco es poco soluble en agua, así como ajustadores de pH para mejorar la estabilidad del fármaco. Si el fármaco es soluble en agua no es necesario filtrar los excipientes insolubles para dejar una solución clara, porque se puede eliminar en el filtrado cantidades significativas del principio activo si la extracción de las tabletas es incompleta (5).

La fecha de caducidad o vida útil de una preparación extemporánea se asigna empíricamente o con base en la información publicada en una formulación particular. La mayoría de los estudios basan su recomendación de la fecha de caducidad en la

estabilidad química, pero no se ocupan de la posible inestabilidad física o microbiológica que pueden ser importantes durante el uso real del producto.

Para una preparación extemporánea es importante tener en cuenta los posibles efectos adversos de los componentes "inertes". Por ejemplo, la sacarosa en forma de jarabe puede promover la formación de caries dental, el etanol puede causar hipoglicemia y los para-hidroxibenzoatos puede causar reacciones de hipersensibilidad y exacerbar los síntomas de asma

También se ha reportado casos en que los benzoatos y para-hidroxibenzoatos pueden agravar la hiperbilirrubinemia neonatal mediante el desplazamiento de bilirrubina que se une a proteínas plasmáticas, siendo su uso un potencial riesgo para los neonatos El deterioro de una preparación extemporánea puede ser debido a agentes químicos, físicos o microbiológicos y la inestabilidad puede conducir a una dosis sub-terapéutica del principio activo, la exposición a productos tóxicos de degradación o la ingestión de cantidades inaceptables de microorganismos. Es importante que los farmacéuticos, médicos y personal de enfermería sean conscientes de los problemas causados por la inestabilidad de las preparaciones extemporáneas, para asegurar que el tratamiento farmacológico sea eficaz y seguro (6,7).

### 1.1.1 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 influye en la degradación oxidativa. La tasa de degradación química por lo general aumenta con la temperatura, un factor que es considerado para los ensayos de estabilidad acelerada de formulaciones farmacéuticas. Las preparaciones a base de comprimidos contienen excipientes como aglutinantes y desintegrantes, los cuales pueden afectar la estabilidad del principio activo al cambiar el pH a un valor en el que se produce la degradación más rápidamente (8).

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 cuando se encuentra en 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.

### 1.1.2 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 afectar 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 para la preparación extemporánea como el benzoato de sodio o 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 (9).
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 al envase y con otros agentes de la suspensión. Un almacenamiento incorrecto y el uso poco higiénico del producto final pueden afectar la relación de carga microbiana y concentración del preservante.

### 1.1.3 Inestabilidad física

Las preparaciones extemporáneas en forma de suspensión, pueden ser susceptibles a la sedimentación de los fármacos insolubles y de los auxiliares de formulación, causando la formación de una torta y endurecimiento de la misma, lo que dificultad la redispersión, conduciendo 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.

### 1.1.4 Aseguramiento de calidad y seguridad. Pruebas de potencia, estabilidad y esterilidad

El uso de las preparaciones extemporáneas en pacientes pediátricos se basa en la experiencia clínica más que en los datos de estabilidad y estudios específicos de esterilidad. Cuando una tableta o cápsula de liberación convencional se utiliza para preparar una suspensión, se supone que la biodisponibilidad, la farmacocinética y la farmacodinámica no cambian en los pacientes. Sin embargo, los tratamientos con preparaciones extemporáneas deben ser controlados cuidadosamente, los pacientes y los cuidadores deben estar en comunicación con los profesionales de la salud, fundamentalmente con el farmacéutico para confirmar que los resultados deseados se han alcanzado. La necesidad de elaborar preparaciones extemporáneas en centros hospitalarios puede ser similar. Sin embargo las concentraciones del fármaco, los excipientes y métodos de preparación pueden variar de un sitio a otro y los estudios reportados en la literatura respecto a la estabilidad de las preparaciones extemporáneas son escasos, además las actividades en los distintos centros hospitalarios no son coordinadas y la información y conocimiento sobre éstas no son compartidas (10, 11).

### 1.1.5 Recomendaciones

Teniendo en cuenta los múltiples problemas de estabilidad que se tienen con las preparaciones extemporáneas, que son una necesidad para la población infantil y geriátrica, se plantean posibles soluciones, que permitan obtener información para su uso seguro y eficaz de las mismas.

Elaborar una base de datos con los fármacos más comúnmente prescritos en preparaciones extemporáneas, en los niveles local, regional y nacional.

Establecer mecanismos de financiación para desarrollar estudios de preparaciones extemporáneas.

Los investigadores y profesionales de farmacia que participan en el desarrollo y uso de preparaciones extemporáneas deben compartir sus datos y experiencia con otros a través congresos académicos nacionales e internacionales, publicaciones en revistas y

en sitios web. Los fabricantes que poseen datos sobre la estabilidad del fármaco en las preparaciones extemporáneas deben compartir esta información.

Se debe realizar monitoreo de efectividad clínica y tolerabilidad, mediante el uso e intercambio de experiencias, debido a que la mayoría de preparaciones extemporáneas no han sido objeto de estudios clínicos, su eficacia y la tolerancia deben ser observadas y estudiadas de forma sistemática durante el uso clínico en pacientes (1).

Todas éstas recomendaciones revelan la importancia de la realización de investigaciones de principios activos utilizados para tratar patologías de atención especializada a través de preparaciones extemporáneas, tal como la clindamicina, que resulta muy útil en el tratamiento de infecciones pero que por sus efectos secundarios y contraindicaciones se hace necesario el control de su dosis de manera individualizada y por sus presentaciones comerciales en el mercado colombiano requiere su transformación para la administración a pacientes con condiciones especiales.

### 1.1.6 Estado del arte

El acceso a una forma de dosificación especial de una medicación es esencial cuando la administración a los lactantes y los niños y otros grupos de población seleccionados es requerida. Algunos principios activos necesarios para los pacientes pediátricos no están comercialmente disponibles en formas de dosificación adecuadas para el uso en ésta población. Estos medicamentos se pueden preparar de forma extemporánea para su uso en pacientes de forma individual. Las propiedades fisicoquímicas de los fármacos y excipientes deben ser considerados en la preparación de formulaciones extemporáneas.

Estas formulaciones, sin embargo, pueden carecer de estudios de estabilidad, biodisponibilidad, farmacocinética, farmacodinamia, eficacia y tolerabilidad. A continuación se describen algunos de esos estudios:

La famotidina, un antagonista de uno de los receptores $H_2$, comercializada por Merck & Co. bajo la marca Pepcid, no se encontraba disponible como polvo para reconstituir. En 1993 un estudio surgió para conocer la estabilidad de la famotidina en soluciones extemporáneas liquidas orales debido a la continua necesidad de una formulación liquida para uso oral y la perspectiva de un prolongado tiempo de indisponibilidad. El estudio

realizado por Quercia y colaboradores en 1993, determinó que la famotidina preparada jarabe de cereza fue estable por 15 días a 24º C y por 20 días a 4º C. (12)

Una preparación con una vida útil más larga seria más ventajosa, por lo cual en el año 2000, P. Detinger y colaboradores determinaron la estabilidad de famotidina en una solución oral extemporánea preparada partir de tabletas y un vehículo compuesto por una mezcla (1:1) de Ora-plus (vehiculo suspensor) y Ora-sweet (jarabe). Se encontró que el pH de la suspensión oral fue inicialmente de 5,8 y se mantuvo durante a lo largo del estudio (95 días). De igual forma no se detectó cambio en olor y color de la preparación y no hubo un crecimiento microbiológico visible en ninguna muestra. Todas las muestras fueron fácilmente resuspendidas en cada intervalo de muestreo (14, 31, 46, 61, 80 y 95 días). En cuanto a la estabilidad química la suspensión oral retuvo más del 90% de la concentración inicial por 95 días a 23º- 25º C en frascos ámbar de polietileno tetraftalato (PET) de color ámbar. (12)

En 1999, fue diseñado un estudio para desarrollar dos suspensiones orales de gabapentina y determinar su estabilidad bajo refrigeración y a temperatura ambiente. Se utilizaron cápsulas de gabapentina disponibles comercialmente para preparar dos suspensiones: una en metilcelulosa al 1% en jarabe (1:1) preparada extemporáneamente y otra en volúmenes iguales de agentes suspensor/jarabe comercialmente disponible (Ora-Plus/ Ora-Sweet). Cada suspensión de gabapentina (100 mg/mL) fue almacenada en 10 botellas de plástico; cinco fueron almacenadas a 4° C y cinco a 25° C. Tres muestras de 500 µL se recogieron inmediatamente después de la preparación (día 0) y en los días 7, 14, 28, 42, 56, 70 y 91. La gabapentina fue determinada por una metodología de cromatografía liquida de alta resolución, exacta, reproducible, específica e indicadora de estabilidad (n=15). El promedio de las concentraciones observadas excede el 90 % de las concentraciones iniciales en ambas suspensiones a los 91 días a 4º C y a los 56 días a 25º C. Ningún cambio en el pH, olor o apariencia física fue observado. Sobre la base de estos resultados, suspensiones orales estables de gabapentina pueden ser preparadas y almacenadas en botellas de plástico durante 91 días a 4º C ó 56 días a 25º C. (13)

En 2003, S. Bautista y colaboradores estudiaron la estabilidad de preparaciones líquidas extemporáneas para administración peroral, elaboradas a partir de tabletas de captopril

de dos marcas comerciales del mercado colombiano utilizando dos solventes de uso común en hospitales: vehículo 1 agua destilada + vitamina C 10% (98%:2%) y vehículo 2 dextrosa 10% en agua destilada + vitamina C 10% (98%:2%). Las muestras fueron almacenadas a 5º C, 25º C y 40º C. La cuantificación del fármaco se realizo utilizando una metodología analítica HPLC, previamente validada. Los resultados indicaron que la temperatura es el factor que mayor incidencia presenta sobe el tiempo de vida útil de las preparaciones liquidas extemporáneas desarrolladas, en segundo lugar se ubicó el factor vehiculo, en donde el vehiculo 1 presentó un efecto mayor sobre la estabilidad, mientras que finalmente las marcas comerciales evaluadas presentaron comportamientos similares. (14)

En 2008, M. Nahata y colaboradores, publicaron un artículo donde se analizaban los factores involucrados en las preparaciones extemporáneas en pediatría. Utilizaron las actas del taller Pediatric Formulation Initiative, patrocinado por el *Eunice Kennedy Shiuer National Institute of Child Health and Human Development* celebrado el 6 y 7 de diciembre de 2005, en Bethesda, Maryland, como una fuente de información para este artículo. También llevaron a cabo una búsqueda bibliográfica en PubMed /MEDLINE (1966- 0ctubre 2008), utilizando los términos de búsqueda: *extemporaneous, drug formulations y pediatric*. Encontraron que el acceso a las formulaciones de fármacos apropiados para la edad es fundamental para proporcionar medicamentos eficaces y bien tolerados a los pacientes y que sigue existiendo una necesidad de formulaciones extemporáneas a partir de medicamentos de marca y genéricos para neonatos, lactantes y niños. Las posibles soluciones a las limitaciones encontradas incluyen la necesidad de desarrollar una lista priorizada de formulaciones esenciales, aumento de la financiación de la investigación, la difusión de datos y monitoreo de la eficacia y la tolerabilidad clínica durante su uso en diversos grupos de edad de los pacientes pediátricos y la puesta en común de estas experiencias clínicas. Concluyeron que para lograr los resultados terapéuticos deseados en pacientes pediátricos, el acceso a las formulaciones apropiadas para su edad, estables, eficaces y bien tolerados, es esencial. (1)

En 2009, H. Juárez y colaboradores, realizaron una investigación para desarrollar una formulación extemporánea de propanofenona, evaluar su estabilidad fisicoquímica y microbiológica y monitorear las concentraciones plasmáticas en niños que requirieron el medicamento. La investigación da una respuesta alternativa a la falta de medicamentos

para uso pediátrico de propanofenona porque con la preparación extemporánea habrá mayor aceptación para los niños y una mejor exactitud de la dosis que se indique. La preparación extemporánea fue elaborada a partir de tabletas de 150 mg de propanofenona y jarabe de granadina en cantidad suficiente para obtener una concentración final de 1,5 mg/mL. Las muestras fueron almacenadas en frascos color ámbar, a 15º C ± 5º C (temperatura ambiente) y 3º- 5º C (refrigeración) durante 90 días y se cuantificaron por un método de cromatografía liquida validado. Una vez se determinó la estabilidad de la preparación extemporánea, se elaboró y se administró a pacientes a quienes se les tomaron muestras de sangre para la cuantificación de sus concentraciones en plasma y simultáneamente se les hizo un electrocardiograma para evaluar la evolución de su padecimiento. Se encontró que la preparación fue fisicoquímica y microbiológicamente estable, ya que mantuvo sin cambio considerables tanto estas como las propiedades organolépticas durante el tiempo del estudio. Sin embargo, la formulación extemporánea representa una solución temporal de tratamiento en niños que requieran su uso para tratamientos superiores a 90 días. Los niveles plasmáticos en 3 niños incluidos fueron de 54,1 ng/mL, 189,9 ng/mL y 381,2 ng/mL, quienes estuvieron cardiológicamente controlados y sin efectos adversos aparentes. Estos resultados pueden servir como preliminares mientras se realizan estudios farmacocinéticos pertinentes. (15)

En 2009, Sosnowska y colaboradores, investigaron la estabilidad de maleato de enalapril en formulaciones orales preparadas a partir de tabletas comercialmente disponibles. Preparaciones extemporáneas de 0,1 mg/mL y 1,0 mg/mL de maleato de enalapril suspendido en vehículos con y sin azúcar fueron almacenadas en ausencia de luz a 4º y 25 º C durante 30 días. La estabilidad del maleato de enalapril se cuantificó después de 7, 14, 21 y 30 días usando un método de HPLC. Las viscosidades y el pH de suspensiones preparadas se midieron en cada día de estudio y ningún cambio apreciable de pH y viscosidad de las iniciales se produjo en cualquiera de las muestras tanto a 4º C y 25º C. Se encontró que todas las formulaciones conservan mínimo 98% de la concentración inicial de maleato de enalapril después de 30 días de almacenamiento a 4º C y 25º C y pueden proporcionar una opción en situaciones en que la suspensión comercializada no esta disponible.(16)

A pesar de los diferentes estudios realizados a preparaciones extemporáneas, aun existen principios activos que no poseen estudios y muchos de estos son realizados con agentes suspensores o jarabes de marcas comerciales que son costosos y que no se encuentran en el listado de medicamentos del plan obligatorio de salud. Por esta razón se hace necesario incrementar las investigaciones de estas preparaciones en vehículos accesibles a hospitales y de aquellos principios activos que no se encuentran comercialmente disponibles en la forma de dosificación adecuada, especialmente para niños.

## 1.2 Clindamicina

### 1.2.1 Aspectos farmacológicos

La clindamicina es un antibiótico del grupo de las lincosamidas. Es un antibiótico semisintético y derivado de la lincomicina por la sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo (OH). Es eficaz contra las infecciones de los siguientes microorganismos:

- Cocos gram-positivos aerobios, incluyendo algunos estafilococos y estreptococos (eg. neumococos).
- Bacilos gram-negativos anaerobios, incluyendo algunos miembros de los géneros de bacteroides y de fusobacterium

Se utiliza para tratar las infecciones causadas por bacterias anaerobias susceptibles, como en la septicemia y la peritonitis. En pacientes alérgicos a la penicilina, la clindamicina es útil para tratar infecciones aerobias susceptibles y se utiliza para tratar las infecciones del hueso causadas por el *Staphylococcus aureus*.

La clindamicina está indicada para el tratamiento de: acné vulgar, profilaxis para intervenciones dentales y periodontitis, infecciones por anaerobios como estreptococos y babesia, profilaxis de endocarditis bacteriana en pacientes alérgicos a la penicilina, vaginosis bacterianas como alternativa al metronidazol, infecciones por Bacteroides y *Chlamydia*; diverticulosis y endometritis, asociada a un aminoglucósido, infecciones intraabdominales como apendicitis y enfermedad pélvica inflamatoria; infecciones intra-oculares, microsporidiosis, *Leptotrichia* y malaria; profilaxis y tratamiento de neumonías asociada a primaquina *Pneumocystis carinii*; infecciones por grampositivos como *Staphy-*

*lococcus aureus, S. epidermidis, Streptococcus pyogenes*, S. del grupo B, etc.; profilaxis en cirugía de cabeza, cuello y abdominal con riesgo de contaminación, toxoplasmosis (17).

## ▪ Mecanismo de acción

La clindamicina tiene un efecto bacteriostático. Interfiere con la síntesis de las proteínas uniéndose a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, impidiendo la iniciación de la cadena peptídica.

El sitio de unión en el ribosoma es el mismo que para los macrólidos y el cloranfenicol, inhibiendo sus acciones por competencia. Por lo tanto estos agentes son antagónicos y no deben ser usados concomitantemente. Al alterar las moléculas de superficie, clindamicina facilita la opsonización, fagocitosis y muerte intracelular de bacterias, incluso en concentraciones subinhibitorias. La consecuente alteración de la pared bacteriana disminuye la capacidad de adherencia de gérmenes como *Staphylococcus aureus* a las células huésped y facilita su destrucción. La clindamicina ejerce un efecto pos antibiótico duradero, contra algunas bacterias susceptibles, quizá por la persistencia del fármaco en el sitio de unión ribosómica (17).

## ▪ Farmacocinética

La clindamicina administrada en forma peroral, ya sea en forma de clorhidrato o de éster se absorbe por el tracto gastrointestinal aproximadamente en un 90%. Este fármaco no es inactivado por el ácido gástrico y las concentraciones plasmáticas no se modifican mayormente cuando se administra con alimentos. Se distribuye ampliamente en todo el organismo, excepto en el sistema nervioso central. La clindamicina atraviesa la barrera placentaria pero no atraviesa la barrera hematoencefálica y aparece en la leche materna. Es metabolizada en el hígado y se elimina por vía biliar y en menor grado por vía renal. La existencia de circulación enterohepática de clindamicina y sus metabolitos determina una presencia duradera del fármaco en las heces.

La vida media es de 2 a 2,5 horas, pero se prolonga a 8 a 12 horas en caso de disfunción hepática, por lo que se necesita ajustar la dosis en pacientes con

insuficiencia hepática moderada o severa, o insuficiencia hepática y renal. En cambio no sería necesario ajustar la dosis cuando la insuficiencia renal es aislada

- **Efectos secundarios**

Los efectos secundarios son principalmente desórdenes gastrointestinales como diarrea, náusea, vómito y dolor abdominal. La prescripción de clindamicina en colitis pseudomembranosa, que es causado por Clostridium difficile puede causar una condición potencialmente mortal ya que la bacteria es resistente a la clindamicina. La clindamicina puede elevar las cifras de aspartato-aminotransferasa y alanina-amino-transferasa, así como las concentraciones de bilirrubina debido a daño hepático directo. Se ha reportado leucopenia, leucocitosis, anemia y trombocitopenia graves en algunos pacientes (17).

- **Contraindicaciones**

La clindamicina se encuentra completamente contraindicada en pacientes con antecedentes o historia de reacciones alérgicas a clindamicina y la lincomicina. En pacientes con insuficiencia hepática o renal se requiere ajustar la dosis. (17).

- **Interacciones medicamentosas**

El tratamiento con clindamicina puede potenciar los efectos de los agentes relajantes musculares no despolarizantes. Puede tener un efecto antagónico con lincomicina, eritromicina y cloranfenicol. El caolín disminuye la absorción oral de clindamicina. (17)

- **Dosis**

Adultos: La dosis recomendada de clindamicina depende del tipo de infección a combatir y la susceptibilidad del microorganismo. La dosis diaria recomendada es de 600 a 1200 mg/día, divididos en 2 a 4 tomas. Las dosis de 1200 a 2700 mg/cada 6 horas, resultan adecuadas para infecciones más severas. No se recomienda aplicar más de 600 mg por vía I.M.

Niños: La dosis ponderal promedio de clindamicina es de 20 a 40 mg/kg/día, divida en 3 ó 4 tomas diarias en niños con peso mayor de 10 kg.

También se puede calcular la dosis en función de la superficie corporal, calculando 350 a 450 mg/$m^2$/día. En neonatos se recomienda 15 a 20 mg/kg/día en 3 ó 4 dosis (17).

- **Presentaciones comerciales**

En Colombia las formas de presentación que existen en el mercado son: clindamicina clorhidrato equivalente a 300 mg clindamicina base/capsula, clindamicina clorhidrato equivalente a 600 mg clindamicina base/capsula, clindamicina fosfato equivalente a 600mg de clindamicina base/4mL solución inyectable, clindamicina fosfato equivalente a 100mg de clindamicina base/óvulos vaginales, clindamicina fosfato equivalente a 2 g de clindamicina base/100g de crema vaginal, clindamicina fosfato equivalente a 1g de clindamicina base /100mL solución tópica (18).

## 1.2.2 Propiedades fisicoquímicas

El clorhidrato de clindamicina es una sal hidratada sustancia producida por la cloración de lincomicina. Tiene una potencia equivalente a no menos de 800 µg/mg de clorhidrato de clindamicina.

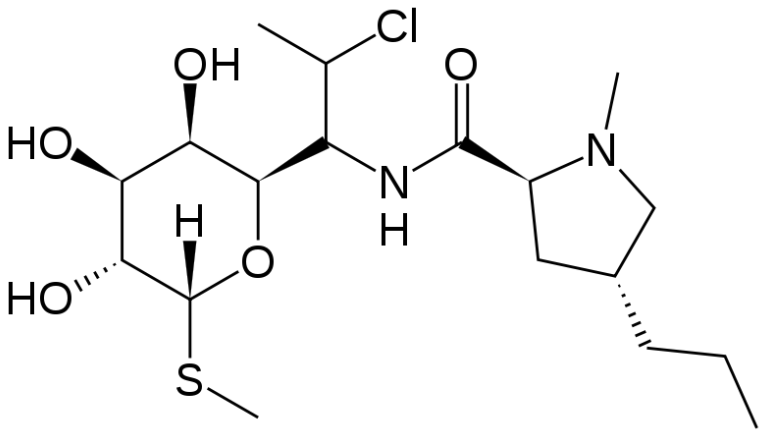
- **Nombres químicos**

L-threo-α-D-galacto-Octopyranoside, methyl 7 -chloro-6, 7,8-trideoxy-6-[[(1-methyl-4-propyl-2-pyrrolidinyl)-carbonyl]amino]-1-thio-, *(2S-trans)-,* monohydrochloride;
Monoclorhidrato de metil 7-cloro-6,7,8-tridesoxi-6-(1-metil-trans-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo-α-D-galacto-octopiranósido [21462-39-5].
Monohidrato [58207-19-5]. (4)

- **Sinónimos**

7-chloro-lincomycin, 7-chloro-7-deoxylincomycin (4).

**Figura 1-1:** Estructura química de la clindamicina [19].




- ## Punto de fusión

El punto de fusión de la clindamicina clorhidrato es 142º C (4).

- ## pKa

El pKa de la clindamicina clorhidrato es 7,72. (4)

- ## Especies químicas

Clindamicina clorhidrato ($C_{18}H_{33}N_2ClO_5S{\cdot}HCl$, peso molecular 461,44 g/mol), clindamicina-2-palmitato clorhidrato ($C_{34}H_{63}N_2ClO_6S{\cdot}HCl$, peso molecular 699,86 g/mol), clindamicina-2-fosfato($C_{18}H_{34}N_2ClO_6PS$ peso molecular 504,76 g/mol) (4).

- ## Propiedades físicas

Clorhidrato de clindamicina: polvo cristalino blanco o prácticamente blanco. Es inodoro o tiene un olor tenue semejante al del mercaptano. Es estable en presencia de aire y luz, pero se degrada a clindamicina libre a 50º C. Sus soluciones son ácidas y dextrógiras. Fácilmente soluble en agua, en dimetilformamida y en metanol; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona. 1 g de clorhidrato de palmitato de clindamicina se disuelve en 1 mL de metanol, 4mL de alcohol y 5 mL de agua.

Clorhidrato de palmitato de clindamicina: polvo amorfo, blanco a blanquecino, con un olor característico. Muy soluble en acetato de etilo y en dimetilformamida; fácilmente soluble en agua, en benceno, en éter, en cloroformo y en alcohol.
Fosfato de clindamicina: polvo cristalino, higroscópico, blanco a blanquecino. Es inodoro o prácticamente inodoro y tiene un sabor amargo. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol deshidratado; muy poco soluble en acetona; prácticamente insoluble en cloroformo, en benceno y en éter. (4).

- **Estabilidad**

  La clindamicina sufre varias reacciones hidrolíticas. A pH menores a 5 la degradación principal es la hidrólisis del grupo tioglicósido. Por encima de pH 5, la vía predominante es la hidrólisis del grupo 7-cloro para producir lincomicina. La hidrólisis de la amida es otra reacción de descomposición importante. El pH de máxima estabilidad es 4,0, sin embargo, se ha reportado una estabilidad aceptable a temperatura ambiente y a pH entre 1 y 6,5 (8).

La identificación y cuantificación de la clindamicina en estudios de estabilidad se realizó a través de la utilización de un método de análisis preciso, lineal, exacto y selectivo para asegurar la fiabilidad de los resultados obtenidos. Esto se logró a través del proceso de validación.

## 1.3 Validación de métodos analíticos

La validación de un método analítico se define como el proceso mediante el cual se establece por estudios de laboratorio que la eficiencia del método satisface los requisitos para posteriores aplicaciones analíticas. (4)

Los métodos analíticos deben ser validados o verificados, evaluándose tanto la exactitud como la precisión. Estos métodos también deben incluir pruebas para los compuestos relacionados o productos de degradación, evaluándose la selectividad. (20)

Una vez desarrollado un método de análisis por HPLC, al igual que toda técnica analítica, deberá validarse, es decir, se debe confirmar y documentar que los resultados por él producidos son confiables.

Evidentemente, todo nuevo método analítico debe validarse para demostrar su idoneidad, pero frecuentemente nos encontramos con metodologías antiguas, aplicadas durante mucho tiempo, con las que tiene poco sentido encarar una validación como si fuera una metodología desconocida. Para estos casos, puede definirse una *validación retrospectiva*, donde se pueden combinar los nuevos criterios de validación con toda la experiencia ya adquirida. En contrapartida, para diferenciarla de la anterior, llamaremos *validación prospectiva* a la que encaramos frente a un producto nuevo. (21)

### 1.3.1 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 medicamento, 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 por método cromatográficos.

### 1.3.2 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 el dosaje 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.

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.

### 1.3.3 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. (22)

La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar, σ, 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 olvidados.

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). (21)

### 1.3.4 Exactitud

La exactitud de un método, también conocida como *error sistemático* o *tendencia*, corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero o que se supone como verdadero.

Matemáticamente, suele expresarse de los siguientes modos:

Desviación: B = X – X'

Desviación relativa: %B = B / X *100

Recuperación: R = X / X' *100

Donde X es el valor medio y X' el valor verdadero.

De todas ellas la más utilizada es, sin lugar a dudas, la recuperación. En algunos casos no se conoce el verdadero valor, por lo cual se trabaja con muestras adicionadas o mediante comparación con un método de referencia o un método indexado.

### 1.3.5 Límite de detección

El límite de detección es el nivel más bajo de analito que puede detectarse, pero no necesariamente determinarse en forma cuantitativa, empleando un método específico bajo las condiciones experimentales exigidas. Dicho límite generalmente se expresa en términos de concentración de analito, por ejemplo, en microgramos por litro. Como generalmente la medición final se basa en la lectura de un instrumento, se deberá tener en cuenta la respuesta de fondo o ruido.

### 1.3.6 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. De nuevo es a veces necesario evaluar y tener en cuenta la magnitud de la respuesta de fondo (ruido). En muchos casos, el límite de cuantificación es aproximadamente dos o tres veces el límite de detección. (21)

# 2. Validación del método analítico HPLC para la cuantificación de clindamicina en una preparación líquida extemporánea

El objetivo de este capítulo es dar a conocer la metodología y los resultados obtenidos de la validación del método analítico HPLC para la cuantificación de clindamicina en la preparación extemporánea líquida. Se usó como referencia lo establecido en la guía ICH Q2(R) y se realizó el análisis estadístico respectivo de los datos. El método analítico fue desarrollado y validado con el propósito de ser empleado de manera confiable y reproducible en la cuantificación de clindamicina en la preparación liquida extemporánea durante su estudio de estabilidad.

## 2.1 Materiales, equipos y métodos

### 2.1.1 Materiales

Estándar de clindamicina clorhidrato USP, agua HPLC, fosfato monobásico de potasio (Merck), acetonitrilo HPLC (Merck), ácido fosfórico G.R. (Merck), hidróxido de potasio G.R. (Merck), hidróxido de sodio G.R. (Merck), ácido clorhídrico 37% (Merck), peróxido de hidrógeno 30% (Merck), lactosa USP, almidón de maíz USP, talco USP, estearato de magnesio USP, viales para HPLC, mortero de porcelana, pistilo, membrana HV Durapore en PVDF 0.45µm de poro y 47 mm de diámetro, membrana HV Durapore en PVDF 0.45µm de poro y 13 mm de diámetro, columna Luna 5µ Phenyl-Hexyl 250 x 4,60 mm (Phenomenex), vasos de precipitado, pipetas, balones aforados, espátulas.

## 2.1.2 Equipos

- Cromatógrafo líquido de alta resolución Waters Modelo Breeze acoplado a un detector UV con arreglo de diodos Waters 2996
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Ultrasonido Elmasonic E180H
- pH-metro Mettler Toledo
- Agitador magnético Corning

## 2.1.3 Método de cuantificación

Para la cuantificación de la clindamicina en la preparación líquida extemporánea, se utilizó como guía el método analítico descrito en la monografía de USP 35 para la solución oral de clindamicina clorhidrato. Se realizaron ajustes en el volumen de inyección y la concentración de los estándares y muestras. Las condiciones cromatográficas se describen a continuación:

Columna: Luna 5µ Phenyl-Hexyl 250 x 4,60 mm
Fase móvil: Solución amortiguadora– acetonitrilo (55:45)
Preparación de la solución amortiguadora: se pesó 6,8 g de fosfato monobásico de potasio y se disolvió en un litro de agua HPLC. Se ajustó el pH de la solución a 7,5 ±0,05, utilizando una solución de hidróxido de potasio 8N.
Flujo: 1,0 mL/min
Volumen de inyección: 20 µL
Detector: Ultravioleta a 210 nm

- **Preparación de la solución estándar**

Se pesó alrededor de 32,6 mg de estándar de clindamicina clorhidrato en un pesa sustancias. Se transfirió a un balón aforado de 25 mL con la ayuda de 10 mL de fase móvil. Se sometió a ultrasonido hasta su completa disolución. Se dejó atemperar, se completó volumen con fase móvil y se homogenizó la solución. Se filtró por Membrana HV Durapore en PVDF de 0,45 µm y se inyectó por duplicado al cromatógrafo líquido.

Se preparó una réplica. La desviación estándar relativa (RSD) entre las soluciones estándar no excedió el 2,0%.

**Nota**: se realizó la siguiente conversión del estándar clorhidrato a base:

$$32.6\,mg\ clindamicina\ clorhidrato \times \frac{424.99\ g/mol\ \ clindamicina\ base}{461.45\ g/mol\ clindamicina\ clorhidrato}$$

- **Preparación de la solución muestra**

Se tomó una alícuota de 2 mL de la preparación extemporánea y se transfirió a un balón aforado de 25 mL. Se adicionaron 10 mL de fase móvil y se sometió a ultrasonido hasta su completa disolución. Se dejó atemperar, se completó volumen con fase móvil y se homogenizó la solución. Se filtró por membrana HV Durapore en PVDF 0.45 µm y se inyectó por duplicado al cromatógrafo líquido. Se prepararon dos réplicas. La desviación estándar relativa (RSD) entre las soluciones muestra no excedió el 2.0%.

## 2.2 Parámetros de la validación

### 2.2.1 Idoneidad del sistema

Antes de llevar a cabo la validación del método analítico, se verificó la idoneidad del sistema cromatográfico realizando 4 inyecciones de la solución estándar de clindamicina clorhidrato a una concentración aproximada de 1,2 mg/mL y con base en los cromatogramas obtenidos, se determinaron los parámetros de repetibilidad, resolución, platos teóricos y factor de cola, luego se compararon los resultados obtenidos con sus respectivos criterios de aceptación descritos en la Tabla 2-1. (4)

**Tabla 2-1**: Criterios de aceptación para la idoneidad del sistema.

| Parámetro | Criterio de aceptación |
|---|---|
| RSD | La desviación estándar relativa para el pico de la clindamicina no es mayor de 1,0% |
| Resolución | La resolución, R, entre el pico de clindamicina B y 7-epiclindamicina no es menor de 2,4<br>La resolución, R, entre el pico de 7-epiclindamicina y clindamicina no es menor de 3,0 |
| Platos teóricos | La eficiencia de la columna calculada para el pico de la clindamicina no es menor de 4000 |
| Factor de cola | El factor de cola para el pico de la clindamicina no es mayor de 1,2 |

## 2.2.2 Selectividad

- **Frente a los excipientes**

Para la determinación de éste parámetro, se preparó un placebo que contiene los excipientes presentes en la cápsula y se suspendieron en los dos vehículos a utilizarse en el estudio, vehículo 1: solución de dextrosa al 50%+glicerina y vehículo 2: agua destilada+glicerina. Se realizaron inyecciones de la fase móvil, de cada vehículo por separado y de la solución estándar de clindamicina.

**Tabla 2-2**: Composición cuali-cuantitativa del placebo 1.

| Excipientes | Cantidad (mg) |
|---|---|
| Almidón de maíz | 37,50 |
| Lactosa | 119,26 |
| Talco | 15,00 |
| Estearato de magnesio | 2,50 |
| Vehículo 1 | Cantidad (mL) |
| Glicerina USP | 3,00 |
| Dextrosa al 50% | csp 20,00mL |

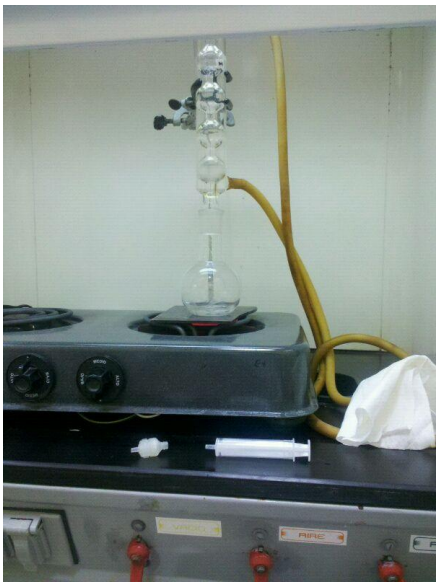
**Tabla 2-3**: Composición cuali-cuantitativa del placebo 2.

| Excipientes | Cantidad (mg) |
|---|---|
| Almidón de maíz | 37,50 |
| Lactosa | 119,26 |
| Talco | 15,00 |
| Estearato de magnesio | 2,50 |
| Vehículo 2 | Cantidad (mL) |
| Glicerina USP | 3,00 |
| Agua destilada | csp 20,00mL |

- **Frente a los compuestos de degradación**

En cuanto a la selectividad relacionada con los indicadores de estabilidad, ésta se determinó preparando las muestras a la concentración de estudio 1,2 mg/mL y luego realizando la degradación forzada de la clindamicina por hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina, hidrólisis neutra, peroxidación y fotólisis, sometiendo a reflujo en cada caso a una temperatura de 80º C por 1 hora y posterior análisis como los muestra la Figura 2-1. Como agentes de degradación se utilizaron HCl 0,1N, NaOH 0,1N, fase móvil, $H_2O_2$ 1% y luz solar. Se determinó si el método por el sistema cromatográfico puede diferenciar entre el principio activo, los auxiliares de la formulación y los compuestos de degradación.

**Figura 2-1**: Montaje de reflujo.



## 2.2.3 Linealidad

La linealidad del sistema y del método se estudió para cinco niveles de concentración realizando tres réplicas de cada concentración, tal como lo establecen los lineamientos de la ICH Q2(R).

Para la linealidad del sistema se utilizaron 5 soluciones estándar de clindamicina clorhidrato.

Se prepararon cinco soluciones estándar en un rango comprendido entre 50 y 150% de la concentración de trabajo. Se preparó la solución stock de clindamicina clorhidrato estándar pesando 325,8 mg de clindamicina clorhidrato estándar y transfiriéndolos cuantitativamente a un balón aforado de 50 mL, con ayuda de 20 mL de fase móvil. Se llevó a ultrasonido hasta disolución completa, se completó volumen con fase móvil y se homogenizó la solución.

Para la linealidad del método se elaboró la preparación extemporánea, se prepararon cinco soluciones muestra de clindamicina a las mismas concentraciones de la linealidad

del sistema, en un rango comprendido entre 50 y 150% de la concentración de trabajo. Se preparó la solución stock tomando una alícuota de 20 mL de la preparación extemporánea equivalente a 300 mg de clindamicina y se transfirió a un balón aforado de 50 mL. Se adicionaron 20 mL de fase móvil y sometió a ultrasonido hasta que se disolvió completamente. Se completó volumen con fase móvil y se homogenizó la solución.

Se tomaron las alícuotas de la soluciones stock tanto para la linealidad del sistema como para la linealidad del método y se llevaron a un balón aforado específico según lo establecido en la Tabla 2-4. Se completó volumen con fase móvil para obtener la concentración requerida. Se realizaron las muestras por triplicado.

Las respuestas deben estar linealmente relacionadas a la concentración de los estándares. Se determinaron la ecuación de la recta de regresión, el valor del coeficiente de correlación y el análisis de varianza para los datos obtenidos para linealidad del sistema y del método. Los parámetros determinados y sus criterios de aceptación se muestran en la Tabla 2-5.

**Tabla 2-4** Preparación de las muestras para la linealidad del sistema y del método.

| Volumen de alícuota (mL) | Dilución (mL) | Concentración (%) | Concentración (µg/mL) |
|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 50 | 600 |
| 15 | 100 | 75 | 900 |
| 2 | 10 | 100 | 1200 |
| 25 | 100 | 125 | 1500 |
| 3 | 10 | 150 | 1800 |

**Tabla 2-5**: Criterios de aceptación para la linealidad del sistema y del método

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación |
|---|---|
| Coeficiente de correlación | El coeficiente de correlación debe ser mayor de 0.999 |
| Test de hipótesis para la pendiente | Si Texp > Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la pendiente es significativamente diferente de cero por lo tanto este test de hipótesis cumple |
| Test de hipótesis para el intercepto | Si Texp < Ttab se aprueba la hipótesis nula, es decir el intercepto no es significativamente diferente de cero por lo tanto este test de hipótesis cumple |
| Test de hipótesis para el coeficiente de correlación | Si Texp >Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la correlación entre X e Y es significativa, por lo tanto este test de hipótesis cumple |
| Análisis de varianza para la regresión lineal. | Para la regresión: Si Fexp >Ftab, la regresión es estadísticamente representativa, por lo tanto el ANOVA para la regresión cumple |
| | Para la linealidad: Si Fexp <Ftab, la falta de ajuste no es representativa, por lo tanto el ANOVA para la linealidad cumple. |

## 2.2.4 Precisión del sistema y del método

Para determinar la precisión del sistema se realizaron seis determinaciones de la solución estándar a una concentración de 1,2mg/mL.

En cuanto a la precisión del método, se realizaron seis determinaciones de la preparación extemporánea a una concentración de 1,2mg/mL.

Para evaluar precisión intermedia, se elaboró la preparación extemporánea al 100% de la concentración de trabajo. Se analizó por triplicado, realizándose durante tres días por dos analistas.

En la Tabla 2-6 se describen las herramientas estadísticas y los criterios de aceptación de los parámetros evaluados para la precisión del sistema y del método y la precisión intermedia.

**Tabla 2-6**: Criterios de aceptación para la precisión del sistema y del método.

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación |
|---|---|
| Coeficiente de varianza (CV). | Precisión del sistema<br><br>Coeficiente de varianza < 2 |
| | Precisión del método<br><br>Coeficientes de varianza < 2 |
| ANOVA | Precisión intermedia<br><br>Si Fexp <Ftab, no existe variabilidad entre los resultados obtenidos al combinar los factores, por lo tanto el test ANOVA cumple |

## 2.2.5 Exactitud

Para determinar la exactitud del método se emplean muestras de placebo cargadas con cantidades conocidas de principio activo. Se preparó un placebo mezclando todos los auxiliares de la formulación y se separó en tres porciones. A la parte 1 se le adicionó principio activo, para obtener una concentración final de 50%. De manera similar se procedió con la parte 2 y 3, de forma que quedaran con una concentración final de 100 y 150 % respectivamente. Cada una de las muestras se analizó por triplicado. En la Tabla 2-7 se describen las herramientas estadísticas y los criterios de aceptación de los parámetros evaluados para la exactitud.

**Tabla 2-7**: Criterios de aceptación para la exactitud

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación |
|---|---|
| Porcentaje de recuperación | El porcentaje de recuperación se encuentra entre 97% y 103% para principio activo en medicamento |
| Test G de Cochran | Si Gexp < Gtab el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados, el test G de Cochran cumple. |
| Prueba t de Student para exactitud | Si Texp < Ttab no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100, confirmando la buena exactitud del método |

# 2.3 Resultados y discusión

## 2.3.1 Idoneidad del sistema

Mediante el análisis de los datos de tiempo de retención, área, resolución, platos teóricos y factor de cola, reportados en las Tablas 2-8, 2-9 y 2-10, obtenidos a partir de los cromatogramas para la idoneidad del sistema, se concluye que el sistema es adecuado para utilizarlo en la validación y cuantificación de la clindamicina, ya que cumple con los criterios de aceptación establecidos por USP 35 para el método cromatográfico. (4). La Figura 2-2 muestra el cromatograma de la idoneidad del sistema.

**Figura 2-2**: Cromatograma de la idoneidad del sistema.

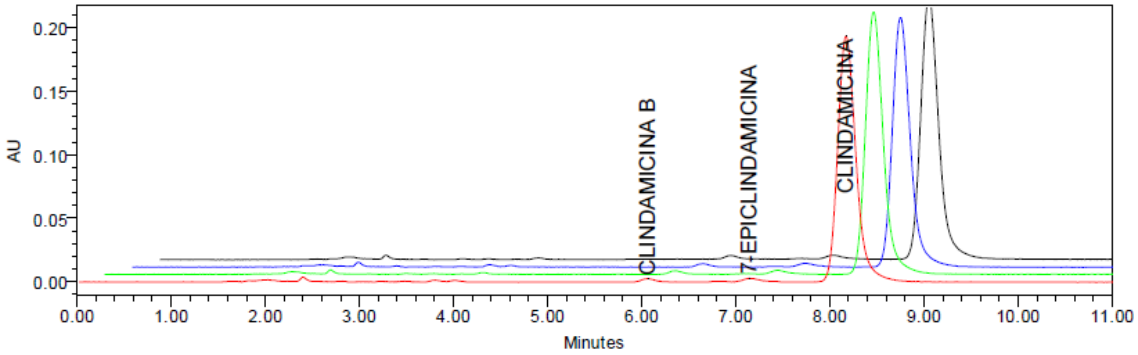



**Tabla 2-8**: Datos de la idoneidad del sistema para 7-epiclindamicina.

| Inyección | Componente | TR | Área | Resolución | Platos teóricos | Factor de cola |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 7-Epiclindamicina | 7,146 | 21848 | 5 | 13552 | 1,0 |
| 2 | 7-Epiclindamicina | 7,142 | 21859 | 4 | 10298 | 0,9 |
| 3 | 7-Epiclindamicina | 7,148 | 22021 | 4 | 14092 | 1,0 |
| 4 | 7-Epiclindamicina | 7,148 | 21703 | 4 | 12700 | 1,0 |
| Promedio | | 7,146 | 21858 | 4,5 | 12661 | 1,0 |
| SD | | 0,003 | 130 | 0,6 | 1676 | 0,1 |
| RSD | | 0,040 | 0,6 | 12,8 | 13,2 | 5,1 |

**Tabla 2-9**: Datos de la idoneidad del sistema para clindamicina

| Inyección | Componente | TR | Área | Resolución | Platos teóricos | Factor de cola |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Clindamicina | 8,172 | 5285000 | 4 | 9716 | 1,1 |
| 2 | Clindamicina | 8,161 | 5288892 | 3 | 9998 | 1,1 |
| 3 | Clindamicina | 8,171 | 5291668 | 3 | 10275 | 1,0 |
| 4 | Clindamicina | 8,168 | 5294919 | 4 | 10451 | 1,0 |
| Promedio | | 8,168 | 5290120 | 3,5 | 10110 | 1,1 |
| SD | | 0,005 | 4209 | 0,6 | 322 | 0,1 |
| RSD | | 0,061 | 0,1 | 16,5 | 3,2 | 5,5 |

**Tabla 2-10**: Resultados para la idoneidad del sistema.

| Parámetro | Criterio de aceptación | Resultado | Observación |
|---|---|---|---|
| RSD | La desviación estándar relativa para el pico de la clindamicina no es mayor de 1,0% | 0,1 | Cumple |
| Resolución | La resolución, R, entre el pico de clindamicina B y 7-epiclindamicina no es menor de 2,4 | 4,5 | Cumple |
| | La resolución, R, entre el pico de 7-epiclindamicina y clindamicina no es menor de 3,0 | 3,5 | Cumple |
| Platos teóricos | La eficiencia de la columna calculada para el pico de la clindamicina no es menor de 4000 | 10110 | Cumple |
| Factor de cola | El factor de cola para el pico de la clindamicina no es mayor de 1,2 | 1,1 | Cumple |

## 2.3.2 Selectividad

- **Frente a los excipientes**

Las Figuras 2-3, 2-4 y 2-5, muestran los cromatogramas que evidencian la selectividad del método frente a la fase móvil y a los excipientes utilizados para elaborar las preparaciones extemporáneas en este estudio. Con la utilización del método cromatográfico se obtuvo un tiempo de retención de 8,0 minutos para la clindamicina clorhidrato en la solución estándar y para las corridas de la fase móvil y los placebos 1 y 2, no se observaron señales a este tiempo de retención que pudieran interferir con la cuantificación del principio activo. En los cromatogramas se observa una señal a los dos minutos con unidades de absorbancia poco significativas de 0,035 para el placebo 1 y 0,005 para el placebo 2 que corresponden a la fase móvil, solvente utilizado para disolver las muestras. Los cromatogramas de los placebos no muestran señales debidas a los auxiliares de formulación, por tal motivo no interfieren en la cuantificación del analito de interés. En la preparación de los placebos con los excipientes de la capsula suspendidos en los dos vehículos de estudio, no se observaron interferencias que limiten la utilización de este método para la cuantificación de clindamicina.

**Figura 2-3:** Cromatograma de la fase móvil.

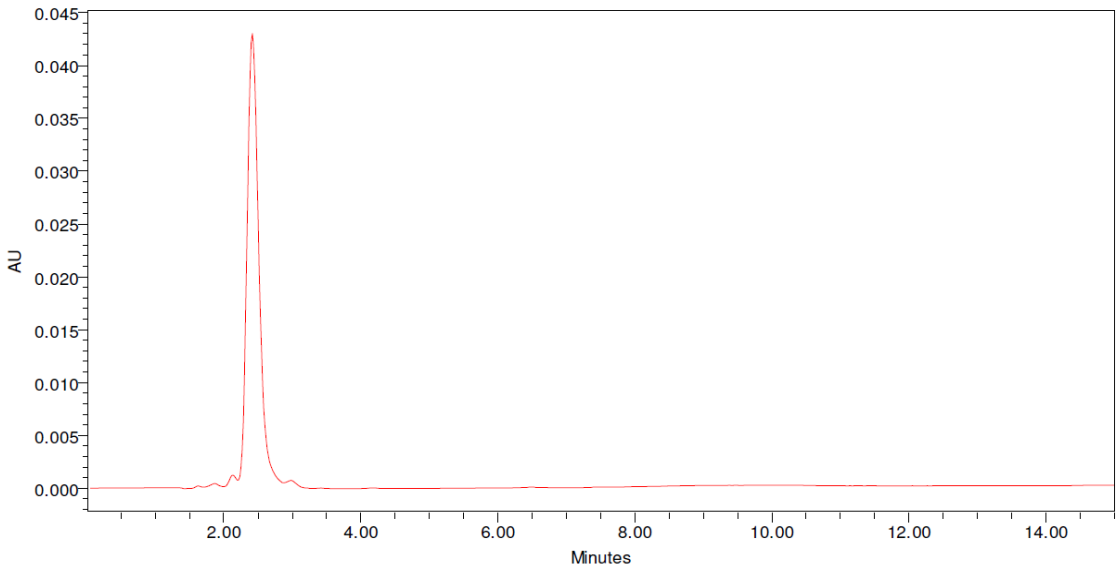


**Figura 2-4:** Cromatograma del placebo 1.

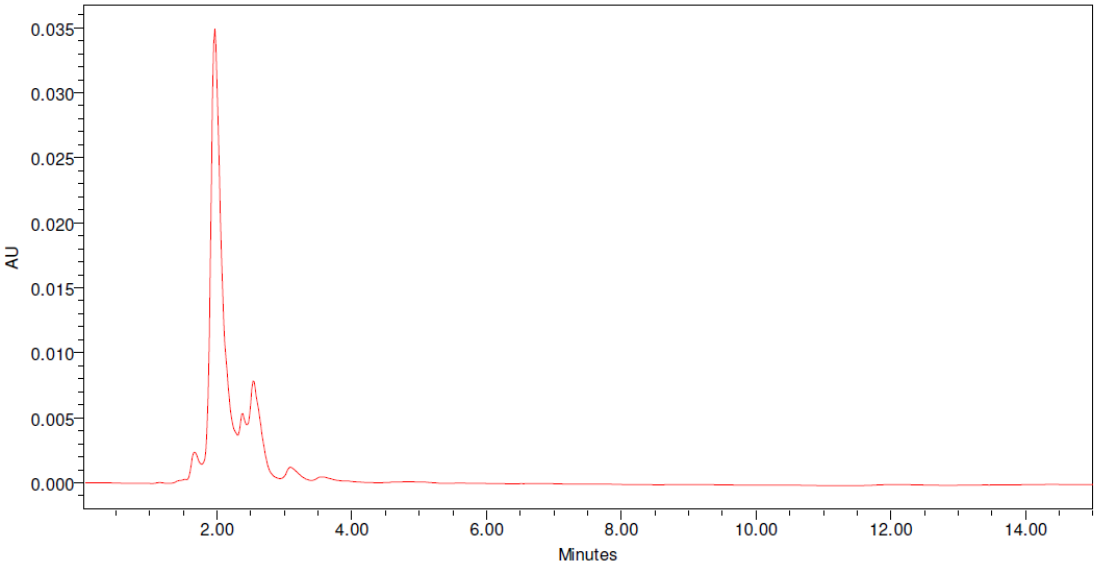
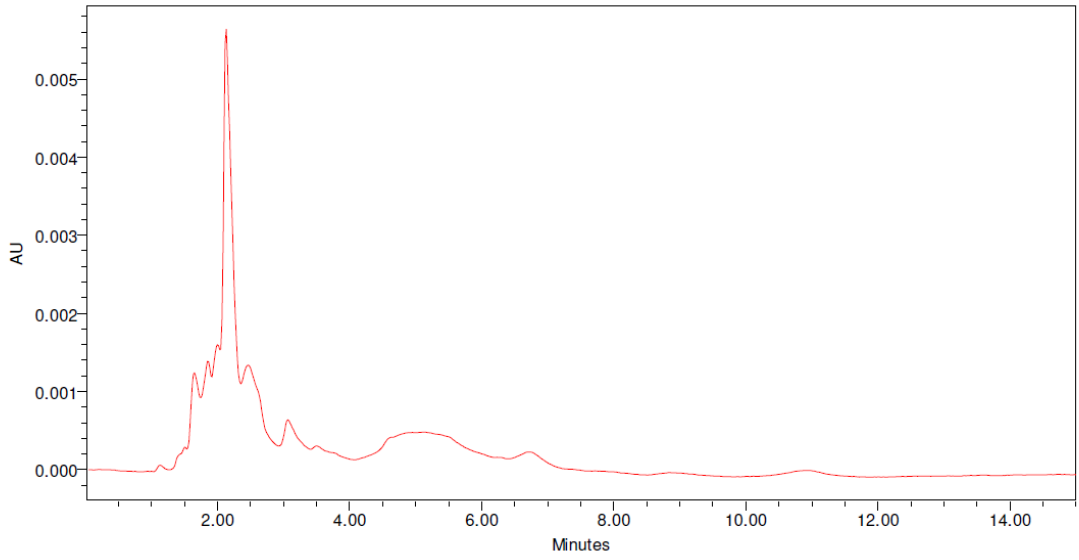



**Figura 2-5:** Cromatograma del placebo 2.

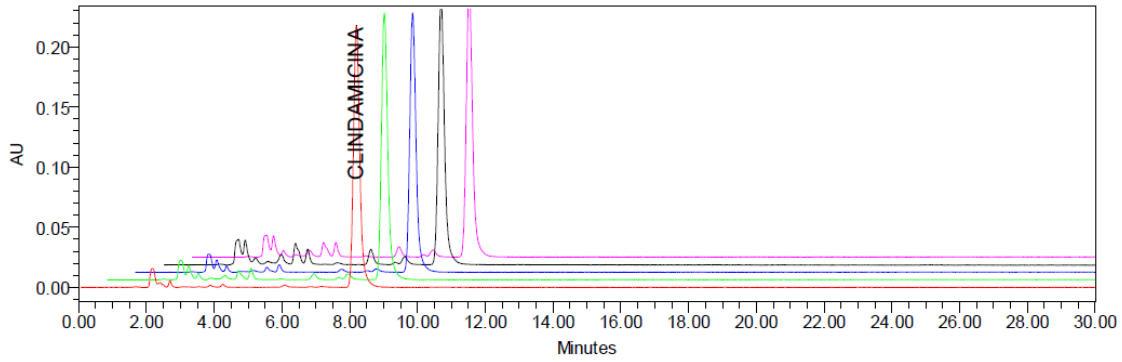



- **Frente a los compuestos de degradación**

Se sometieron las muestras de la preparación extemporánea de clindamicina a condiciones de degradación como: hidrólisis ácida, básica, neutra, peroxidación y fotólisis.

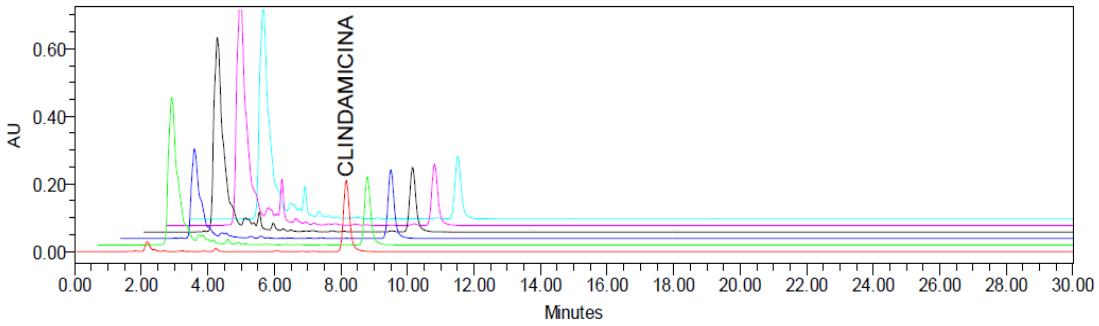
Hidrólisis ácida: se analizaron los cromatogramas correspondientes a la degradación con ácido clorhídrico 0,1N y se observó la aparición de señales a los 2, 4 y 6 minutos con unidades de absorbancia inferiores a 0,05 y un porcentaje de degradación del principio activo de 8% con respecto a la muestra en condiciones normales, lo que nos indica que a pesar de la degradación y la aparición de compuestos de degradación, el método cromatográfico permite identificar y cuantificar el analito de interés cuando sufre una hidrólisis ácida.

**Figura 2-6:** Cromatograma de la hidrólisis ácida.



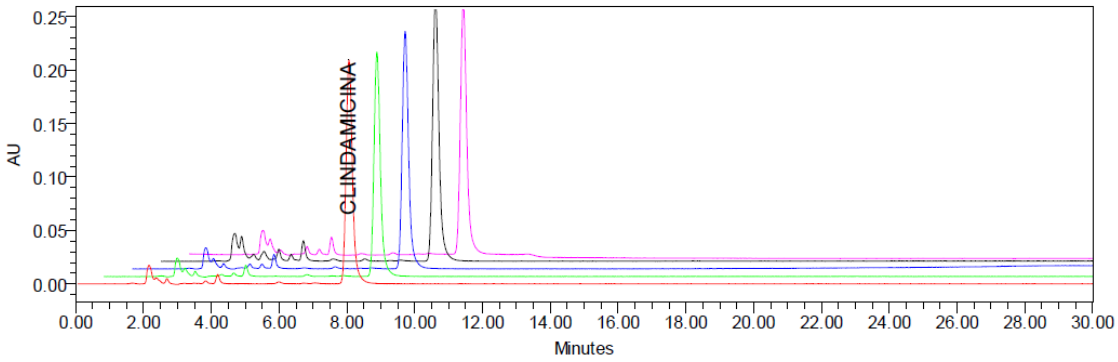

Hidrólisis básica**:** en los cromatogramas obtenidos de la degradación con hidróxido de sodio 0,1 N se evidencia la disminución significativa del área del pico de la clindamicina, con un porcentaje de degradación de 18% con respecto a la muestra en condiciones normales, con señales a los 2 minutos con unidades de absorbancia que aumenta gradualmente de 0,2 y 0,6 a medida que se incrementa el tiempo de reacción con el agente de degradación. De igual forma que en la hidrólisis ácida, la clindamicina puede ser identificada y cuantificada cuando sufre la hidrólisis básica sin interferencias de los posibles compuestos de degradación. Sin embargo, resulto ser más sensible a éste tratamiento debido a que se evidenció un porcentaje de degradación mayor que en la hidrólisis ácida.

**Figura 2-7:** Cromatograma de la hidrólisis básica.



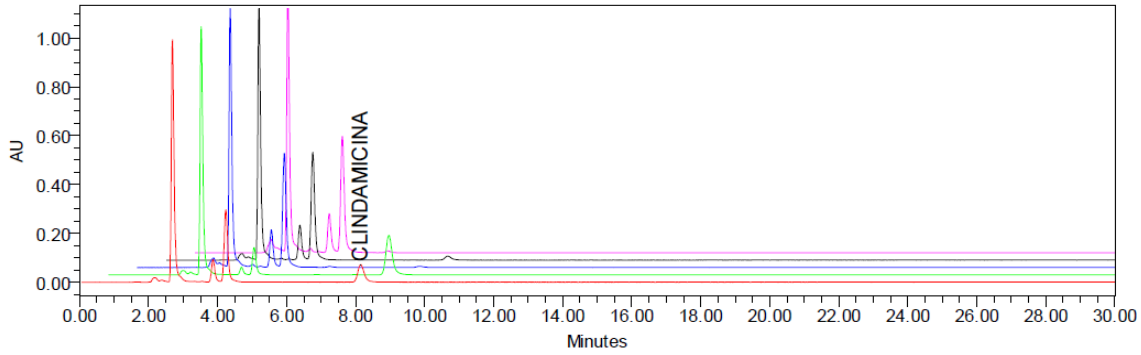

Hidrólisis neutra: Con la fase móvil como agente de degradación por el tiempo determinado, se observó que no se produce cambio significativo en los cromatogramas, ni señales diferentes a la correspondiente al principio activo en estudio, solo señales correspondientes a la fase móvil.

**Figura 2-8:** Cromatograma de la hidrólisis neutra.



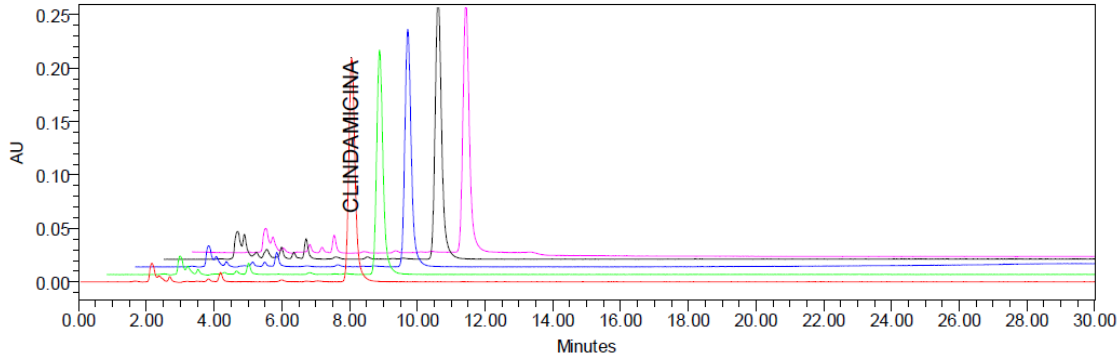

Peroxidación**:** en los cromatogramas obtenidos de la degradación con peróxido de hidrógeno al 1% se observó la degradación en un 80% del principio activo y el aumento en áreas de las señales ubicadas a los 2 y 4 minutos. Cabe destacar que al adicionar el agente oxidante la muestra presentó una efervescencia, evidencia de la reacción oxidativa. La clindamicina pudo ser identificada y cuantificada cuando fue sometida a la peroxidación, sin interferencias de los posibles compuestos de degradación

**Figura 2-9:** Cromatograma de la peroxidación.




Fotólisis: Utilizando la luz solar como agente de degradación por el tiempo determinado, se observó que no se produce cambio significativo en los cromatogramas, ni señales diferentes a la correspondiente al principio activo en estudio, solo señales correspondientes a la fase móvil.

**Figura 2-10:** Cromatograma de la fotólisis.




En conclusión, en los cromatogramas correspondientes a la hidrólisis ácida, hidrólisis básica y de peroxidación se observan señales a los 2 y 4 minutos que pueden corresponder a compuestos de degradación ya que el pico de la clindamicina a los 8 minutos posee un área inferior con respecto a la muestra en condiciones normales. La ruta de degradación a pH muy bajo es la hidrólisis del grupo tioglicósido. En la hidrólisis básica la descomposición del grupo 7-cloro hacia lincomicina es la ruta predominante aunque la hidrólisis de la amida es otra reacción importante de descomposición (8).

Debido a que el método es capaz de identificar y cuantificar el analito frente a los excipientes y a los posibles compuestos de degradación, concluimos que el método es selectivo y especifico.

### 2.3.3 Linealidad

- **Linealidad del sistema**

En las Tablas de la 2-11 a la 2-14 se muestran los datos obtenidos para la linealidad del sistema, los tratamientos estadísticos y los resultados para la aprobación de éste parámetro. En la Figura 2-11 se observa la relación lineal que existe entre las respuestas y la concentración de los estándares.

**Tabla 2-11**: Datos de la linealidad del sistema.

| Concentración teórica (mg/mL) | Concentración real (mg/mL) | Réplica | Inyección | Área | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,6 | 0,59 | 1 | 1 | 2457615,00 | 2456861,50 |
| | | | 2 | 2456108,00 | |
| | 0,60 | 2 | 1 | 2465559,00 | 2465327,00 |
| | | | 2 | 2465095,00 | |
| | 0,59 | 3 | 1 | 2457449,00 | 2458536,50 |
| | | | 2 | 2459624,00 | |
| 0,9 | 0,90 | 1 | 1 | 3695687,00 | 3695976,00 |
| | | | 2 | 3696265,00 | |
| | 0,89 | 2 | 1 | 3686173,00 | 3686314,50 |
| | | | 2 | 3686456,00 | |
| | 0,90 | 3 | 1 | 3694877,00 | 3694398,00 |
| | | | 2 | 3693919,00 | |
| 1,2 | 1,20 | 1 | 1 | 4923415,00 | 4924645,50 |
| | | | 2 | 4925876,00 | |
| | 1,19 | 2 | 1 | 4912435,00 | 4912927,00 |
| | | | 2 | 4913419,00 | |
| | 1,19 | 3 | 1 | 4916601,00 | 4915166,50 |
| | | | 2 | 4913732,00 | |
| 1,5 | 1,50 | 1 | 1 | 6151566,00 | 6153388,00 |
| | | | 2 | 6155210,00 | |
| | 1,50 | 2 | 1 | 6145377,00 | 6145803,50 |
| | | | 2 | 6146230,00 | |
| | 1,49 | 3 | 1 | 6142772,00 | 6142517,00 |
| | | | 2 | 6142262,00 | |
| 1,8 | 1,80 | 1 | 1 | 7381721,00 | 7382124,00 |
| | | | 2 | 7382527,00 | |
| | 1,80 | 2 | 1 | 7375116,00 | 7378386,00 |
| | | | 2 | 7381656,00 | |
| | 1,80 | 3 | 1 | 7383622,00 | 7382748,00 |
| | | | 2 | 7381874,00 | |

**Figura 2-11:** Curva de regresión ajustada para la linealidad del sistema.

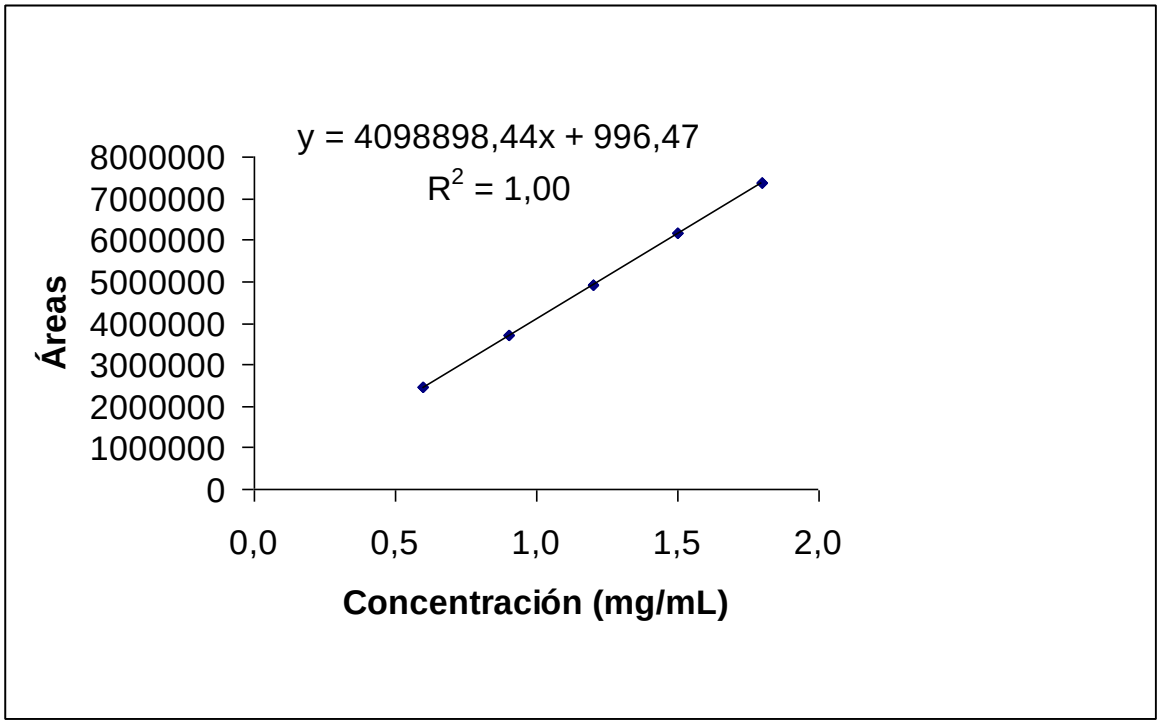



**Tabla 2-12**: Prueba t de Student para la linealidad del sistema.

| Parámetro | Hipótesis nula | t exp | t tab | Concepto |
|---|---|---|---|---|
| Intercepto (a) | Ho: α = 0 | 0,29 | 2,16 | Se acepta la hipótesis nula |
| Pendiente (b) | Ho: β = 0 | 1404,70 | 2,16 | Se rechaza la hipótesis nula |
| Correlación (r) | Ho: r = 0 | 1404,70 | 2,16 | Se rechaza la hipótesis nula |

**Tabla 2-13**: Prueba de ANOVA para la linealidad del sistema.

| Fuente de variación | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrados Medios | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Regresión | 1 | 45362614836246,50 | 45362614836246,50 | 1854456,22 | 4,96 |
| Error residual | 13 | 298865352,57 | | | |
| Falta de ajuste | 3 | 54251247,57 | 18083749,19 | 0,74 | 3,71 |
| Error puro | 10 | 244614105,00 | 24461410,50 | | |
| Error total | 14 | 45362913701599,10 | | | |

**Tabla 2-14**: Resultados para la linealidad del sistema.

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación | Resultado |
|---|---|---|
| Coeficiente de correlación | El coeficiente de correlación debe ser mayor de 0,999 | Coeficiente de correlación: 0,999997<br><br>0,999997 >0,999<br><br>El coeficiente de correlación: Cumple |
| Test de hipótesis para la pendiente | Si Texp > Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la pendiente es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para la pendiente cumple | Pendiente: 4098898,44<br><br>Texp: 1404,70<br><br>Ttab: 2,16<br><br>Texp > Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la pendiente es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para la pendiente cumple |
| Test de hipótesis para el intercepto | Si Texp < Ttab se aprueba la hipótesis nula, es decir el intercepto no es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis cumple | Intercepto: 996,47<br><br>Texp: 0,29<br><br>Ttab: 2,16<br><br>Texp < Ttab se aprueba la hipótesis nula, es decir el intercepto no es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para el intercepto cumple |
| Test de hipótesis para el coeficiente de correlación | Si Texp >Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la correlación entre X e Y es significativa, por lo tanto este test de hipótesis cumple | Coeficiente de correlación: 0,999997<br><br>Texp: 1404,70<br><br>Ttab: 2,16<br><br>Texp >Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la correlación entre X e Y es significativa, por lo tanto este test de hipótesis cumple |
| Análisis de varianza para la regresión lineal. | Para la regresión**:** Si Fexp >Ftab, la regresión es estadísticamente representativa, por lo tanto el ANOVA para la regresión cumple | Fexp: 1854456,22<br><br>Ftab: 4,96<br><br>Fexp > Ftab, la regresión es estadísticamente representativa, por lo tanto el ANOVA para la regresión cumple |
| | Para la linealidad**:** Si Fexp <Ftab, la falta de ajuste no es representativa, por lo tanto el ANOVA para la linealidad cumple. | Fexp: 0,74<br><br>Ftab: 3,71<br><br>Fexp < Ftab, la falta de ajuste no es representativa, por lo tanto el ANOVA para la linealidad cumple |

## ▪ Linealidad del método

En las Tablas de la 2-15 a la 2-18 se muestran los datos obtenidos para la linealidad del método, los tratamientos estadísticos y los resultados para la aprobación de éste parámetro.

**Tabla 2-15**: Datos de la linealidad del método.

| Concentración teórica (mg/mL) | Concentración real (mg/mL) | Réplica | Inyección | Área | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,6 | 0,60 | 1 | 1 | 2537314,00 | 2536180,50 |
| | | | 2 | 2535047,00 | |
| | 0,60 | 2 | 1 | 2539125,00 | 2540168,00 |
| | | | 2 | 2541211,00 | |
| | 0,59 | 3 | 1 | 2529602,00 | 2529952,00 |
| | | | 2 | 2530302,00 | |
| 0,9 | 0,90 | 1 | 1 | 3802972,00 | 3804742,00 |
| | | | 2 | 3806512,00 | |
| | 0,89 | 2 | 1 | 3795768,00 | 3796250,00 |
| | | | 2 | 3796732,00 | |
| | 0,89 | 3 | 1 | 3794920,00 | 3795236,00 |
| | | | 2 | 3795552,00 | |
| 1,2 | 1,20 | 1 | 1 | 5066570,00 | 5067387,50 |
| | | | 2 | 5068205,00 | |
| | 1,19 | 2 | 1 | 5062582,00 | 5063148,50 |
| | | | 2 | 5063715,00 | |
| | 1,20 | 3 | 1 | 5072788,00 | 5070913,00 |
| | | | 2 | 5069038,00 | |
| 1,5 | 1,49 | 1 | 1 | 6328946,00 | 6328899,50 |
| | | | 2 | 6328853,00 | |
| | 1,50 | 2 | 1 | 6332453,00 | 6333073,50 |
| | | | 2 | 6333694,00 | |
| | 1,49 | 3 | 1 | 6328840,00 | 6329182,00 |
| | | | 2 | 6329524,00 | |
| 1,8 | 1,80 | 1 | 1 | 7601200,00 | 7599940,50 |
| | | | 2 | 7598681,00 | |
| | 1,79 | 2 | 1 | 7595687,00 | 7594271,00 |
| | | | 2 | 7592855,00 | |
| | 1,79 | 3 | 1 | 7590947,00 | 7592652,50 |
| | | | 2 | 7594358,00 | |

En la Figura 2-12 se observa la relación lineal que existe entre las respuestas y la concentración de las muestras.

**Figura 2-12:** Curva de regresión ajustada para la linealidad del método.

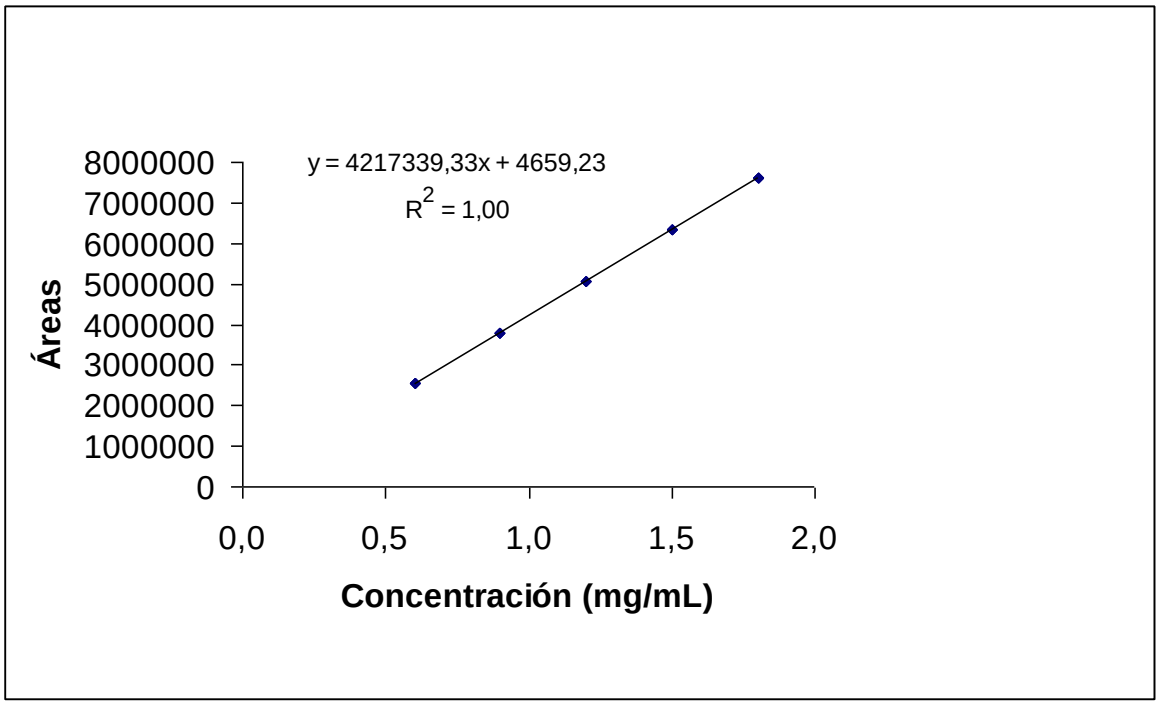



**Tabla 2-16**: Prueba t de Student para la linealidad del método.

| Parámetro | Hipótesis nula | t exp | t tab | Concepto |
|---|---|---|---|---|
| Intercepto (a) | Ho: α = 0 | 1,69 | 2,16 | Se acepta la hipótesis nula |
| Pendiente (b) | Ho: β = 0 | 1792,89 | 2,16 | Se rechaza la hipótesis nula |
| Correlación (r) | Ho: r = 0 | 1792,89 | 2,16 | Se rechaza la hipótesis nula |

**Tabla 2-17**: Prueba de ANOVA para la linealidad del método.

| Fuente de variación | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrados Medios | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Regresión | 1 | 48022067841697,20 | 48022067841697,20 | 2698997,99 | 4,96 |
| Error Residual | 13 | 194212911,71 | | | |
| Falta de ajuste | 3 | 16287370,71 | 5429123,57 | 0,31 | 3,71 |
| Error puro | 10 | 177925541,00 | 17792554,10 | | |
| Error total | 14 | 48022262054608,90 | | | |

**Tabla 2-18**: Resultados para la linealidad del método.

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación | Resultado |
|---|---|---|
| Coeficiente de correlación | El coeficiente de correlación debe ser mayor de 0.999 | Coeficiente de correlación: 0,999998<br><br>0,999998 >0,999<br><br>El coeficiente de correlación: Cumple |
| Test de hipótesis para la pendiente | Si Texp > Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la pendiente es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para la pendiente cumple | Pendiente: 4217339,33<br><br>t exp: 1792,89<br><br>t tab: 2,16<br><br>t exp > t tab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la pendiente es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para la pendiente cumple |
| Test de hipótesis para el intercepto | Si Texp < Ttab se aprueba la hipótesis nula, es decir el intercepto no es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis cumple | Intercepto: 4659,23<br><br>t exp: 1792,89<br><br>t tab: 2,16<br><br>t exp < t tab se aprueba la hipótesis nula, es decir el intercepto no es significativamente diferente de cero por lo tanto el test de hipótesis para el intercepto cumple |
| Test de hipótesis para el coeficiente de correlación | Si Texp >Ttab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la correlación entre X e Y es significativa, por lo tanto este test de hipótesis cumple | Coeficiente de correlación: 0,999998<br><br>t exp: 1792,89<br><br>t tab: 2,16<br><br>t exp >t tab no se aprueba la hipótesis nula, es decir la correlación entre X e Y es significativa, por lo tanto este test de hipótesis cumple |
| Análisis de varianza para la regresión lineal. | Para la regresión**:** Si Fexp >Ftab, la regresión es estadísticamente representativa, por lo tanto el ANOVA para la regresión cumple | Fexp: 2698997,99<br><br>Ftab: 4,96<br><br>Fexp > Ftab, la regresión es estadísticamente representativa, por lo tanto el ANOVA para la regresión cumple |
| | Para la linealidad**:** Si Fexp <Ftab, la falta de ajuste no es representativa, por lo tanto el ANOVA para la linealidad cumple. | Fexp: 0,31<br><br>Ftab: 3,71<br><br>Fexp < Ftab, la falta de ajuste no es representativa, por lo tanto el ANOVA para la linealidad cumple |

Dentro del rango de concentración estudiado, tanto para la linealidad del sistema como para la linealidad del método, se observaron valores de $R^2$ de 1, lo que indica un comportamiento lineal. Como se muestra en las Tablas 2-12 y 2-16, los valores calculados del t exp tanto para la pendiente como el coeficiente de correlación son mayores que el t tab (2,16). La prueba t para un nivel de confianza del 95% y n-2 grados de libertad indica que estadísticamente hay proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango comprendido entre 0,6 y 1,8 mg/mL. También indica que la pendiente es estadísticamente diferente de cero y el intercepto no es estadísticamente diferente a dicho valor.

Las Tablas 2-13 y 2-17 donde se muestran las pruebas de ANOVA, indican que la regresión es estadísticamente representativa debido a que el F exp es mayor que el F tab (4,96) y la falta de ajuste no es representativa, ya que el F exp fue menor que el F tab (3,71).

Las Figuras 2-11 y 2-12 representan las curvas de regresión ajustadas para linealidad del sistema y método respectivamente. En ellas se puede apreciar la proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango comprendido entre 0,6 y 1,8 mg/mL.

## 2.3.4 Precisión

- ### Precisión del sistema

La tabla 2-19 muestra que el coeficiente de variación para la precisión del sistema es inferior al 2%, lo que indica que el sistema es preciso desde el punto de vista de repetibilidad.

**Tabla 2-19**: Datos de repetibilidad del sistema.

| Concentración | Inyección | Área |
|---|---|---|
| 1,2mg/mL | 1 | 4916904,00 |
| | 2 | 4930404,00 |
| | 3 | 4908246,00 |
| | 4 | 4922751,00 |
| | 5 | 4920712,00 |
| | 6 | 4923923,00 |
| | Promedio | 4920490,00 |
| | SD | 7456,66 |
| | CV | 0,15 |

## ▪ Precisión del método

La tabla 2-20 muestra que el coeficiente de variación para la precisión del método es inferior al 2%, lo que indica que el método es preciso desde el punto de vista de repetibilidad.

**Tabla 2-20**: Datos de repetibilidad del método.

| Concentración | Inyección | Área |
|---|---|---|
| 1,2mg/mL | 1 | 5149909,00 |
| | 2 | 5154062,00 |
| | 3 | 5153254,00 |
| | 4 | 5162562,00 |
| | 5 | 5162356,00 |
| | 6 | 5161535,00 |
| | Promedio | 5157279,67 |
| | SD | 5525,69 |
| | CV | 0,11 |

## ▪ Precisión intermedia

En las Tablas 2-21 y 2-22 se muestran los datos obtenidos para la precisión intermedia y los tratamientos estadísticos realizados.

**Tabla 2-21**: Datos de precisión intermedia para la concentración 1,2 mg/mL.

| Concentración (mg/mL) | Analista | Área | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 |
| 1,2 | 1 | 5149909,00 | 5219969,00 | 5156643,00 |
| | | 5154062,00 | 5212579,00 | 5241981,00 |
| | | 5153254,00 | 5210046,00 | 5141216,00 |
| | 2 | 5162562,00 | 5206696,00 | 5137899,00 |
| | | 5162356,00 | 5196899,00 | 5245987,00 |
| | | 5161535,00 | 5196913,00 | 5151502,00 |

**Tabla 2-22**: Prueba de ANOVA para la precisión intermedia de la concentración 1,2 mg/mL.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F exp | F tab |
|---|---|---|---|---|---|
| Analista | 1 | 16646450 | 16646450 | 0,02 | 4,75 |
| Día | 2 | 7507878564 | 3753939282 | 3,48 | 3,89 |
| Interacción | 2 | 424241497,3 | 212120748,7 | 0,20 | 3,89 |
| Dentro del grupo | 12 | 12950555831 | 1079212986 | | |
| Total | 17 | 20899322342 | | | |

Para la concentración 1,2 mg/mL, el valor de F exp es menor que F tab, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de los analistas 1 y 2 y entre los resultados obtenidos en los días 1, 2 y 3, por lo que se concluye que para el método no existe variabilidad entre los resultados obtenidos al combinar los factores estudiados.

En la Tabla 2-23 se muestras los resultados para la aprobación del parámetro de precisión.

**Tabla 2-23**: Resultados para la precisión.

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación | Resultado | Observación |
|---|---|---|---|
| Coeficiente de varianza (CV) | Precisión del sistema<br>Coeficiente de varianza < 2 | 0,15 | Cumple |
| | Precisión del método<br>Repetibilidad<br>Coeficientes de varianza < 2 | 0,11 | Cumple |
| ANOVA | Precisión intermedia<br>Si Fexp <Ftab, no existe variabilidad entre los resultados obtenidos al combinar los factores, por lo tanto el test ANOVA cumple | Concentración 1,2 mg/mL<br>Fexp día: 0,02<br>Ftab: 4,75<br>Fexp analista: 3,48<br>Ftab: 3,89<br>Fexp interacción: 0,20<br>Ftab: 3,89 | Cumple |

## 2.3.5 Exactitud

En las Tablas 2-24 a 2-27 se muestran los datos obtenidos para la exactitud, los tratamientos estadísticos y los resultados para la aprobación de éste parámetro.

**Tabla 2-24**: Datos para la exactitud

| Nivel de concentración | Número de muestra | Concentración teórica (mg/mL) | Área | Concentración hallada (mg/mL) | % Recuperación |
|---|---|---|---|---|---|
| 50% | 1 | 0,60 | 2696154,0 | 0,60 | 100,162 |
| | 2 | 0,60 | 2696676,0 | 0,60 | 100,180 |
| | 3 | 0,60 | 2687520,0 | 0,59 | 99,840 |
| 100% | 1 | 1,20 | 5383864,0 | 1,20 | 100,005 |
| | 2 | 1,20 | 5379349,0 | 1,19 | 99,921 |
| | 3 | 1,20 | 5381522,0 | 1,19 | 99,961 |
| 150% | 1 | 1,80 | 8074529,0 | 1,79 | 99,989 |
| | 2 | 1,80 | 8078658,0 | 1,80 | 100,040 |
| | 3 | 1,80 | 8066302,0 | 1,79 | 99,887 |

**Tabla 2-25**: Prueba t de Student para la exactitud.

| | |
|---|---|
| % Recuperación Promedio | 99,998 |
| Desviación estándar | 0,12 |
| Desviación estándar relativa | 0,12 |
| t exp | -0,041 |
| t tab | 2,306 |

**Tabla 2-26**: Prueba G de Cochran.

| Muestra | Nivel 50% | Nivel 100% | Nivel 150% |
|---|---|---|---|
| 1 | 50,081 | 100,005 | 149,984 |
| 2 | 50,090 | 99,921 | 150,060 |
| 3 | 49,920 | 99,961 | 149,831 |
| Media | 50,030 | 99,962 | 149,958 |
| SD | 0,096 | 0,042 | 0,117 |
| n | 3,000 | 3,000 | 3,000 |
| Varianza | 0,009 | 0,002 | 0,014 |
| G exp | 0,373 | | |
| G tab | 0,871 | | |

**Tabla 2-27**: Resultados para la exactitud.

| Herramienta estadística | Criterio de aceptación | Resultado | Observación |
|---|---|---|---|
| Porcentaje de recuperación | El porcentaje de recuperación se encuentra entre 97% y 103%para principio activo en medicamento | **Concentración 50%**<br><br>Porcentaje de recuperación: 100,061%<br><br>**Concentración 100%**<br><br>Porcentaje de recuperación: 99,962%<br><br>**Concentración 150%**<br><br>Porcentaje de recuperación: 99,972% | Cumple |
| Test G de Cochran | Si Gexp < Gtab el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados, el test G de Cochran cumple. | Gexp: 0,373<br><br>Gtab: 0,871<br><br>Gexp < Gtab | Cumple |
| Prueba T de Student para exactitud | Si T exp < T tab no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100, confirmando la buena exactitud del método | T exp: -0,041<br><br>T tab: 2,306<br><br>T exp < T tab | Cumple |

La Tabla 2-24 muestra que los porcentajes de recuperación oscilan en torno al 100%, lo que significa que el método analítico es aceptable. Para la prueba t se puede apreciar que el valor de t exp de -0,041 es menor que el valor de t tab 2,306, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los datos y el 100% (ver tabla 2-25). La prueba G de Cochran muestra que existe homogeneidad entre las varianzas para los diferentes niveles de concentración (ver tabla 2-26). Por lo que se concluye que el método cumple con el parámetro de exactitud.

## 2.4 Conclusión

Todos los resultados de los parámetros evaluados en la validación del método HPLC para la cuantificación de clindamicina en una preparación liquida extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas, cumplen con los criterios de aceptación, mostrando que el método es selectivo, lineal, preciso y exacto. El método analítico es confiable y reproducible para el propósito destinado.

# 3. Estudio de estabilidad de la preparación líquida preparación extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas

El objetivo de éste capítulo es dar a conocer los resultados obtenidos y el análisis respectivo del estudio de estabilidad de la preparación líquida extemporánea elaborada a partir de clindamicina capsulas sometida a condiciones de 30º C ± 2º C y 70% ± 5% de humedad relativa y 5º C ± 2º C , envasada en frascos PET ámbar por 30mL con el fin de evaluar la influencia de dos vehículos de uso hospitalario, dextrosa al 50% y agua destilada, sobre la estabilidad física, química y microbiológica de ésta. Además, elaborar el protocolo de preparación y dar las recomendaciones de almacenamiento y uso de la preparación líquida extemporánea.

## 3.1 Materiales, equipos y métodos

### 3.1.1 Materiales

Estándar de clindamicina clorhidrato USP, agua HPLC, fosfato monobásico de potasio (Merck), acetonitrilo HPLC (Merck), ácido fosfórico G.R. (Merck), hidróxido de potasio G.R. (Merck), lactosa USP, almidón de maíz USP, talco USP, estearato de magnesio USP, viales HPLC, membrana HV Durapore en PVDF 0.45µm de poro y 47 mm de diámetro, membrana HV Durapore en PVDF 0.45µm de poro y 13 mm de diámetro, Columna Luna 5u Phenyl-Hexyl 250 x 4,60 mm (Phenomenex), vasos de precipitados, pipetas, balones aforados, mortero de porcelana, pistilo, probeta, espátulas, dextrosa al 50%, glicerina USP, agua destilada, clindamicina 300mg/capsula

## 3.1.2 Equipos

- Cromatógrafo líquido de alta resolución Marca Waters Modelo Breeze acoplado a un detector UV con arreglo de diodos 2996
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Ultrasonido Elmasonic E180H
- Nevera Westinghouse
- Cuarto de estabilidad natural Tecnyca 30º C ± 2º C y 70% ± 5% de humedad relativa
- pHmetro Mettler Toledo
- Agitador magnético Corning

## 3.1.3 Método de cuantificación

Para la cuantificación de la clindamicina se empleó el método validado descrito en el ítem 2.1.3.

## 3.1.4 Descripción del estudio

- **Elaboración de las preparaciones extemporáneas**

Se tomó un lote del producto clindamicina 300mg/capsulas de una marca comercial del mercado colombiano y se realizó la valoración del principio activo. Se procedió a realizar los cálculos respectivos para elaborar 3 lotes de 500mL con cada vehículo con una concentración de clindamicina de 75mg/5mL. Para elaborar cada lote de la preparación extemporánea, se depositó el contenido de 25 cápsulas en un mortero, se trituró la muestra hasta polvo fino y se homogenizó. Se adicionaron poco a poco y con agitación constante 75 mL de glicerina USP para humectar la mezcla de polvo hasta forma una pasta. Con ayuda del solvente de uso hospitalario (dextrosa al 50% o agua destilada), se transfirió cuantitativamente la pasta formada a un balón aforado de 500 mL. Se completó a volumen con el mismo solvente y se agitó vigorosamente para lograr una dispersión adecuada.

Una vez realizados los 3 lotes de las preparaciones extemporáneas con los vehículos 1 y 2, fueron envasados 20 mL en frascos PET ámbar con tapa rosca plástica e identificados.

En las Tablas 3-1 y 3-2, se describen las fórmulas cuali-cuantitativas para la preparación extemporánea elaborada con los vehículos 1 y 2, respectivamente.

**Tabla 3-1**: Formula cuali-cuantitativa de la preparación extemporánea 1.

| **Principio activo** | **Cantidad (mg)** | |
|---|---|---|
| Clindamicina clorhidrato | 325,74mg equivalente a 300,00 mg de clindamicina base | 8143,50mg equivalente a 7500,00mg de clindamicina base |
| **Excipientes** | | |
| Almidón de maíz | 37,50 | 937,50 |
| Lactosa | 119,26 | 2981,50 |
| Talco | 15,00 | 375,00 |
| Estearato de magnesio | 2,50 | 62,50 |
| **Vehículo 1** | **Cantidad (mL)** | |
| Glicerina USP | 3,00 | 75,00 |
| Dextrosa al 50% | csp 20,00mL | csp 500,00mL |

**Tabla 3-2**: Formula cuali-cuantitativa de la preparación extemporánea 2.

| **Principio activo** | **Cantidad (mg)** | |
|---|---|---|
| Clindamicina clorhidrato | 325,74mg equivalente a 300,00 mg de clindamicina base | 8143,50mg equivalente a 7500,00mg de clindamicina base |
| **Excipientes** | | |
| Almidón de maíz | 37,50 | 937,50 |
| Lactosa | 119,26 | 2981,50 |
| Talco | 15,00 | 375,00 |
| Estearato de magnesio | 2,50 | 62,50 |
| **Vehículo 2** | **Cantidad (mL)** | |
| Glicerina USP | 3,00 | 75,00 |
| Agua destilada | csp 20,00mL | csp 500,00mL |

- **Análisis y muestreo de las preparaciones extemporáneas**

Las preparaciones extemporáneas fueron analizadas para tomar los datos del tiempo inicial, y luego almacenadas a las condiciones de estudio, 30º C ± 2º C de temperatura y 70% ± 5% de humedad relativa y 5° C. Posteriormente se realizaron muestreos a las 8, 24, 48, 72 y 360 horas para su análisis físico, químico y microbiológico.

- **Evaluación de la estabilidad física**

La estabilidad física se determinó por observaciones directas del cambio de color, olor. Así mismo se realizaron mediciones de pH de cada una de las muestras sometidas a las diferentes condiciones de estudio. El resultado se reportó como cambió o no cambió. Las mediciones de pH se determinaron directamente sobre la preparación extemporánea con un pH-metro con sensibilidad de ± 0,02.

- **Evaluación de la estabilidad química**

La estabilidad química se determinó mediante el análisis del contenido de clindamicina hallado en cada muestra en función del tiempo. Se efectuó un análisis estadístico de igualdad de modelos. Este procedimiento permite detectar cualquier alteración no controlada en las muestras del estudio para descartar el dato. Comprobada la igualdad, se realizó una regresión conjunta de los datos para evaluar el comportamiento.

- **Evaluación de la estabilidad microbiológica**

La estabilidad microbiológica se evaluó mediante análisis microbiológico siguiendo los lineamientos de la USP 35 para la determinación de aerobios mesófilos, coliformes totales, *E. Coli*, *S. Aureus*, *P. Aeruginosa*, *Salmonella* y hongos y levaduras. La determinación se realizó al tiempo inicial y final del estudio.

### 3.1.5 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea

Una vez se definió en cual vehículo y bajo qué condiciones de almacenamiento es más estable la preparación extemporánea, se procedió a elaborar un protocolo para su elaboración y se establecieron las recomendaciones para su uso.

## 3.2 Resultados y discusión

### 3.2.1 Descripción del estudio

- **Elaboración de las preparaciones extemporáneas**

En la Figura 3-1 se muestra las preparaciones extemporáneas envasadas y rotuladas para ser almacenadas.

**Figura 3-1:** Preparaciones extemporáneas envasadas en frascos PET ámbar.

- **Evaluación de la estabilidad física**

En las Tablas 3-3 y 3-4 se muestran los datos obtenidos de la evaluación de la estabilidad física de la preparación extemporánea 1 y 2, respectivamente a las condiciones de almacenamiento de 5º C y 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R a los tiempo de muestreo de inicio, 8, 24, 48, 72 y 360 horas.

**Tabla 3-3**: Datos de estabilidad física de la preparación extemporánea 1.

| Tiempo de muestreo | Condición ambiental | Lote | pH | Color | Olor |
|---|---|---|---|---|---|
| inicio | - | 1 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,42 | Blanco | Característico |
| 8 horas | 5º C | 1 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,40 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 2,48 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,46 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,48 | Blanco | Característico |
| 24 horas | 5º C | 1 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,42 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 2,44 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,43 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,44 | Blanco | Característico |
| 48 horas | 5º C | 1 | 2,42 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,42 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 2,40 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,40 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,41 | Blanco | Característico |
| 72 horas | 5º C | 1 | 2,36 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,37 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,38 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 2,41 | Blanco | Mal olor |
| | | 2 | 2,40 | Blanco | Mal olor |
| | | 3 | 2,41 | Blanco | Mal olor |

| Tiempo de muestreo | Condición ambiental | Lote | pH | Color | Olor |
|---|---|---|---|---|---|
| 360 horas | 5º C | 1 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 2,40 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 2,41 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 2,44 | Blanco | Mal olor |
| | | 2 | 2,43 | Blanco | Mal olor |
| | | 3 | 2,44 | Blanco | Mal olor |

**Tabla 3-4**: Datos de estabilidad física de la preparación extemporánea 2.

| Tiempo de muestreo | Condición ambiental | Lote | pH | Color | Olor |
|---|---|---|---|---|---|
| Inicio | - | 1 | 6,22 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,23 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,22 | Blanco | Característico |
| 8 horas | 5º C | 1 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,18 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,17 | Blanco | Característico |
| 24 horas | 5º C | 1 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 6,09 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,10 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,11 | Blanco | Característico |
| 48 horas | 5º C | 1 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,15 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 6,05 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,04 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,06 | Blanco | Característico |
| 72 horas | 5º C | 1 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 6,02 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,04 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,03 | Blanco | Característico |

| Tiempo de muestreo | Condición ambiental | Lote | pH | Color | Olor |
|---|---|---|---|---|---|
| 360 horas | 5º C | 1 | 6,17 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 6,16 | Blanco | Característico |
| | 30º C, 70% H.R. | 1 | 6,00 | Blanco | Característico |
| | | 2 | 6,01 | Blanco | Característico |
| | | 3 | 5,98 | Blanco | Característico |

Desarrollo de coloración: según la inspección visual no se observó ningún cambio de color de las preparaciones extemporáneas, conservando el color de la muestra original por lo que se consideró que durante el tiempo del estudio este parámetro no cambia significativamente.

Desarrollo de olor: durante todo el tiempo del estudio a la temperatura de 5º C no se presentó un cambio de olor en las diferentes muestras sometidas a ésta condición de almacenamiento. Para el ensayo a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% de humedad relativa, en las primeras 48 horas no se detectó cambio alguno del olor, pero a partir de las 72 horas se detectó la aparición de un olor atípico en la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 1. La aparición de olor en la preparación extemporánea puede ser atribuible a la manifestación de la degradación hidrolítica del tioglicósido de la clindamicina, que se da a valores de pH menores de 4, pH promedio de la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 1 al tiempo inicial de 2,41, para producir 1-dethiomethyl-1-hydroxylincomycin y methylmercaptan, siendo éste último el responsable del olor nauseabundo. Mientras que para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2 el pH promedio al tiempo inicial fue de 6,22, que se encuentra dentro del rango de pH de 5 a 9, el cual promueve la degradación hidrolítica de la clindamicina al antibiótico lincomicina, que no posee un olor desagradable o nauseabundo característico del methylmercaptan. (8) El hecho que sólo se haya detectado la producción de este olor desagradable en la preparación almacenada a 30º C ± 2º C y 70% ± 5% de humedad relativa, nos muestra la influencia de la temperatura sobre la degradación, ya que al aumentar la temperatura aumenta la velocidad de degradación, lo que se explica por el

incremento en el número de posibles colisiones efectivas produciendo la consecuente degradación. (23). En las figuras 3-2 y 3.-3 se muestran las reacciones de degradación de la clindamicina a valores de pH menores de 4 y dentro del rango de 5 a 9

**Figura 3-2:** Degradación de la clindamicina a valores de pH menores de 4,0. [`8]

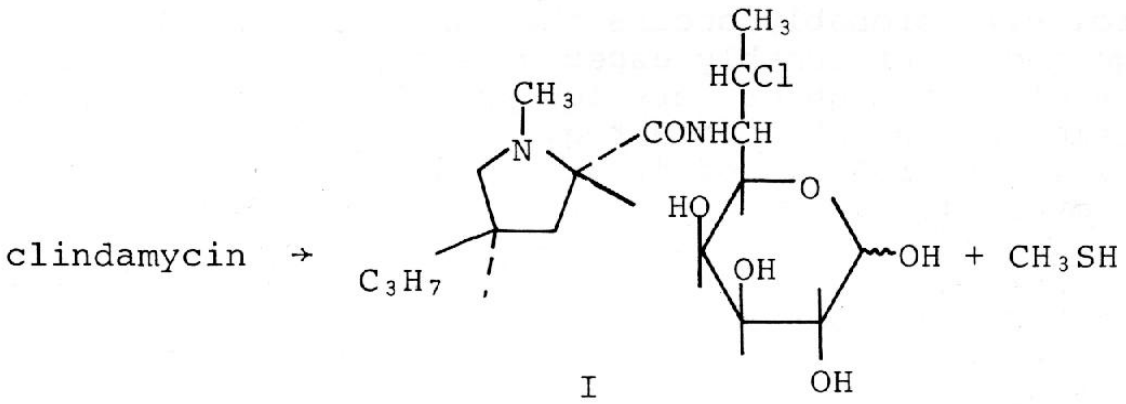
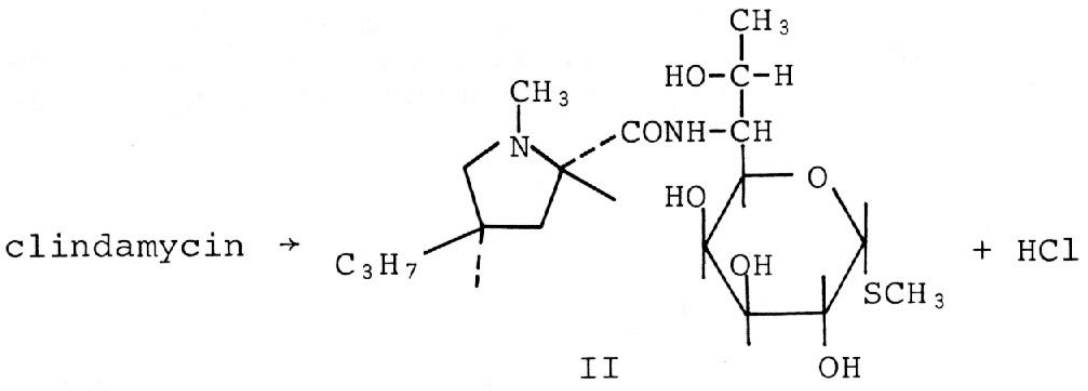



**Figura 3-3:** Degradación de la clindamicina a valores de pH de 5,0 a 9,0. [`8]




Alteración de pH: para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 1, se obtuvo un pH promedio a tiempo inicial de 2,41. Después de 360 horas almacenadas a 5° C el pH promedio hallado fue de 2,41, mientras que para la condición 30° C ± 2º C y 70%± 5% HR, el pH promedio hallado fue de 2,44. En el caso de la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2, se obtuvo un pH promedio a tiempo inicial de 6,22. Luego de ser almacenadas durante 360 horas a 5° C el pH promedio hallado fue de

6,16, mientras que para la condición 30° C ± 2º C y 70% ± 5% HR, el pH promedio obtenido fue de 6,09. Se observó que no hubo un cambio significativo en unidades de pH, manteniéndose dentro del rango de desviación de ± 0,05 unidades a lo largo del estudio de estabilidad para las preparaciones extemporáneas elaboradas con el vehículo 1 a las 2 condiciones ambientales y para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2 almacenada a 5º C. Sin embargo, para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2 almacenada a 30° C ± 2º C y 70% ± 5% HR, se observa una disminución en 0,13 unidades, producto de las reacciones hidrolíticas aceleradas por el aumento de temperatura que indican la degradación del principio activo con la consecuente modificación del pH del medio. En las Figuras de la 3-4 a la 3.-7 se evidencia el comportamiento del pH de las preparaciones extemporáneas a través del tiempo.

**Figura 3-4:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 1 a 5º C.

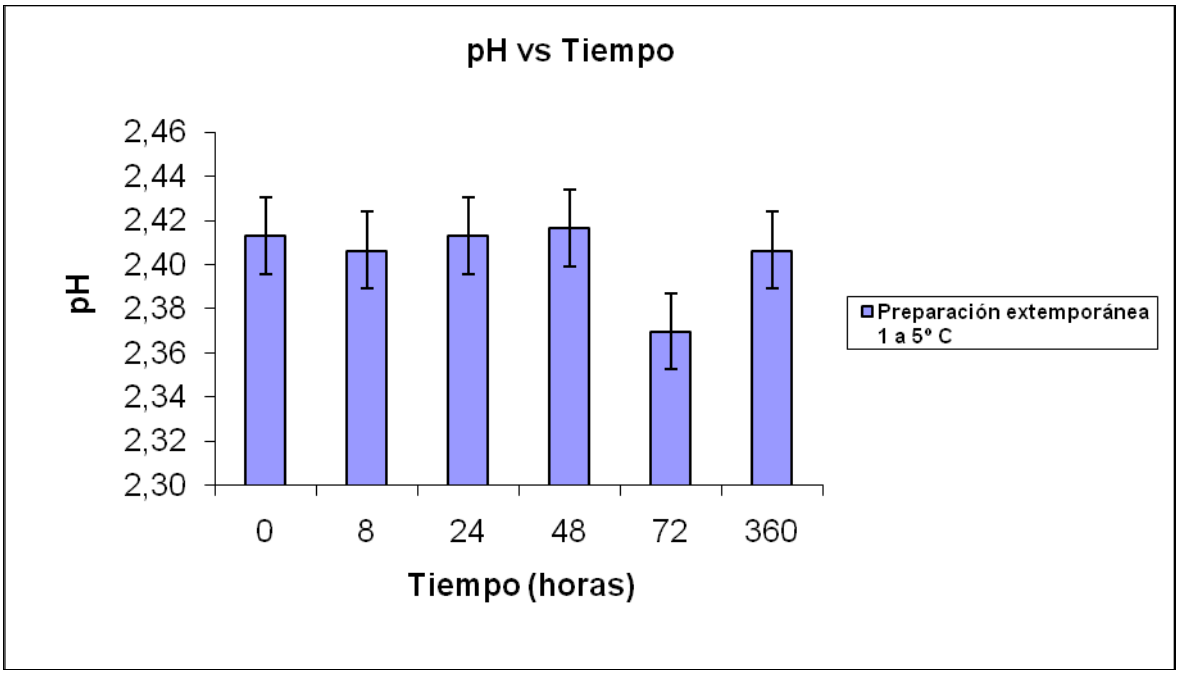


**Figura 3-5:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 1 a 30°C± 2º C y 70%± 5% HR.

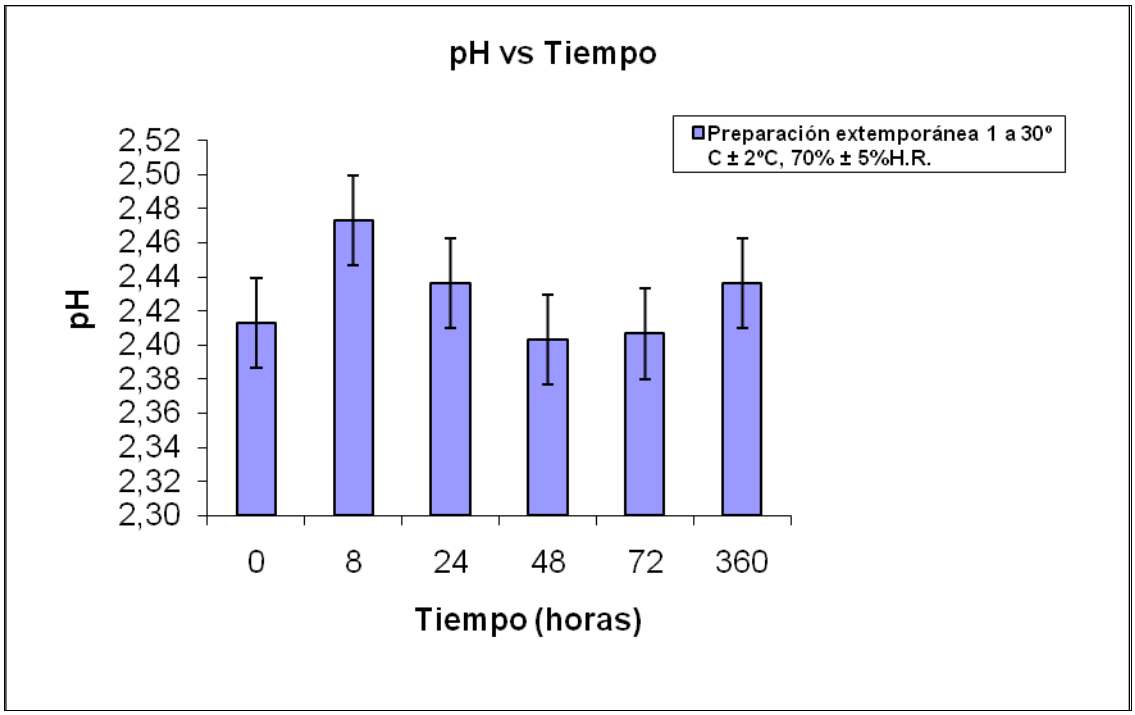



**Figura 3-6:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 2 a 5º C.

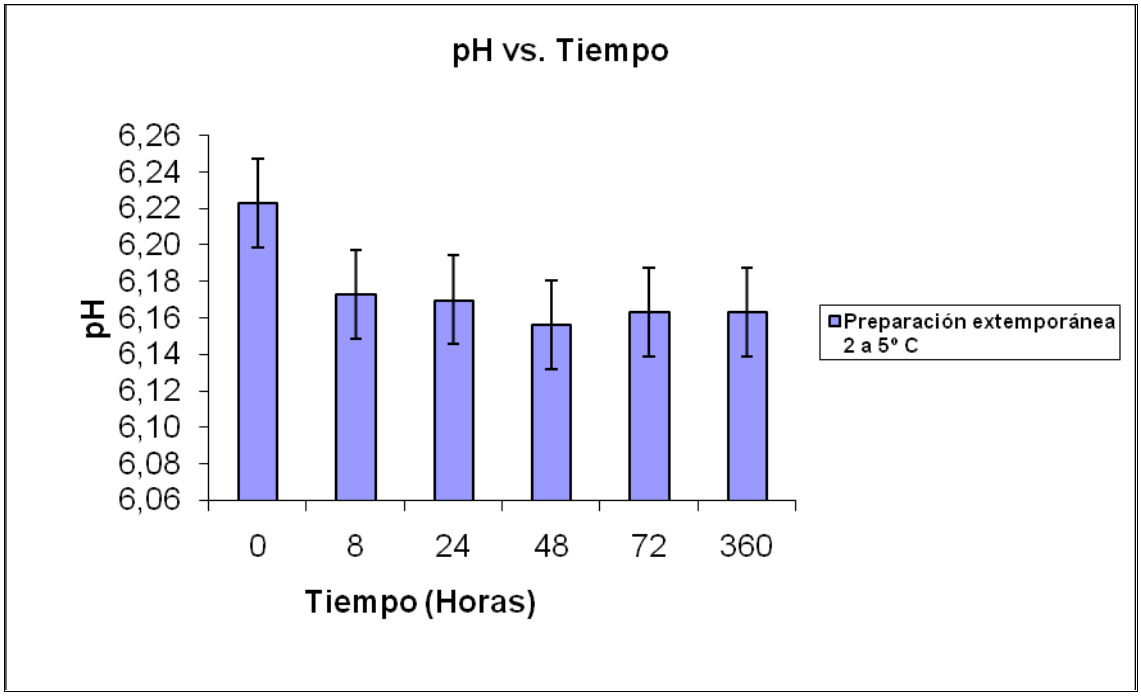
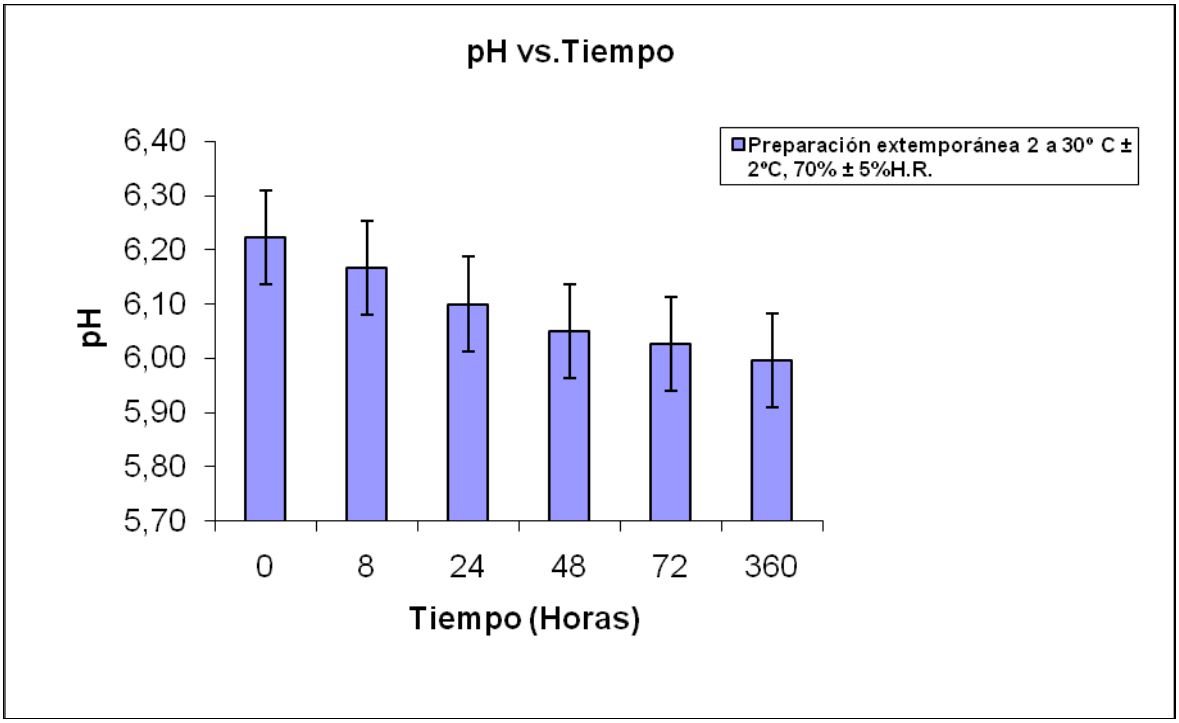


**Figura 3-7:** Comportamiento de pH de la preparación extemporánea 2 a 30°C± 2º C y 70%± 5% HR.




Aspecto físico: para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 1, se obtuvo un sistema liquido homogéneo, donde los excipientes de la capsula permanecían suspendidos, mientras que para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2, se observaba que los excipientes de la cápsula, a medida que pasaba el tiempo formaban aglomerados, por lo cual había que realizar una agitación vigorosa. Esto se debe a la naturaleza del solvente usado, ya que la solución de dextrosa al 50% posee una mayor viscosidad que el agua destilada lo que produce una disminución de la velocidad de sedimentación de los sólidos suspendidos en el vehículo (24). En la figura 3-8 se comparan los aspectos físicos de las preparaciones extemporáneas.

**Figura 3-8:** Aspectos físicos de las preparaciones extemporáneas 1 (izquierda) y 2 (derecha).

- ## Evaluación de la estabilidad química

En las Tablas 3-5 y 3-6 se relacionan los porcentajes de concentración remanente para las preparaciones extemporáneas 1 y 2, respectivamente, a las condiciones de almacenamiento de 5º C y 30º C ± 2º C y 70% ± 5% H.R a los tiempo de muestreo de inicio, 8, 24, 48, 72 y 360 horas

**Tabla 3-5**: Datos de estabilidad química de la preparación extemporánea 1.

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,299 | 100,233 |
| | | | | | 2 | 99,270 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,507 | |
| | | | | | 2 | 100,368 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,618 | |
| | | | | | 2 | 100,336 | |
| | | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 98,585 | 98,458 |
| | | | | | 2 | 98,318 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,266 | |
| | | | | | 2 | 98,553 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,253 | |
| | | | | | 2 | 98,773 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 96,510 | 96,550 |
| | | | | | 2 | 96,551 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,286 | |
| | | | | | 2 | 96,762 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,577 | |
| | | | | | 2 | 96,612 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 96,273 | 96,286 |
| | | | | | 2 | 96,238 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,334 | |
| | | | | | 2 | 96,225 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,336 | |
| | | | | | 2 | 96,308 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 5º C | 72 horas | 1 | 1 | 95,559 | 95,558 |
| | | | | | 2 | 95,696 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,849 | |
| | | | | | 2 | 95,200 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,458 | |
| | | | | | 2 | 95,585 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 88,080 | 88,349 |
| | | | | | 2 | 88,613 | |
| | | | | 2 | 1 | 88,119 | |
| | | | | | 2 | 88,244 | |
| | | | | 3 | 1 | 88,842 | |
| | | | | | 2 | 88,196 | |
| | | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 98,354 | 98,227 |
| | | | | | 2 | 98,108 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,272 | |
| | | | | | 2 | 98,079 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,166 | |
| | | | | | 2 | 98,387 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 96,299 | 96,375 |
| | | | | | 2 | 96,547 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,637 | |
| | | | | | 2 | 96,587 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,064 | |
| | | | | | 2 | 96,117 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 48 horas | 1 | 1 | 96,025 | 96,120 |
| | | | | | 2 | 96,153 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,113 | |
| | | | | | 2 | 96,116 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,187 | |
| | | | | | 2 | 96,125 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 95,607 | 95,715 |
| | | | | | 2 | 95,729 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,660 | |
| | | | | | 2 | 95,894 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,642 | |
| | | | | | 2 | 95,758 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 88,508 | 87,752 |
| | | | | | 2 | 87,499 | |
| | | | | 2 | 1 | 86,145 | |
| | | | | | 2 | 88,237 | |
| | | | | 3 | 1 | 88,005 | |
| | | | | | 2 | 88,115 | |
| | 2 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,517 | 100,538 |
| | | | | | 2 | 100,293 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,676 | |
| | | | | | 2 | 100,230 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,777 | |
| | | | | | 2 | 100,739 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 98,023 | 98,374 |
| | | | | | 2 | 98,455 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,135 | |
| | | | | | 2 | 98,786 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,554 | |
| | | | | | 2 | 98,292 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 96,882 | 96,536 |
| | | | | | 2 | 96,421 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,545 | |
| | | | | | 2 | 96,426 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,328 | |
| | | | | | 2 | 96,775 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 96,266 | 96,312 |
| | | | | | 2 | 96,255 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,361 | |
| | | | | | 2 | 96,400 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,273 | |
| | | | | | 2 | 96,314 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 95,326 | 95,537 |
| | | | | | 2 | 95,648 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,244 | |
| | | | | | 2 | 95,852 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,288 | |
| | | | | | 2 | 95,865 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 5º C | 360 horas | 1 | 1 | 87,117 | 87,388 |
| | | | | | 2 | 87,440 | |
| | | | | 2 | 1 | 87,206 | |
| | | | | | 2 | 87,655 | |
| | | | | 3 | 1 | 87,213 | |
| | | | | | 2 | 87,695 | |
| | | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 98,283 | 98,366 |
| | | | | | 2 | 98,326 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,361 | |
| | | | | | 2 | 98,534 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,214 | |
| | | | | | 2 | 98,475 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 96,445 | 96,405 |
| | | | | | 2 | 96,416 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,414 | |
| | | | | | 2 | 96,349 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,460 | |
| | | | | | 2 | 96,345 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 96,195 | 96,226 |
| | | | | | 2 | 96,165 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,237 | |
| | | | | | 2 | 96,207 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,295 | |
| | | | | | 2 | 96,259 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R. | 72 horas | 1 | 1 | 95,502 | 95,450 |
| | | | | | 2 | 95,275 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,538 | |
| | | | | | 2 | 95,723 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,297 | |
| | | | | | 2 | 95,363 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 88,572 | 88,385 |
| | | | | | 2 | 88,246 | |
| | | | | 2 | 1 | 88,311 | |
| | | | | | 2 | 88,459 | |
| | | | | 3 | 1 | 88,249 | |
| | | | | | 2 | 88,472 | |
| | 3 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,302 | 100,478 |
| | | | | | 2 | 100,656 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,478 | |
| | | | | | 2 | 100,414 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,632 | |
| | | | | | 2 | 100,387 | |
| | | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 98,736 | 98,306 |
| | | | | | 2 | 98,137 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,038 | |
| | | | | | 2 | 98,028 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,449 | |
| | | | | | 2 | 98,449 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 5º C | 24 horas | 1 | 1 | 96,424 | 96,397 |
| | | | | | 2 | 96,260 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,491 | |
| | | | | | 2 | 96,208 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,572 | |
| | | | | | 2 | 96,428 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 96,266 | 96,296 |
| | | | | | 2 | 96,212 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,355 | |
| | | | | | 2 | 96,254 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,350 | |
| | | | | | 2 | 96,341 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 95,309 | 95,461 |
| | | | | | 2 | 95,683 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,719 | |
| | | | | | 2 | 95,312 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,249 | |
| | | | | | 2 | 95,494 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 87,804 | 87,833 |
| | | | | | 2 | 87,843 | |
| | | | | 2 | 1 | 88,161 | |
| | | | | | 2 | 87,591 | |
| | | | | 3 | 1 | 87,847 | |
| | | | | | 2 | 87,749 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 98,687 | 98,490 |
| | | | | | 2 | 98,524 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,577 | |
| | | | | | 2 | 98,550 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,341 | |
| | | | | | 2 | 98,258 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 96,489 | 96,508 |
| | | | | | 2 | 96,628 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,339 | |
| | | | | | 2 | 96,568 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,377 | |
| | | | | | 2 | 96,648 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 96,217 | 96,286 |
| | | | | | 2 | 96,126 | |
| | | | | 2 | 1 | 96,455 | |
| | | | | | 2 | 96,158 | |
| | | | | 3 | 1 | 96,355 | |
| | | | | | 2 | 96,403 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 95,540 | 95,428 |
| | | | | | 2 | 95,277 | |
| | | | | 2 | 1 | 95,468 | |
| | | | | | 2 | 95,418 | |
| | | | | 3 | 1 | 95,570 | |
| | | | | | 2 | 95,294 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R | 360 horas | 1 | 1 | 88,546 | 88,531 |
| | | | | | 2 | 88,326 | |
| | | | | 2 | 1 | 88,593 | |
| | | | | | 2 | 88,536 | |
| | | | | 3 | 1 | 88,708 | |
| | | | | | 2 | 88,480 | |

**Tabla 3-6**: Datos de estabilidad química de la preparación extemporánea 2.

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,229 | 100,335 |
| | | | | | 2 | 100,479 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,117 | |
| | | | | | 2 | 100,168 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,480 | |
| | | | | | 2 | 100,540 | |
| | | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 99,642 | 99,419 |
| | | | | | 2 | 99,052 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,234 | |
| | | | | | 2 | 99,530 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,514 | |
| | | | | | 2 | 99,541 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 99,419 | 99,430 |
| | | | | | 2 | 99,465 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,369 | |
| | | | | | 2 | 99,411 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,454 | |
| | | | | | 2 | 99,462 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 99,308 | 99,316 |
| | | | | | 2 | 99,404 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,270 | |
| | | | | | 2 | 99,373 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,322 | |
| | | | | | 2 | 99,220 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 | 5º C | 72 horas | 1 | 1 | 98,850 | 98,988 |
| | | | | | 2 | 98,946 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,024 | |
| | | | | | 2 | 98,952 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,050 | |
| | | | | | 2 | 99,103 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 97,279 | 97,237 |
| | | | | | 2 | 97,209 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,187 | |
| | | | | | 2 | 97,182 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,206 | |
| | | | | | 2 | 97,359 | |
| | | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 99,239 | 99,459 |
| | | | | | 2 | 99,540 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,696 | |
| | | | | | 2 | 99,024 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,747 | |
| | | | | | 2 | 99,509 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 99,231 | 99,223 |
| | | | | | 2 | 99,346 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,246 | |
| | | | | | 2 | 99,124 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,184 | |
| | | | | | 2 | 99,206 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 48 horas | 1 | 1 | 99,106 | 99,144 |
| | | | | | 2 | 99,154 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,150 | |
| | | | | | 2 | 99,184 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,160 | |
| | | | | | 2 | 99,112 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 98,689 | 98,620 |
| | | | | | 2 | 98,636 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,776 | |
| | | | | | 2 | 98,853 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,364 | |
| | | | | | 2 | 98,400 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 97,485 | 97,487 |
| | | | | | 2 | 97,596 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,503 | |
| | | | | | 2 | 97,496 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,366 | |
| | | | | | 2 | 97,478 | |
| | 2 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,133 | 100,160 |
| | | | | | 2 | 100,092 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,160 | |
| | | | | | 2 | 100,222 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,181 | |
| | | | | | 2 | 100,170 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 2 | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 99,829 | 99,526 |
| | | | | | 2 | 98,570 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,926 | |
| | | | | | 2 | 99,749 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,406 | |
| | | | | | 2 | 99,676 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 99,160 | 99,137 |
| | | | | | 2 | 99,177 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,142 | |
| | | | | | 2 | 99,128 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,117 | |
| | | | | | 2 | 99,096 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 99,164 | 99,167 |
| | | | | | 2 | 99,139 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,284 | |
| | | | | | 2 | 99,121 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,111 | |
| | | | | | 2 | 99,185 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 98,770 | 98,858 |
| | | | | | 2 | 98,810 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,933 | |
| | | | | | 2 | 98,993 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,869 | |
| | | | | | 2 | 98,774 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 2 | 5º C | 360 horas | 1 | 1 | 97,313 | 97,407 |
| | | | | | 2 | 97,531 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,447 | |
| | | | | | 2 | 97,514 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,262 | |
| | | | | | 2 | 97,372 | |
| | | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 99,361 | 99,521 |
| | | | | | 2 | 99,683 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,359 | |
| | | | | | 2 | 99,417 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,616 | |
| | | | | | 2 | 99,687 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 99,310 | 99,296 |
| | | | | | 2 | 99,382 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,328 | |
| | | | | | 2 | 99,271 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,256 | |
| | | | | | 2 | 99,232 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 99,448 | 99,485 |
| | | | | | 2 | 99,556 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,435 | |
| | | | | | 2 | 99,511 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,401 | |
| | | | | | 2 | 99,558 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 2 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 72 horas | 1 | 1 | 98,309 | 98,440 |
| | | | | | 2 | 98,521 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,278 | |
| | | | | | 2 | 98,568 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,482 | |
| | | | | | 2 | 98,482 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 97,726 | 97,405 |
| | | | | | 2 | 97,326 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,252 | |
| | | | | | 2 | 97,191 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,488 | |
| | | | | | 2 | 97,445 | |
| | 3 | - | Inicio | 1 | 1 | 100,226 | 100,258 |
| | | | | | 2 | 100,234 | |
| | | | | 2 | 1 | 100,343 | |
| | | | | | 2 | 100,359 | |
| | | | | 3 | 1 | 100,202 | |
| | | | | | 2 | 100,184 | |
| | | 5º C | 8 horas | 1 | 1 | 99,613 | 99,552 |
| | | | | | 2 | 99,560 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,413 | |
| | | | | | 2 | 99,785 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,420 | |
| | | | | | 2 | 99,523 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 5º C | 24 horas | 1 | 1 | 99,278 | 99,333 |
| | | | | | 2 | 99,280 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,493 | |
| | | | | | 2 | 99,421 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,229 | |
| | | | | | 2 | 99,299 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 99,375 | 99,336 |
| | | | | | 2 | 99,339 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,262 | |
| | | | | | 2 | 99,352 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,381 | |
| | | | | | 2 | 99,308 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 98,831 | 98,920 |
| | | | | | 2 | 98,921 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,907 | |
| | | | | | 2 | 98,980 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,812 | |
| | | | | | 2 | 99,069 | |
| | | | 360 horas | 1 | 1 | 97,433 | 97,431 |
| | | | | | 2 | 97,701 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,188 | |
| | | | | | 2 | 97,276 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,373 | |
| | | | | | 2 | 97,614 | |

| Vehículo | Lote | Condición ambiental | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 8 horas | 1 | 1 | 99,233 | 99,574 |
| | | | | | 2 | 99,959 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,926 | |
| | | | | | 2 | 99,451 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,419 | |
| | | | | | 2 | 99,756 | |
| | | | 24 horas | 1 | 1 | 99,337 | 99,363 |
| | | | | | 2 | 99,343 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,409 | |
| | | | | | 2 | 99,423 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,334 | |
| | | | | | 2 | 99,332 | |
| | | | 48 horas | 1 | 1 | 99,313 | 99,360 |
| | | | | | 2 | 99,253 | |
| | | | | 2 | 1 | 99,463 | |
| | | | | | 2 | 99,304 | |
| | | | | 3 | 1 | 99,433 | |
| | | | | | 2 | 99,395 | |
| | | | 72 horas | 1 | 1 | 98,427 | 98,504 |
| | | | | | 2 | 98,536 | |
| | | | | 2 | 1 | 98,399 | |
| | | | | | 2 | 98,646 | |
| | | | | 3 | 1 | 98,531 | |
| | | | | | 2 | 98,483 | |

| Vehículo | Lote | Condición | Tiempo de muestreo | Muestra | Inyección | Concentración remanente (%) | Promedio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. | 360 horas | 1 | 1 | 97,114 | 97,420 |
| | | | | | 2 | 97,548 | |
| | | | | 2 | 1 | 97,426 | |
| | | | | | 2 | 97,432 | |
| | | | | 3 | 1 | 97,618 | |
| | | | | | 2 | 97,379 | |

- **Determinación igualdad de modelos**

**Tabla 3-7**: Prueba F de Fischer para la preparación extemporánea 1 a 5º C.

| Comparación | gln | Gld | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|
| Igualdad de modelos | 4 | 48 | 0,29 | 3,054 |
| Igualdad de pendientes | 2 | 48 | 0,59 | 3,975 |
| Igualdad de interceptos | 2 | 52 | 0,64 | 3,975 |

**Tabla 3-8**: ANOVA para la preparación extemporánea 1 a 5º C.

| Fuente de variación | gl | SC | CM | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Entre lotes | 2 | 0,161184334 | 0,08059217 | 0,0050 | 3,975 |
| Dentro de lotes (error) | 51 | 829,0576345 | 16,256032 | | |
| Total | 53 | 829,2188188 | 15,6456381 | | |

**Tabla 3-9**: Prueba F de Fischer para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R.

| Comparación | gln | Gld | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|
| Igualdad de modelos | 4 | 48 | 0,26 | 3,054 |
| Igualdad de pendientes | 2 | 48 | 0,51 | 3,975 |
| Igualdad de interceptos | 2 | 52 | 0,55 | 3,975 |

**Tabla 3-10**: ANOVA para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R.

| Fuente de variación | gl | SC | CM | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Entre lotes | 2 | 1,028476334 | 0,51423817 | 0,0336 | 3,975 |
| Dentro de lotes (error) | 51 | 781,6463445 | 15,3263989 | | |
| Total | 53 | 782,6748208 | 14,7674494 | | |

**Tabla 3-11**: Prueba F de Fischer para la preparación extemporánea 2 a 5º C.

| Comparación | gln | gld | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|
| Igualdad de modelos | 4 | 48 | 0,48 | 3,054 |
| Igualdad de pendientes | 2 | 48 | 0,96 | 3,975 |
| Igualdad de interceptos | 2 | 52 | 1,04 | 3,975 |

**Tabla 3-12**: ANOVA para la preparación extemporánea 2 a 5º C.

| Fuente de variación | gl | SC | CM | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Entre lotes | 2 | 0,093909592 | 0,0469548 | 0,0566 | 3,975 |
| Dentro de lotes (error) | 51 | 42,30690228 | 0,8295471 | | |
| Total | 53 | 42,40081187 | 0,8000153 | | |

**Tabla 3-13**: Prueba F de Fischer para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R.

| Comparación | gln | gld | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|
| Igualdad de modelos | 4 | 48 | 0,05 | 3,054 |
| Igualdad de pendientes | 2 | 48 | 0,10 | 3,975 |
| Igualdad de interceptos | 2 | 52 | 0,11 | 3,975 |

**Tabla 3-14**: ANOVA para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R

| Fuente de variación | gl | SC | CM | Fexp | Ftab |
|---|---|---|---|---|---|
| Entre lotes | 2 | 0,012466371 | 0,00623319 | 0,0074 | 3,975 |
| Dentro de lotes (error) | 51 | 42,80302289 | 0,83927496 | | |
| Total | 53 | 42,81548926 | 0,80783942 | | |

Para la prueba F de Fischer se ubicó el valor en la tabla utilizando los grados de libertad del numerador y grados de libertad del denominador, cuando 1 – α es igual a 0,975. En las tablas 3-7, 3-9, 3-11 y 3-13, se observa que los resultados correspondientes al F exp son menores que el F tab, demostrándose así, la igualdad de modelos, pendientes e interceptos para cada una de las preparaciones extemporáneas. Seguidamente, se realizó un análisis de varianzas para confirmar que no hay diferencias significativas entre lotes y se encontró que los resultados correspondientes al F exp son menores que el F tab. Esto nos indica que es posible combinar los resultados obtenidos de los tres lotes de cada una de las preparaciones extemporáneas sometidas cada condición de almacenamiento para realizar la regresión por el método de mínimos cuadrados. Ver las tablas 3-8, 3-10, 3-12 y 3-14

- **Análisis estadístico de mínimos cuadrados**

En las Tablas 3-15 a 3-18, se muestran los resultados de la regresión de los datos por el método de mínimos cuadrados para cada una de las preparaciones extemporáneas sometidas a las diferentes condiciones ambientales. Esta herramienta nos permitió determinar los límites de confianza superior e inferior y el porcentaje de degradación a 360 horas para cada una.

**Tabla 3-15** Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 1 a 5º C.

| Tiempo (horas) | Intercepto | Valor t Student | Y regresión | Límite superior | Límite inferior | % Degradación |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 98,400 | 1,6700 | 98,40 | 100,23 | 96,56 | 1,83 |
| 8 | | | 98,15 | 99,99 | 96,32 | 2,07 |
| 24 | | | 97,67 | 99,50 | 95,84 | 2,55 |
| 48 | | | 96,95 | 98,78 | 95,12 | 3,27 |
| 72 | | | 96,23 | 98,05 | 94,40 | 3,99 |
| 360 | | | 87,55 | 89,45 | 85,65 | 12,75 |

**Tabla 3-16**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R.

| Tiempo (horas) | Intercepto | Valor t Student | Y regresión | Límite superior | Límite inferior | % Degradación |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 98,386 | 1,6700 | 98,38 | 100,31 | 96,46 | 1,92 |
| 8 | | | 98,15 | 100,07 | 96,22 | 2,15 |
| 24 | | | 97,68 | 99,60 | 95,76 | 2,61 |
| 48 | | | 96,99 | 98,90 | 95,07 | 3,31 |
| 72 | | | 96,29 | 98,21 | 94,37 | 4,01 |
| 360 | | | 87,91 | 89,91 | 85,92 | 12,46 |

**Tabla 3-17**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 2 a 5º C.

| Tiempo (horas) | Intercepto | Valor t Student | Y regresión | Límite superior | Límite inferior | % Degradación |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 99,667 | 1,6700 | 99,66 | 100,20 | 99,13 | 0,53 |
| 8 | | | 99,61 | 100,14 | 99,08 | 0,58 |
| 24 | | | 99,50 | 100,03 | 98,97 | 0,69 |
| 48 | | | 99,34 | 99,87 | 98,81 | 0,84 |
| 72 | | | 99,18 | 99,72 | 98,65 | 1,00 |
| 360 | | | 97,27 | 97,83 | 96,72 | 2,94 |

**Tabla 3-18**: Mínimos cuadrados para la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R.

| Tiempo (horas) | Intercepto | Valor t Student | Y regresión | Límite superior | Límite inferior | % Degradación |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 99,603 | 1,6700 | 99,60 | 100,28 | 98,92 | 0,67 |
| 8 | | | 99,55 | 100,23 | 98,87 | 0,72 |
| 24 | | | 99,45 | 100,12 | 98,77 | 0,83 |
| 48 | | | 99,29 | 99,97 | 98,62 | 0,98 |
| 72 | | | 99,14 | 99,82 | 98,46 | 1,13 |
| 360 | | | 97,30 | 98,01 | 96,60 | 3,00 |

**Figura 3-9:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 1 a 5ºC.

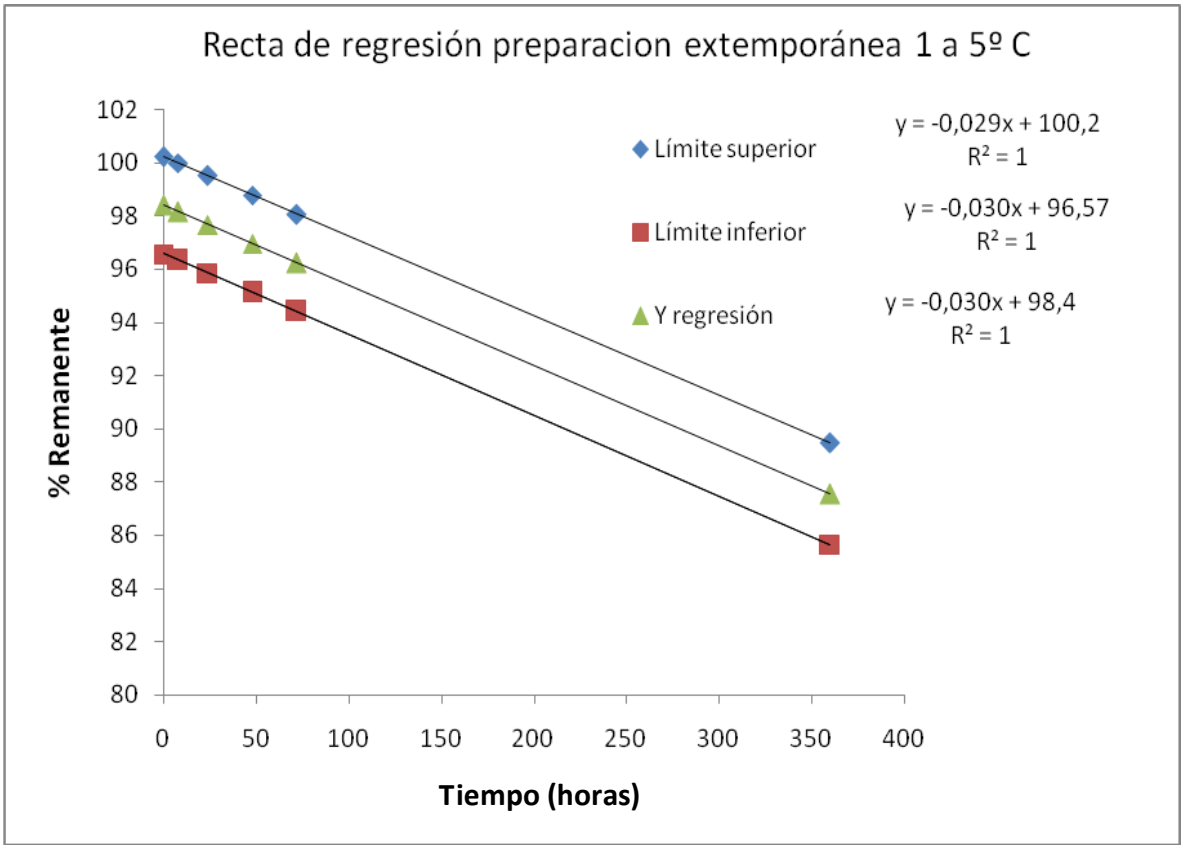


**Figura 3-10:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 1 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R.

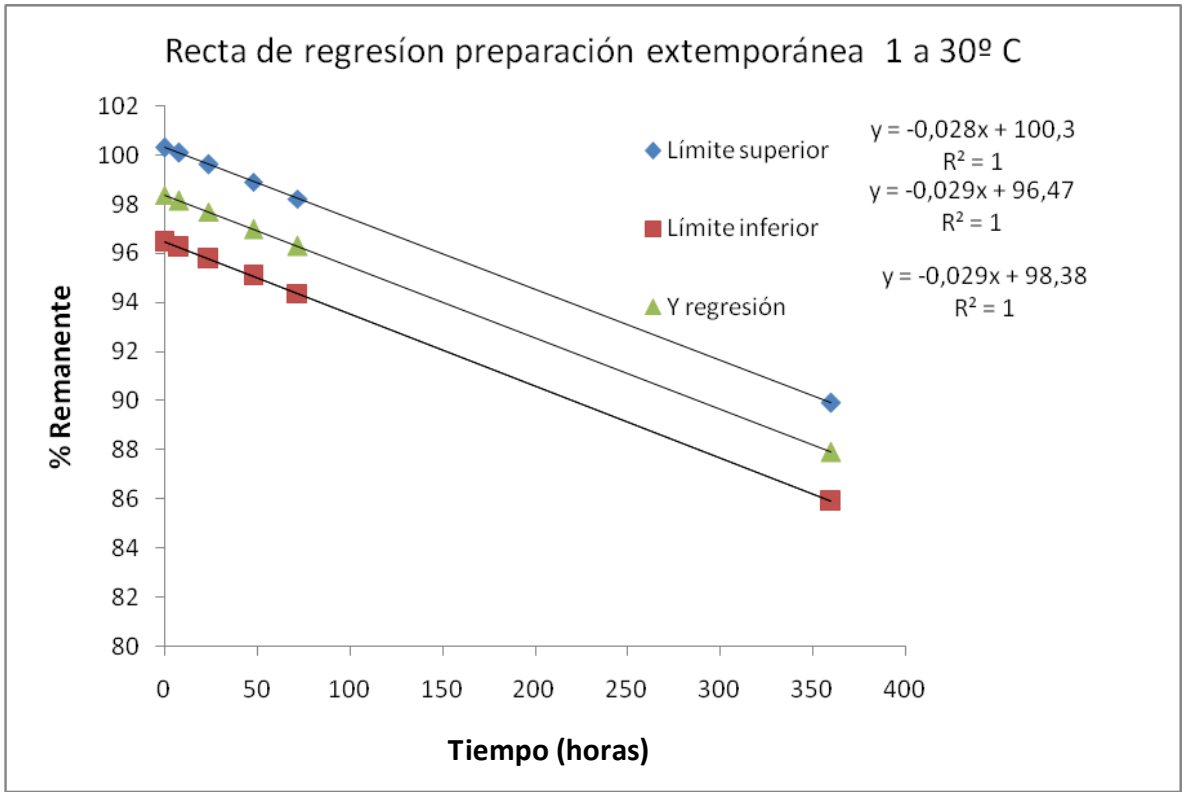


**Figura 3-11:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 2 a 5º C.

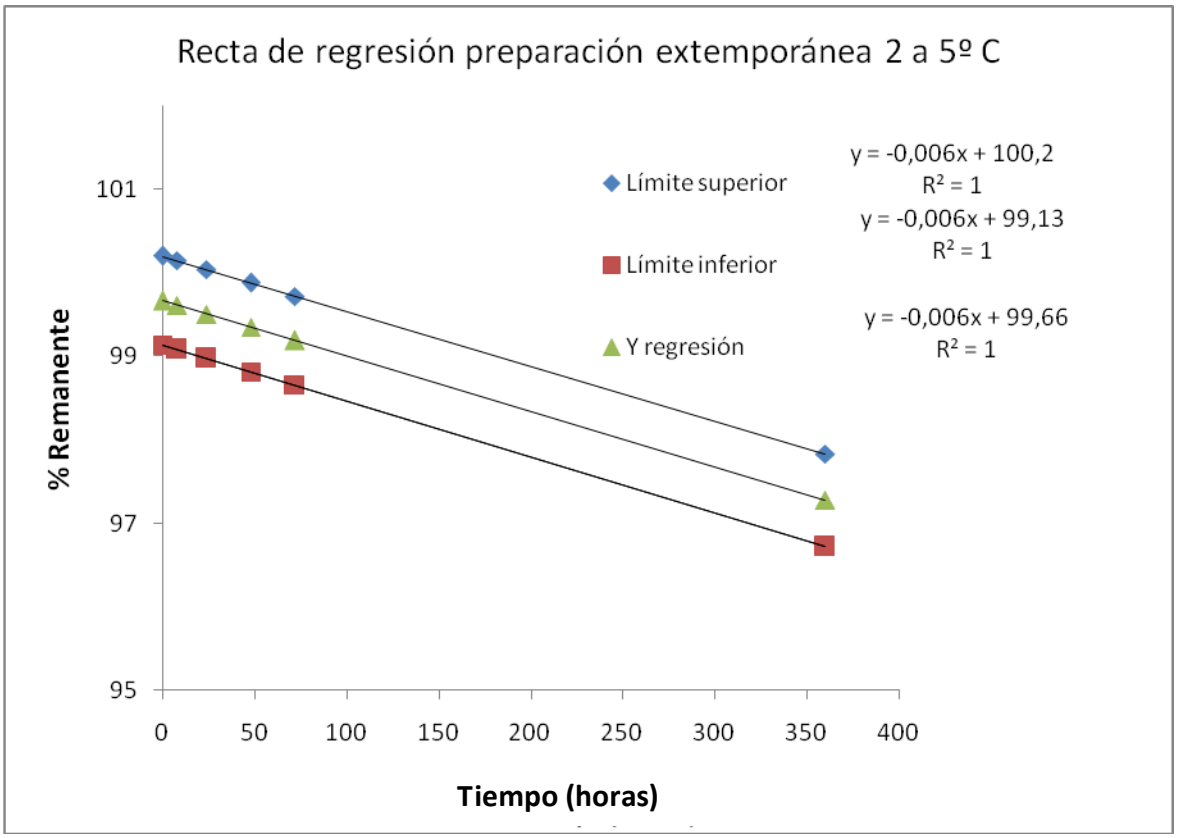
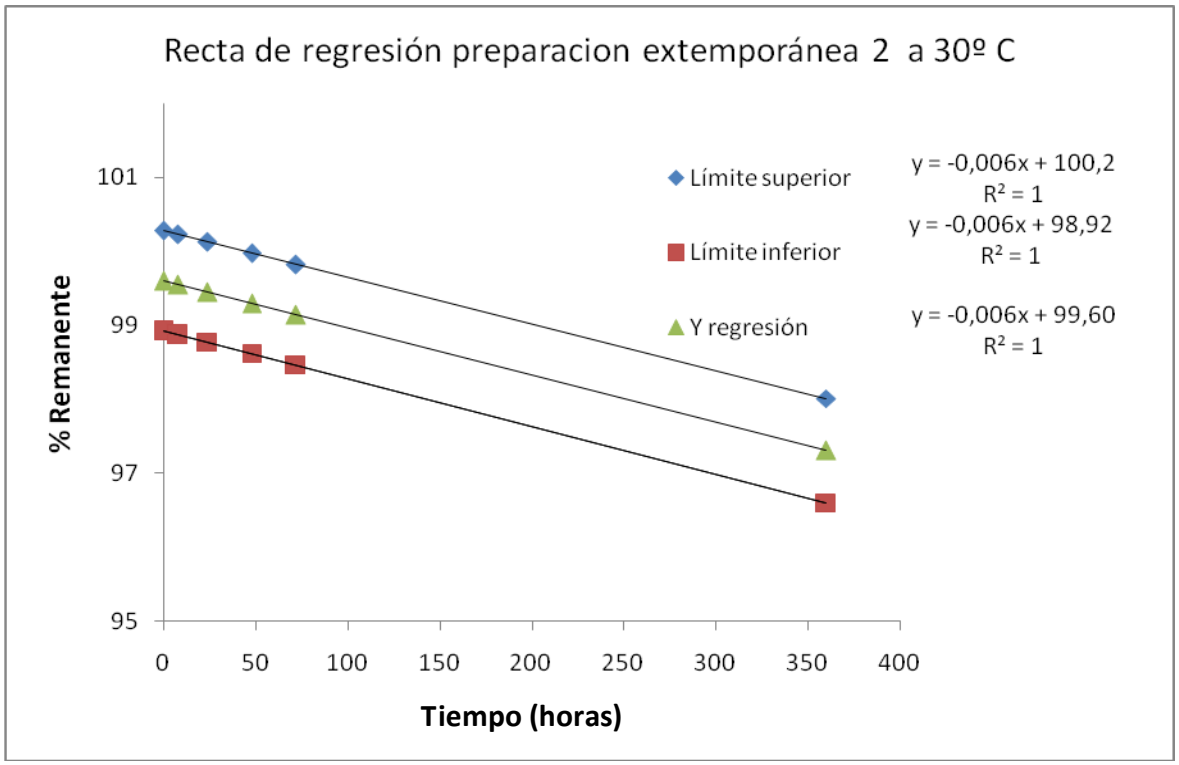


**Figura 3-12:** Recta de regresión para los datos de la preparación extemporánea 2 a 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R.




En el estudio de estabilidad de la clindamicina, el factor naturaleza del vehículo tiene influencia sobre la degradación de la clindamicina, siendo el vehículo 1 el más desfavorable para la estabilidad de la preparación. De los datos obtenidos para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 1 se observa que tuvo un porcentaje de degradación significativo (mayor de 5%), de 12,75% para las muestras almacenadas a 5° C+/-2°C y 12,46% para las muestras almacenadas a 30° C+/-2°C, 70% HR al cumplirse las 360 horas del estudio. Por el contrario, para la preparación extemporánea elaborada con el vehículo 2 se observa que no tuvo un porcentaje de degradación significativo, 2,94% para las muestras almacenadas a 5° C+/-2°C y 3,00% para las muestras almacenadas a 30° C+/-2°C, 70% HR al cumplirse las 360 horas del estudio.

Para el factor condición de almacenamiento, no se evidenció un efecto significativo sobre la concentración remanente del principio activo, ya que los porcentajes de degradación hallados para ambas preparaciones extemporáneas son similares a las dos condiciones de almacenamiento a 360 horas.

El orden de estabilidad descendente, de la preparación más estable a la menos estable, teniendo en cuenta los valores de la pendiente de regresión, es: 1. Preparación extemporánea 2 a 30° C+/-2°C, 70% HR (-0,0064 $h^{-1}$), 2. Preparación extemporánea 2 a 5º C+/-2°C (-0,0066 $h^{-1}$), 3. Preparación extemporánea 1 a 30° C+/-2°C, 70% HR (-0,0291 $h^{-1}$) y 4. Preparación extemporánea 1 a 5º C+/-2°C (-0,0301 $h^{-1}$).

Los tiempos de vida útil estimados a partir del límite de confianza inferior son de 217 horas para la preparación extemporánea 1 a 5° C, 221 horas para la preparación extemporánea 1 a 30° C, 70% HR, 1364 horas para la preparación extemporánea 2 a 5° C+/-2°C y 1374 horas para la preparación extemporánea 2 a 30° C+/-2°C, 70% HR.

## ▪ Evaluación de la estabilidad microbiológica

En las Tablas 3-15 y 3-16 se evidencian los resultados de las pruebas microbiológicas realizadas a las preparaciones extemporáneas en el tiempo inicial y final. Todas se encuentran dentro de especificaciones debido a las buenas condiciones de asepsia con las que se elaboraron y envasaron estas preparaciones. Esto es necesario para no afectar las propiedades farmacológicas del principio activo, bactericida y bacteriostático.

**Tabla 3-19**: Resultados análisis microbiológico para las preparaciones extemporáneas en el tiempo inicial

| Prueba | Vehículo 1 a 5º C Inicio | Vehículo 1 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. Inicio | Vehículo 2 a 5º C Inicio | Vehículo 2 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. Inicio | Observación |
|---|---|---|---|---|---|
| Aerobios Mesófilos | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | Cumple |
| Coliformes totales | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *E. Coli* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *S. Aureus* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *P. Aeruginosa* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *Salmonella* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| Hongos y levaduras | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | Cumple |

**Tabla 3-20**: Resultados análisis microbiológico para las preparaciones extemporáneas en el tiempo final

| Prueba | Vehículo 1 a 5º C 360 horas | Vehículo 1 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. 360 horas | Vehículo 2 a 5º C 360 horas | Vehículo 2 a 30º C ± 2º C, 70% ± 5% H.R. 360 horas | Observación |
|---|---|---|---|---|---|
| Aerobios Mesófilos | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | Cumple |
| Coliformes totales | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *E. Coli* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *S. Aureus* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *P. Aeruginosa* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| *Salmonella* | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Ausente en 1mL | Cumple |
| Hongos y levaduras | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | <10ufc/mL | Cumple |

## 3.2.2 Conclusión del estudio de estabilidad

De la evaluación física, química y microbiológica se puede concluir que las condiciones más favorables para que el principio activo sea estable a través del tiempo son elaborarla con el vehículo 2 y almacenarlas a 5º C+/-2°C de temperatura. En la tabla 3-21 se resumen los resultados de las evaluaciones física, química y microbiológica.

**Tabla 3-21**: Resultados de la evaluación de la estabilidad física, química y microbiológica de las preparaciones extemporáneas

| Estabilidad | Parámetro | Preparación extemporánea 1 | | Preparación extemporánea 2 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 5ºC | 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R. | 5ºC | 30º C ± 2ºC, 70% ± 5%H.R. |
| Física | Color | No cambió | No cambió | No cambió | No cambió |
| | Olor | No cambió | Olor nauseabundo | No cambió | No cambió |
| | Alteración del pH | No cambió | No cambió | No cambió | Cambió |
| | Aspecto físico | Homogéneo | Homogéneo | Polvo suspendido | Polvo suspendido |
| Química | Porcentaje de degradación (%) | 12,750 | 12,466 | 2,941 | 3,002 |
| Microbiológica | Cumple especificaciones microbiológicas | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |

### 3.2.3 Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea

- **Propósito**

Establecer el procedimiento para realizar la preparación extemporánea líquida de clindamicina 75mg/5mL elaborada a partir de la presentación comercial de capsulas de 300mg.

- **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.

- **Materiales**

Mortero de porcelana, jeringas desechables, frasco PET ámbar x 30 mL con tapa rosca, guantes de látex, tapabocas, pesa sustancia, probeta de 50mL, clindamicina 300mg/cápsula, etiqueta de identificación de la preparación extemporánea, agua destilada, glicerina.

- **Procedimiento**

Recibir la orden médica, adecuar el área y alistar los materiales a utilizar y el personal a realizar esta labor.

Extraer 2 cápsulas de clindamicina del blister respectivo.

Depositar el contenido de las dos cápsulas en el mortero y homogenizar las mezcla de polvos.

Adicionar 6 mL de glicerina y homogenizar la mezcla humedecida.

Transferir la mezcla humedecida con ayuda de 5mL de agua destilada a una probeta y lavar el mortero con el solvente.

Completar con el vehículo hasta 40mL

Almacenar la suspensión en su envase final, frasco PET ámbar y agitar vigorosamente.

Rotular con nombre del paciente, identificación, nombre del medicamento, dosis prescrita, dosis a administrar en mg y en mL, fecha de preparación y fecha de vencimiento. Ver anexo A.

Almacenar en un lugar limpio y seguro a una temperatura no mayor de 30º C.

- **Recomendaciones**

Verificar antes y después del proceso que no queden residuos de medicamentos.

La homogenización de la suspensión previa administración al paciente es de vital importancia, por lo cual es de particular relevancia indicarle al paciente o cuidador esta etapa.

Garantizar que el paciente o cuidador entienda todas las instrucciones contenidas en la etiqueta.

# 4. Conclusiones y recomendaciones

## 4.1 Conclusiones

Se validó una metodología analítica por HPLC para la cuantificación de clindamicina en una preparación líquida extemporánea. La metodología validada es selectiva, lineal, precisa y exacta. El método analítico es confiable y reproducible para la cuantificación de clindamicina en una preparación extemporánea en la realización de estudios de estabilidad.

Se realizó el estudio de estabilidad de dos preparaciones extemporáneas preparadas con 2 vehículos, dextrosa al 50%+glicerina y agua destilada+glicerina y se almacenaron a dos condiciones ambientales, 5º C de temperatura y 30º C ± 2º C de temperatura y 70% ± 5% de humedad relativa, evaluándose estabilidad física a través de los parámetros de color, olor y pH, estabilidad química a través del porcentaje de degradación y estabilidad microbiológica mediante el cumplimiento de las especificaciones. Se encontró que las condiciones más favorables para que el principio activo sea estable a través del tiempo en la preparación extemporánea son elaborarla con el vehículo 2 (agua destilada+glicerina) y almacenarla a 5º C de temperatura.

Las preparaciones extemporáneas elaboradas a partir de capsulas de clindamicina elaboradas de acuerdo al protocolo, utilizando el vehículo 2 (agua destilada+glicerina), envasadas en frascos PET ámbar y almacenadas a una temperatura de 5º C, conservan su estabilidad física, química y microbiológica durante un periodo de 360 horas.

## 4.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar este estudio utilizando otras variables como cambio de vehículo (solución de NaCl 0.9%, Ora-Sweet, Ora-Plus) o de material de envase (frasco PET transparente, envases de vidrio ámbar o transparente), marcas comerciales de las cápsulas de clindamicina (innovadora y genéricas) para así poder determinar la influencia de estos factores sobre la estabilidad de la clindamicina en éstas preparaciones extemporáneas.

Realizar la evaluación riesgo/beneficio por el personal médico y farmacéutico para indicar que ventajas ofrece cada preparación al paciente teniendo en cuenta no solo las ventajas terapéuticas relacionadas con el mejoramiento de la patología y la fácil administración, sino también aquellas que se derivan de la estabilidad fisicoquímica tales como, que sea una preparación agradable, tenga buen aspecto físico y se encuentre en la correcta concentración de principio activo.

# A. Anexo: Modelo de etiqueta para una preparación extemporánea elaborada a partir de clindamicina cápsulas

Clindamicina 75mg/5mL

Administracion via peroral

Agitar vigorosamente por 20 segundos antes de usar. Almacenar _____°C

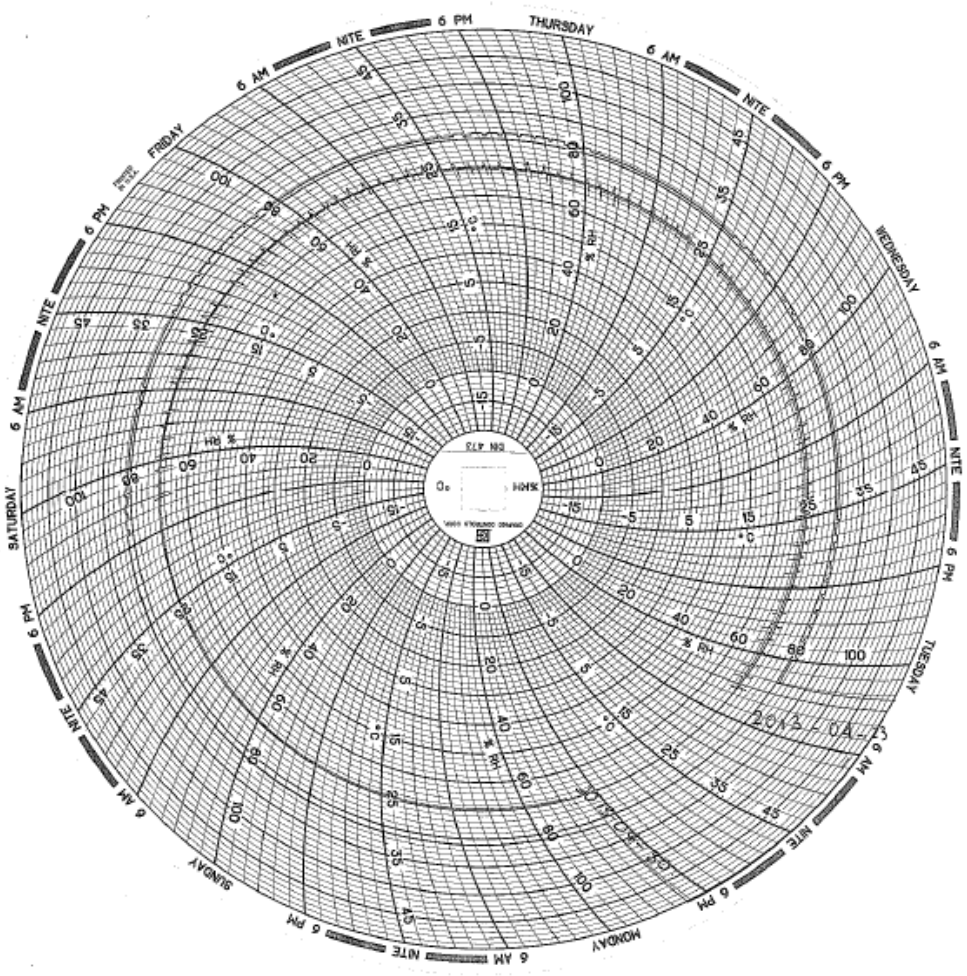
Proteger de la luz. Mantener bien cerrado y fuera del alcance de los niños.

Fecha de elaboración:_____ Hora:_____

Fecha de vencimiento:_____ Hora:_____

Lote No_____ Firma responsable:_____

# B. Anexo: Registro de temperatura y humedad relativa del cuarto de estabilidad natural a 30º C ± 2ºC de temperatura y 70% ± 5% de humedad relativa



# Bibliografía

[1] M.C. Nahata, L.V. Allen, Extemporaneous Drug Formulations, *Clinical Therapeutics*, **30,** 2112 (2008)

[2] B. Mistry, L. Samuel, S. Bowden, R.J. McArtney, D.E. Roberts, Simplifying oral drug therapy for patients with swallowing difficulties. *Pharm J*, **254**, 808 (1995)

[3] T. P. Martin, P. Hayes, D.M. Collins, Tablet dispersion as an alternative to formulation of oral liquid dosage forms. *Aust J Hosp Pharm,* **23**, 378(1993)

[4] The Pharmacopoeial Convention, the United States Pharmacopeia, "USP 35/NF30", The Pharmacopoeial convention Inc. Rockville, USA, 2012.

[5] D. J. Woods. "Extemporaneous Formulations of Oral Liquids A Guide". School of Pharmacy, University of Otago, New Zeland.

[6] L. K. Golightly, S. S. Smolinske, M. L. Bennett, E.W. Sutherland, B.H. Rumack. Pharmaceutical excipients. Adverse effects associated with 'inactive' ingredients in drug products. Med Toxicol, **3**, 128, (1988)

[7] D. J. Woods. The safety of antimicrobial preservatives in oral liquids for neonates. Pharm, **16**, 22 (1996)

[8] K. A. Connors. Chemical Stability of Pharmaceuticals. John Wiley, New York, 1986.

[9] W. B. Hugo, A.D. Russell, Pharmaceutical Microbiology, Blackwell, 4th Edition, 1987.

[10] V.B. Pal, Nahata M. C. Need for extemporaneous formulations in pediatric patients. *J Pediatr Pharmacol Ther,* **6**,107 (2001)

[11] M. C. Nahata, V.B. Pal, T. F. Hippie. *Pediatric Drug Formulations.* Harvey Whitney Books Co, 5th ed, Cincinnati, OH. 2003.

[12] P.J. Dettinger, C.F. Swenson, N.H. Anaizi, Stability of famotidine in an extemporaneously compounded oral liquid. Am J Health Syst Pharm, **57**, 1340 (2000)

[13] M.C Nahata, Development of two stable oral suspensions for gabapentin. *Pediatr Neurol*, **20**, 195 (1999)

[14] S.E. Bautista, M.P. Olaya, I.J. Muñoz, L.F. Ponce, H. Barbosa, Estabilidad física y química de preparaciones líquidas extemporáneas elaboradas a partir de tabletas de captopril, *Rev. Col. Cienc. Quim. Far*m. **32**, 81(2003)

[15] H. Juárez, C. Flores, B. Ramírez, E. Sandoval, R. García, J. Flores, Desarrollo y evaluación de una formulación extemporánea de propanofenona para uso pediátrico. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. **40,** 42 (2009)

[16] K. Sosnowska, K. Winnicka, A. Czajkowska-koanik Stability of extemporaneous enalapril maleate suspensions for pediatric use prepared from commercially available tablets, *Acta poloniae pharmaceutica drug research*, **66**, 321 (2009) ISSN 0001-6837 polish pharmaceutical society.

[17] S.C. Sweetman, “Martindale: The complete drug reference”, Pharmaceutical Press, London, 2009, p.251-254.

[18] PLM. DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS. Edición 40. Bogota, 2012, p.133

[19] Clindamycin skeletal. URL. http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7c/clindamycin_skeletal.svg 2012

[20] WHO. (1996). WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. (Thirty- fourth report). Geneve: Benteli.

[21] O. A. Quattrocchi, S.A. De Andrizzi, R.F. Laba, Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica. Buenos Aires: Artes Gráficas Farro S.A. 1992

[22] D. A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, Principios de Análisis Instrumental. Mc Graw Hill / Interamericana de España, S.A.U. Quinta Edición. Madrid. 2001

[23] I.N. Levine, Fisicoquímica. Quinta Edición. Mc Graw Hill / Interamericana de España, S.A.U. Quinta edición, (2004)

[24] M.E. Aulton, Pharmaceutics. The science of dosage form design. Churchill Livingstone, NewYork 1988.

[25] L. Brunton, J. Lazo, Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw Hill Interamercana, México 1996.

[26] M. Morantes, M. Vargas, F.S. Figueroa, N. Sierra, H. Barbosa, Desarrollo y validación de una metodología analítica para la cuantificación de fenobarbital en una suspensión extemporánea, *Rev. Col. Cienc. Quim. Far*m. **39**, 68 (2010)

[27] ICHQ2(R), Validation of analytical procedures: text and methology Q2(R1). International conference on harmonization of technical requirements for registration pharmaceuticals for human use. ICH Tripartite Guideline. (1994)

[28] M. J.C. Miller, J.M. Miller, Estadística para química analítica. Addison-Wesley Iberoamericana. (1993)

[29] Merck index, New York, 2006.

[30] R.E. Walpole, R.H. Myers, S.L. Myers. Probabilidad y estadística para ingenieros. Pearson Educación. Sexta edición. 1999