



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**PERFIL pH-SOLUBILIDAD DE MIFEPRISTONA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTAN**

**DULCE CAROLINA CERVANTES CHÁVEZ**

**MYRNA LILIANA MEDINA SANTILLÁN**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Inés Fuentes Noriega

**VOCAL:** Ricardo Rodríguez Sáenz

**SECRETARIO:** María de Lourdes Beatriz Mayet Cruz

**1er. SUPLENTE:** Natividad García Escamilla

**2° SUPLENTE:** Kenneth Rubio Carrasco

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Laboratorios 112 y 113, Departamento de Farmacia, Conjunto E,  
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dra. Inés Fuentes Noriega**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

**M. en C. Kenneth Rubio Carrasco**

**SUSTENTANTES:**

---

**Dulce Carolina Cervantes Chávez**

---

**Myrna Liliana Medina Santillán**

“No te rindas por favor no cedas,  
aunque el frio queme,  
aunque el miedo muerda,  
aunque el sol se ponga y se calle el viento,  
aún hay fuego en tu alma,  
aún hay vida en tus sueños,  
porque cada día es un comienzo,  
porque esta es la hora y el mejor momento.” –

Mario Benedetti

## **AGRADECIMIENTOS**

A la UNAM y en especial a la Facultad de Química por el apoyo en el programa PAIP 5000 - 9134 para desarrollar el presente trabajo.

A la Doctora Inés Fuentes Noriega por su asesoría y por compartir con nosotras sus conocimientos, paciencia, tiempo y dedicación.

A nuestros sinodales los profesores Ricardo Rodríguez Sáenz y María de Lourdes Mayet Cruz por sus valiosas aportaciones.

## DEDICATORIAS

Carolina Cervantes

Con mucho amor a mi papá por ser mi guía y darme los mejores consejos para afrontar los momentos más duros y a mi mamá por ser la gran mujer que eres, siempre guerrera. Por siempre motivarme a alcanzar mis metas y ayudarme a levantarme cada vez que me caía. Por enseñarme que en este mundo no hay problema sin solución. Gracias por su esfuerzo y apoyo, sin duda son los mejores padres.

A mis hermanas Pame y Ara por siempre ser mi apoyo constante y darme ánimos cada que los necesitaba. Por siempre ser mis cómplices, por compartir risas y lágrimas, pero sobre todo ser mi más grande motivación. Son lo máximo en mi vida.

A mi Abuelita por ser siempre mi mami, compañera y amiga, por la paciencia y apapachos; simplemente gracias y a mi tía Rocío por el tiempo dedicado ayudándome a ser un buen estudiante desde pequeña, por compartir alegrías, preocupaciones y regaños.

A mis primos Edgar y Karla por siempre echarme porras para terminar esta etapa de vida y demostrar que no todo esta tan mal, cuando las cosas se ponen feas.

A mi primo Gerardo por soportarme siempre, por apoyarme en la última etapa de mis estudios y siempre alentarme a seguir adelante.

A la familia Contreras Ramírez por siempre estar en las buenas y en las malas conmigo y ayudarme a secar las lágrimas cuando más triste me encontraba. Los quiero mucho.

A mis amigos de la universidad por tantas cosas compartidas entre alegrías, lagrimas, diversión, estudio y sobre todo amistad Jair, Carlos, David, Lalo y Diana. Por supuesto a Juanita, Fanny, San y Myr simplemente gracias por todo lo que hemos vivido juntas, son las mejores. Por enseñarme que entre todas las cosas siempre son más fáciles y por qué esta amistad es para siempre. A los amigos que conocí casi al final de mi camino en la facultad Daniel, Paulina, Felipe, Celeste, Xiques y Karlita con esos desayunos inolvidables y por los amigos que reencontré en mi camino Eulises y Vero, a todos gracias.

Para todos, este logro también es suyo.

## DEDICATORIAS

Myrna Medina

A mi padre, madre, hermano y mi mamá Herme por la fuerza y ayuda que me dan cada vez que la necesito. Por las noches sin dormir, por ir, venir, llevarme, recogerme, esperarme, acompañarme, por los besos y abrazos, por cuidarme, por creer en mí, por quererme tal como soy, por su amor infinito, por las vacaciones, por las mañanas de cosquillas, las fiestas de cumpleaños, las noches de cuentos, las tardes de cine, por enseñarme que la familia siempre es primero y que sin ustedes no hubiese logrado tanto. Simplemente por dármelo todo gracias.

A Carolina y Sandra por todos los años de amistad, desvelos, trabajos, tareas, materias, comidas, tardes de café, cenas, risas, tristezas y confusiones. Gracias por ir conmigo haciendo historia cada día que pasamos juntas y por los que aún están por llegar. Por recorrer un mismo camino, siempre cerca. Por ser tan iguales, pero a la vez tan diferentes. Prometo siempre estar a su lado. Las quiero.

A cada una de las personas que conocí a lo largo de la carrera, por los momentos que, aun siendo cortos, han aportado una enseñanza en mi vida.

A Jazmín, Janeth y Alex por ayudarme y enseñarme a crecer espiritualmente, darme paz, esperanza, motivos, y consuelo en los momentos que la oscuridad estuvo cerca.

A mis compañeros de trabajo Mimis, Sam, Ricardo, Miguel, Aitzin, Erasmo, Mireya, Cesar, Baldomero, Gustavo, Myrna, Abel, Alicia, Hugo, Juan y Mary, por ser amigos y consejeros; por tenerme paciencia, tolerancia y sobre todo por la solidaridad.

Gracias a cada una de las personas que están y que se cruzaron por mi vida, que no llegan por casualidad y que son únicas, que me han aportado algo para mi crecimiento y desarrollo, de manera intelectual, espiritual y social. Por qué llegaron en el momento justo para hacerme valorar física y mentalmente.

## ABREVIATURAS

<b>mL</b>	mililitro
<b>μL</b>	microlitro
<b>h</b>	horas
<b>g</b>	gramos
<b>μg</b>	microgramos
<b>g/mL</b>	gramos sobre mililitros
<b>mg</b>	miligramos
<b>mg/mL</b>	miligramos sobre mililitros
<b>mg/Kg</b>	miligramos sobre kilogramos
<b>Kg</b>	kilogramo
<b>M</b>	molar
<b>N</b>	normalidad
<b>pka</b>	constante de la acidez de un ácido
<b>pkb</b>	constante de basicidad de una base
<b>SA</b>	Solución amortiguadora
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>Abs</b>	absorbancia
<b>Max</b>	máxima
<b>Min</b>	mínima



<b>nm</b>	nanómetro
<b><math>\lambda</math></b>	lambda longitud de onda
<b>UV</b>	radiación ultravioleta
<b>DE</b>	desviación estándar
<b><math>\bar{x}</math></b>	Promedio
<b>%CV</b>	coeficiente de variación
<b>%ERR</b>	porcentaje de error relativo debido a la regresión
<b>C1</b>	concentración 1
<b>C2</b>	concentración 2
<b>C3</b>	concentración 3
<b>C<sub>1...C<sub>n</sub></sub></b>	concentración
<b>m</b>	pendiente
<b>b</b>	ordenada
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>SSDF</b>	Secretaria de Salud del Distrito Federal
<b>hCG</b>	Gonadotropina coriónica humana
<b>ACTH</b>	hormona adrenocorticotropa
<b>C<sub>max</sub></b>	concentración máxima
<b>CYP3A4</b>	Citocromo P450 3A4

## INDICE

RESUMEN.....	13
HIPÓTESIS .....	14
OBJETIVO.....	14
INTRODUCCIÓN.....	15
Mecanismo de acción de la mifepristona .....	17
Indicaciones clínicas .....	18
Posología, forma de preparación y administración.....	18
Farmacocinética .....	19
Usos terapéuticos.....	20
Contraindicaciones.....	21
Precauciones.....	22
Riesgos relacionados con el método.....	22
Advertencia .....	22
Efectos adversos.....	24
Propiedades químicas .....	25
Solubilidad .....	26
Factores que influyen en la solubilidad .....	27
Temperatura .....	27
Naturaleza y polaridad del medio.....	27
Influencia del pH .....	27
Solubilidad de un fármaco .....	28
pH y solubilidad .....	29
pH y biodisponibilidad.....	30

pH y absorción.....	31
Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB) .....	32
METODOLOGÍA DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO. ....	33
DETERMINACIÓN DE LINEALIDAD Y PRECISIÓN DEL MÉTODO. ....	33
Linealidad.....	33
Precisión .....	33
*Reproducibilidad .....	33
*Repetibilidad.....	34
Estabilidad.....	34
Material .....	35
Preparación de soluciones amortiguadoras .....	35
HCl 0.1N pH 1.2.....	35
Solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0 .....	35
Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0 .....	36
Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5 .....	36
Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 4.6 .....	36
Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0 .....	36
Desarrollo experimental .....	37
Barrido espectrofotométrico de mifepristona .....	37
Preparación de la solución stock.....	37
Preparación de las soluciones para la curva .....	37
PRUEBA DE ESTABILIDAD .....	38
Preparación de la solución stock.....	38
Preparación de soluciones amortiguadoras .....	38
Preparación de soluciones para la prueba de estabilidad .....	38

RESULTADOS .....	39
Barrido espectrofotométrico de mifepristona .....	39
HCl 0.1N pH 1.2.....	39
Linealidad en HCl 0.1N pH 1.2.....	40
Precisión en HCl 0.1N pH 1.2 .....	41
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona HCl 0.1N pH 1.2 .....	42
Linealidad solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0.....	43
Precisión amortiguadora de fosfatos pH 2.0 .....	44
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 2.0.....	45
Linealidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0.....	46
Precisión en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0 .....	47
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 3.0.....	48
Linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5.....	49
Precisión en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5. ....	50
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 3.5.....	51
Linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6.....	52
Precisión en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6. ....	53
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 4.6.....	54
Linealidad en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0.....	55
Precisión en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0 .....	56
Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 5.0.....	57
Estabilidad de la mifepristona.....	58
MÉTODO SHAKE-FLASK.....	60
METODOLOGÍA PERFIL pH-SOLUBILIDAD .....	60
Preparación de la solución stock.....	60

Preparación de soluciones amortiguadoras .....	60
Preparación de la curva. ....	60
Preparación de soluciones para el Perfil pH-solubilidad a 37°C.....	60
RESULTADOS .....	62
Curvas de calibración.....	62
Solución amortiguadora HCl 0.1N pH 1.2 .....	62
Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0 .....	63
Solución amortiguadora de fosfatos fosfatos 0.01M pH 5.0.....	64
ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	71
CONCLUSIONES.....	73
BIBLIOGRAFÍA.....	74

## RESUMEN

Es de vital importancia entender la influencia del pH sobre la solubilidad, estabilidad y la absorción de un fármaco. Los estudios de solubilidad no predicen la acción biológica, pero dan información para posteriores estudios “in vivo”.

Se realizó la validación de la metodología a los diferentes pH's por un método espectrofotométrico considerando linealidad y precisión del método.

La determinación del perfil del pH-solubilidad de la Mifepristona, un fármaco con actividad antiprogéstágeno, se realizó con el método clásico de saturación shake-flask, en donde una solución saturada con el fármaco (Mifepristona) se pone en contacto con el disolvente (solución amortiguadora a pH's 1.2, 3.0, 5.0) a temperatura y agitación constantes (37°C por 36h) hasta que alcancen el equilibrio. Se realizó un barrido en un intervalo de 200 a 450 nm, encontrando la longitud de onda máxima de 310 nm en todos los pH's para cuantificar la cantidad de fármaco (Mifepristona) disuelto. Se observó que la solubilidad de la mifepristona va disminuyendo conforme el pH se va haciendo menos ácido.

## **HIPÓTESIS**

- La solubilidad de la mifepristona disminuye al aumentar el pH.

## **OBJETIVO**

- Realizar el perfil del pH-solubilidad de la mifepristona y conocer el pH óptimo de trabajo a través de la solubilidad.
- Realizar la validación de la metodología analítica a los diferentes pH's por un método espectrofotométrico considerando linealidad, precisión y exactitud del método.

## INTRODUCCIÓN

En 1981 apareció el primer informe de la obtención de un anti-progestágeno, RU 38486 (conocido a menudo como RU-486) o *mifepristona*, desarrollado por investigadores en la compañía farmacéutica francesa Rousse. Mientras estudiaban los receptores antagonistas a glucocorticoides, descubrieron que algunos de los compuestos bloqueaban los receptores a progesterona que tenían una estructura similar.

Después de refinar el compuesto, se inició la producción de RU 486, el medicamento que ahora se conoce como mifepristona. El cual induce a un aborto completo de entre el 60% al 80% en mujeres con embarazos de hasta 49 días de gestación.

Los investigadores después descubrieron que al agregar pequeñas dosis de un análogo de prostaglandina durante el último día de tratamiento con mifepristona, el índice de aborto completo se incrementaba a cifras superiores al 95%.<sup>1</sup>

En 1988 Francia se convirtió en el primer país en autorizar el esquema de mifepristona análogo de prostaglandina para aborto temprano. Posteriormente se ha registrado para ser utilizada en el aborto con medicamentos en más de veinte países en todo el mundo incluyendo Austria, Bélgica, China, Dinamarca, Finlandia, Reino Unido, Grecia, Israel, Luxemburgo, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Rusia, Sud-África, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Túnez, Ucrania y los Estados Unidos. El siguiente mapa muestra la aprobación mundial de la mifepristona (Figura 1).



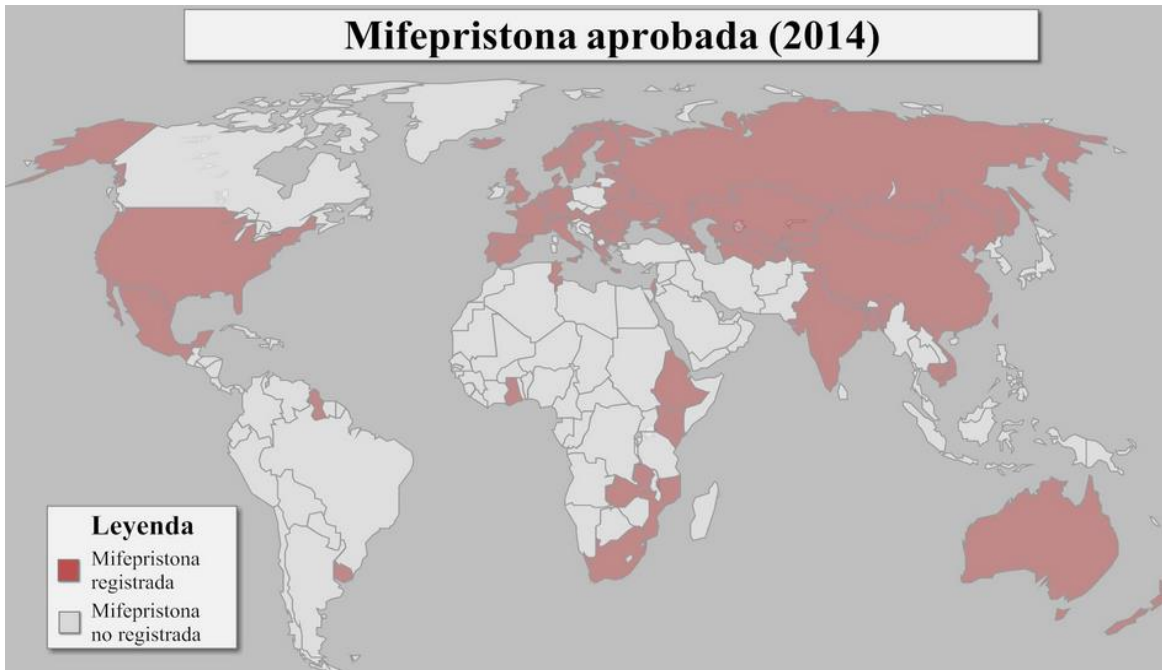


Figura 1. Mapa de aprobación de Mifepristona. Fuente: Population Council<sup>2</sup>

En septiembre del 2000, la Food & Drug Administration de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés FDA), aprobó el uso de la mifepristona en combinación con misoprostol para el aborto temprano con medicamentos. El número de aborto con medicamentos se ha incrementado en forma constante en comparación con el aborto por legrado. En los Estados Unidos, los nombres comerciales de la mifepristona y el misoprostol son: Mifeprex® y Cytotec® respectivamente.

La despenalización del aborto en el Distrito Federal, ha sido un gran logro, pero faltaba un elemento importante: la mifepristona. Sin embargo, con la reciente decisión en México de registrar la mifepristona, las mujeres se beneficiarán de la sumamente eficaz combinación de mifepristona y misoprostol para la interrupción del embarazo temprano.

En abril de 2007, se despenalizó en el Distrito Federal la interrupción del embarazo en el primer trimestre. Para el año 2011 la mifepristona fue registrada en México, bajo el nombre de Zacamefyl®<sup>10</sup>

## **Mecanismo de acción de la mifepristona**

En presencia de los progestágenos la mifepristona actúa como un antagonista competitivo de ambos receptores de progesterona. A pesar de que dicho fármaco actúa más bien como antagonista *in vivo*, muestra moderada actividad agonista en algunas situaciones *in vivo* e *in vitro*. El complejo de este compuesto con el receptor progesterónico antagonizan las acciones de los complejos progesterona- PR y al parecer reclutan de manera preferente correceptores.

La mifepristona, si se administra en las etapas iniciales del embarazo, origina degradación decidual al bloquear los receptores progesterónicos del útero; se desprende entonces el blastocisto y con ello aminora la producción de, gonadotropina coriónica humana, (hCG) lo cual a su vez hace que disminuya la secreción de progesterona por parte del cuerpo amarillo e intensifica todavía más el desprendimiento de la decidua. La disminución de la producción endógena de progesterona, junto con el bloqueo de sus receptores en el útero, aumenta los niveles de prostaglandina en dicha víscera y sensibiliza el miometrio para contraerse. La mifepristona también origina ablandamiento del cuello uterino, lo que facilita la expulsión del blastocisto desprendido.

La mifepristona retrasa o impide la ovulación según el momento y la vía de administración; los efectos se deben en gran medida a las acciones que posee en el hipotálamo y la hipófisis y no en los ovarios, aunque no se ha aclarado los mecanismos que intervienen.

Si se administra durante uno o varios días a la mitad o a finales de la fase luteínica, la mifepristona impide que surja el endometrio secretor, y produce menstruación. El bloqueo del receptor de progesterona en esa fecha es el equivalente farmacológico de la privación de progesterona, y en término de días comienza la expulsión de sangre que dura una a dos semanas después del tratamiento antiprogestogénico.

La mifepristona también se liga a los receptores de glucocorticoides y andrógeno y ejerce acciones contra uno y otros. Un efecto predominante en humanos es el bloqueo de la inhibición retroalimentaria que el cortisol ejerce en la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la hipófisis y con ello incrementa los niveles de corticotropina y esteroides suprarrenales en el plasma.<sup>1</sup>

En mujeres que reciben dosis superiores o iguales a 1mg/Kg, la mifepristona antagoniza los efectos endometriales y miometriales de la progesterona. Durante el embarazo se sensibiliza el miometrio frente a la acción inductora de contracciones de las prostaglandinas. En el curso del primer trimestre el pretratamiento con mifepristona permite la dilatación y apertura del cuello uterino. Durante la interrupción del embarazo por razones médicas después del primer trimestre, la mifepristona administrada en una dosis de 600 mg, 36 a 48 horas antes de la primera administración de prostaglandinas, reduce el intervalo de inducción del aborto, y también disminuye la dosis necesaria de prostaglandina para la expulsión.

### **Indicaciones clínicas**

1. Interrupción médica del embarazo intrauterino en curso. En uso secuencial con un análogo de prostaglandina, hasta 63 días de amenorrea.
2. Ablandamiento y dilatación del cuello uterino antes de la interrupción quirúrgica del embarazo durante el primer trimestre.
3. Preparación para la acción de análogos de prostaglandinas en la interrupción del embarazo por razones médicas (después del primer trimestre).
4. Inducción del parto en la muerte fetal intrauterina. En pacientes en los que no puede usarse prostaglandina u oxitocina.

### **Posología, forma de preparación y administración**

Hasta 49 días de amenorrea:

- 600 mg de mifepristona (es decir, 3 comprimidos de 200 mg cada uno) en una dosis oral única, seguido de la administración de un análogo de prostaglandina 36 a 48 horas más tarde; (misoprostol 400 microgramos por vía oral, o gemeprost 1 mg por vía vaginal).
- Alternativamente, puede también usarse 200 mg de mifepristona en una dosis oral única, seguida 36 a 48 horas más tarde, de la administración del análogo de prostaglandina gemeprost 1 mg por vía vaginal.

Entre 50 y 63 días de amenorrea:

- 600 mg de mifepristona (es decir, 3 comprimidos de 200 mg cada uno) en una dosis oral única, seguido de la administración del análogo de prostaglandina o gemeprost 1mg por vía vaginal, 36 a 48 horas más tarde.
- Alternativamente, puede también usarse 200 mg de mifepristona en una dosis oral única, seguida 36 a 48 horas más tarde, de la administración del análogo de prostaglandina gemeprost 1 mg por vía vaginal.
- Ablandamiento y dilatación del cuello uterino antes de la interrupción quirúrgica del embarazo durante el primer trimestre 200 mg de mifepristona (un comprimido), seguido de la interrupción quirúrgica del embarazo, 36 a 48 horas más tarde (pero no más tarde).
- Preparación para la acción de los análogos de prostaglandinas en la interrupción del embarazo por razones médicas 600 mg de mifepristona (es decir, 3 comprimidos de 200 mg cada uno) en una dosis oral única, 36 a 48 horas antes de la administración programada de prostaglandina, pauta que se repetirá con la frecuencia necesaria.
- Inducción del parto en la muerte fetal intrauterina 600 mg de mifepristona (es decir, 3 comprimidos de 200 mg cada uno) en una dosis oral única durante dos días consecutivos.
- El parto debe inducirse por medio de los métodos habituales en caso de que no se haya iniciado en las 72 horas siguientes a la primera administración de mifepristona.

### **Farmacocinética** <sup>1,3,4,5</sup>

- La absorción oral es rápida con una biodisponibilidad del 69%.
- La Cmax se alcanza al cabo de 90 minutos.
- El nivel plasmático máximo se alcanza entre las 2-3 horas después de la administración.
- Los metabolitos son preferentemente los productos monodesmetilados y didesmetilados (que en opinión de expertos poseen una actividad farmacológica),

formados a través de reacciones catalizadas por CYP3A4 y, en menor magnitud, por compuestos hidroxilados.

- La dosis respuesta es no lineal.
- El grado de unión a proteínas plasmáticas es del 98%, principalmente a glicoproteína alfa-1-ácida (AAG).<sup>3</sup>
- La Mifepristona atraviesa rápidamente la placenta.
- La vida media de la mifepristona es de aproximadamente de 20 horas debido a su alto porcentaje de unión a proteínas plasmáticas y a la recirculación entero-hepático.
- Su vía de metabolización es una oxidación hepática a través del CYP3A4.<sup>3</sup>
- Se excreta principalmente por heces (90%) y por orina (10%).(Jang y Benet, 1997).
- Después de la fase de distribución, la eliminación es lenta al principio, la concentración disminuye a la mitad entre las 12 y 72 horas, y después más rápidamente, con una vida media de eliminación de 18 horas.<sup>3</sup>

### **Usos terapéuticos**

La mifepristona en combinación con el misoprostol u otras prostaglandinas, es un producto que se distribuye en clínica para terminar el embarazo en sus comienzos. Cuando se emplea para producir un aborto médico, se administra una prostaglandina 48 h después de administrar el antiprogestágeno para incrementar todavía más contracciones miométriales y asegurar la expulsión del blastocisto desprendido. Se han utilizado la sulprostona intramuscular, el gemeprost intravaginal y el misoprostol por vía oral. En índice de buenos resultados con los regímenes en cuestión es mayor de 90% en mujeres con embarazo de 49 días o menos. El efecto más adverso es la expulsión de sangre por vagina que muy a menudo dura 8 a 17 días pero rara vez (0.1% de las pacientes) tiene intensidad tal que obliga a transfundir sangre. Un porcentaje elevado de mujeres también han tenido dolor abdominal y cólico uterino, náuseas, vómitos y diarreas, por la prostaglandina. Las mujeres que reciben a largo plazo glucocorticoides no deben recibir mifepristona, por su actividad contra ellos, y el fármaco debe utilizarse con gran cautela en mujeres anémicas o que reciban anticoagulantes. Tampoco se utilizara sulprostona en mujeres mayores de 35 años con factores de riesgo cardiovascular porque puede surgir insuficiencia cardiaca.

Otros usos en investigación o posibles de la mifepristona que están en fase de estudio incluyen la inducción del parto después de óbito fetal o al final del tercer trimestre; como tratamiento de endometriosis, leiomiomas, cáncer mamario y meningiomas y como anticonceptivo después del coito o en fase luteínica. Un punto que ha generado preocupación sobre su empleo a largo plazo, es la posibilidad de que ejerza efectos estrogénicos no antagonizados, pero tal preocupación puede aplacarse si se cuenta más adelante con moduladores selectivos del receptor de progesterona.<sup>1</sup>

### **Contraindicaciones**

Hipersensibilidad a la mifepristona. Insuficiencia suprarrenal crónica. En caso de sospecha de insuficiencia suprarrenal aguda, se recomienda la administración de dexametasona (1 mg de dexametasona antagoniza 400 mg de mifepristona).

- Asma grave no controlada.

En la indicación: terminación médica del embarazo intrauterino en curso está contraindicada en:

Embarazo no confirmado por ecografía o pruebas biológicas. Embarazo de 50 o más días de amenorrea.

- Sospecha de embarazo intrauterino.
- En la indicación: ablandamiento y dilatación del cuello uterino antes de terminación quirúrgica del embarazo:
- Embarazo no confirmado por ecografía o pruebas biológicas.
- Embarazo de 84 o más días de amenorrea (de conformidad con las disposiciones legales).
- Sospecha de embarazo extrauterino.

En las indicaciones en que sea necesario recurrir a otros fármacos (prostaglandinas), se deben tener en cuenta las contraindicaciones del fármaco elegido.

## **Precauciones**

Por ausencia de estudios específicos, no se recomienda en pacientes con: insuficiencia renal o hepática y malnutrición.

En la terminación médica del embarazo en curso informar a la mujer de la necesidad de:

- Combinar el tratamiento con la administración de prostaglandinas en la segunda visita.
- Repetir la visita a los 10-14 días tras la administración de mifepristona para comprobar la expulsión completa.
- La posibilidad de fracaso del método, que obligaría a la terminación del embarazo por otro método.
- La expulsión podría producirse antes de la administración de la prostaglandina (3% de casos). Esto no excluye la visita de control destinada a comprobar la expulsión completa y el vaciamiento del útero.

## **Riesgos relacionados con el método**

- Fracasos: Hay fracaso en el 1.3-7.5% de los casos.
- Hemorragia: Probable hemorragia vaginal prolongada (hasta 12 días tras el tratamiento) que puede ser copiosa. La hemorragia aparece en la mayoría de los casos, pero en ninguna circunstancia es prueba de expulsión completa. La paciente permanecerá cerca del centro de prescripción hasta que no se haya comprobado la expulsión completa.

## **Advertencia**

Debe efectuarse una visita de seguimiento a los 10-14 días posteriores a la administración de mifepristona, para verificar mediante medios apropiados (ecografía, determinación de Beta-hCG, etc.) que la expulsión ha sido completa, y que ha remitido la hemorragia vaginal. En caso de hemorragia persistente (incluso leve) después de la visita control, deberá

comprobarse que desaparece en pocos días. Si se sospecha un embarazo en curso, puede ser preciso realizar otra ecografía para evaluar la viabilidad.

La persistencia de hemorragia a partir de este momento, podría significar un aborto incompleto o un embarazo extrauterino inadvertido, por lo que deberá considerarse el tratamiento adecuado.

- Trastornos hemostáticos con hipocoagulabilidad o anemia: Evaluar la conveniencia del método médico o el quirúrgico dado que hasta un 1.4% pueden tener hemorragia copiosa que obligue a un legrado hemostático durante el método médico de terminación del embarazo.

Ablandamiento y dilatación del cuello uterino antes de la terminación quirúrgica del embarazo:

- Para que la eficacia del método sea completa la administración debe seguirse 36 a 48 horas más tarde, pero no después, de terminación quirúrgica.

Riesgos relacionados con el método:

- Hemorragia: La hemorragia puede ser copiosa tras la administración del medicamento. La paciente deberá ser informada del riesgo (mínimo) de aborto antes de la intervención quirúrgica.

Precauciones en todas las indicaciones:

- En los ensayos clínicos se produjeron embarazos entre la expulsión del embrión y la reaparición de la siguiente menstruación. Se recomienda evitar la concepción durante el siguiente ciclo menstrual. Se aconsejan métodos anticonceptivos eficaces después de la administración de mifepristona, lo más rápidamente.
- Cortico terapia: debido a la actividad antigluocorticoidea de la mifepristona, ésta puede disminuir la eficacia de la corticoterapia a largo plazo, incluyendo los corticoides inhalados en asmáticos, durante los 3 o 4 días siguientes a la administración de mifepristona, por lo que se aconseja un ajuste de la dosis.



- AINEs: teóricamente pueden disminuir la eficacia de la mifepristona. Usar preferentemente otro tipo de analgésicos. Evitar aspirina y AINEs al menos de 8 a 12 días después de haber usado la mifepristona.
- Como medida precautoria ante el riesgo de accidentes cardiovasculares serios asociados al uso de sulprostona (en desusos en la actualidad), no se recomienda el método médico en mujeres mayores de 35 años que fumen más de 10 cigarrillos/día. Desde que se utilizan gemeprost o misoprostol no se han observados los accidentes referidos.

### **Efectos adversos**

- Genitourinarias: hemorragias copiosas (5%), de las cuales pueden requerir legrado hemostático el 1.4% de los casos. Espasmos uterinos (10-45%), en las horas siguientes a la administración. Rotura uterina (rara vez) tras la administración de prostaglandinas durante la inducción de la terminación del embarazo del 2º trimestre o la inducción del parto por muerte fetal in útero a lo largo del 3º trimestre. Este efecto adverso fue más frecuente en multíparas o en mujeres con cicatriz por cesárea.
- Gastrointestinales: Espasmos abdominales, náuseas, vómitos. Además debido a la prostaglandina: diarrea (frecuente), hipotensión (0.25%).
- Dermatológicas/alérgicas: erupción cutánea (0.2%), casos aislados de urticaria, eritrodermia, eritema nodoso, y necrolisis epidérmica.
- Otros: casos excepcionales de cefalea, malestar, síntomas vagales (sofocos, vértigos, escalofríos) y fiebre. <sup>11</sup>

## Propiedades químicas

La mifepristona es un derivado de la noretindrona, un progestágeno 19-nor, que contiene un sustituyente dimetil-aminofenol en la posición 11  $\beta$  (Figura 2). Compite eficazmente con la progesterona y los glucocorticoides para unirse con sus receptores respectivos. Se pensó en el comienzo que la mifepristona era un antiprogestágeno puro; tal acción constituye su actividad predominante en muchas situaciones, pero también posee moderada actividad agonista.<sup>1,15</sup>

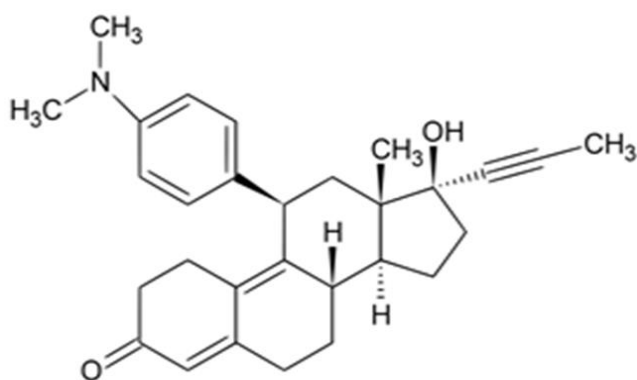


Figura 2. Molécula de Mifepristona

Tabla 1. Características fisicoquímicas de Mifepristona

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS	
Fórmula	C <sub>29</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>
Peso mol	429.60 g/mol
Datos físicos	
Densidad	1.189 g/cm <sup>3</sup>
pKa	3.7
Punto de fusión	194°C (381°F)
Punto de ebullición	629°C (1164°F)
Farmacocinética	
Biodisponibilidad	69%
Unión proteica	98%
Metabolismo	Hepático
Vida media	18 horas
Excreción	Fecal: 83%
	Renal: 9%

## Solubilidad

La solubilidad (S) de un fármaco se define como la cantidad máxima disuelto en un volumen dado de un disolvente elegido; en temperatura, presión y pH. Para los fármacos ionizables, la solubilidad puede verse afectada por el pH de la solución y la solubilidad intrínseca ( $S_0$ ); la cual se define como la concentración de una solución saturada de la forma neutra del fármaco, en equilibrio con su sólido a temperatura y presión constantes.<sup>5</sup> El efecto del pH sobre la solubilidad es crítico en mezclas, soluciones, y en la formulación de formas de dosificación líquidas acuosas, incluyendo soluciones orales y tópicos. La solubilidad de un ácido débil o base es a menudo dependiente del pH. La cantidad total de un ácido débil monoprótico (HA) en solución a un pH específico es la suma de las concentraciones tanto de las formas de sal ( $A^-$ ) y ácido libre. Si el exceso de fármaco está presente, la cantidad de ácido libre en solución se maximiza, debido a su constante solubilidad de saturación. A medida que el pH de la solución aumenta, la cantidad de fármaco en solución aumenta porque la sal es ionizable y es más soluble en agua. Esta relación entre el pH y la solubilidad de los solutos ionizados tiene mucha importancia en relación con la ionización de los fármacos débilmente ácidos y alcalinos a su paso por el tubo digestivo, en donde se ven expuestos a un pH que puede variar entre 1 y 8. Esto influirá en el grado de ionización de las moléculas del fármaco, lo que a su vez influye en su solubilidad y su capacidad para ser absorbidas. La relación entre el pH y la solubilidad y el pK, de un fármaco ácido se refleja en la ecuación, que es una modificación de la ecuación de Henderson-Hasselbalch.<sup>8,9,10</sup> Donde S es la solubilidad total del fármaco y  $S_u$  la solubilidad de la forma no ionizada.

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{S - S_u}{S_0}$$

La determinación global de los valores de solubilidad en diferentes pH, brinda las bases para el perfil de pH-solubilidad. Selecciones seriales se centrarán luego en la posibilidad de modificación del pH, para una serie dada como parte de una estrategia para incrementar la absorción. Un pH ideal será el que favorece la ionización para incrementar la solubilidad, a la

vez que provee una forma no ionizada. Si el 99% del fármaco en el tracto gastrointestinal se encuentra en la forma ionizada y solo un 1% en la forma no ionizada, la primera aporta un reservorio de fármaco disuelto, mientras que la circulación sistémica hay una disminución de la forma no ionizada.<sup>11</sup> En este trabajo se realizó el perfil del pH-solubilidad para buscar el pH óptimo de trabajo a través de la solubilidad.

## **Factores que influyen en la solubilidad**

### **Temperatura**

La solubilidad de un principio activo puede disminuir por variaciones en la temperatura. Más acentuado en un principio activo poco solubles dosificados en concentraciones próximas a la solubilidad. Normalmente al aumentar la temperatura la solubilidad aumenta proporcionalmente, al ser endotérmicos la mayoría de los procesos.

### **Naturaleza y polaridad del medio**

La constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) es una medida de la polaridad del medio. Se relaciona con la capacidad del disolvente para separar iones del soluto de signo contrario. Las sustancias iónicas poseen una solubilidad mayor en medios con constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) alta. Se ha observado que determinados valores de constante dieléctrica, ayudan a elegir el mejor disolvente o mezcla de disolvente del principio activo.

### **Influencia del pH**

En la práctica farmacéutica, el pH es una variable crítica y una comprensión básica de sus principios y la medición es importante. La mayoría de los principios activos son electrolitos débiles y coexisten en equilibrio especies disociadas y no disociadas en solución acuosa. La tendencia a la disociación se evalúa a través de las constantes de disociación ( $pK_a$ ,  $pK_b$ ). El grado de ionización de un electrolito influye notablemente en la solubilidad, la fracción ionizada es más soluble en agua. El pH del medio en el grado de ionización. Los anfóteros poseen una solubilidad mínima en su punto isoeléctrico; pH donde la concentración de especies anfóteras eléctricamente neutras es máxima.

## Solubilidad de un fármaco

La mayoría de fármacos usados en terapéutica son ácidos o bases débiles, por lo que pueden ser manipulados como las respectivas sales, las cuales son mucho más solubles en agua, comparadas con sus respectivas especies moleculares. Este hecho es ampliamente documentado en la literatura y es por lo tanto, la base de la técnica de disolución por efecto del pH. Sin embargo, desafortunadamente la información sistemática sobre la solubilidad acuosa de fármacos salinos es muy escasa, en particular, en función de la temperatura. Esta información, junto con la relativa al volumen ocupado por los fármacos en solución, resulta fundamental en el diseño de formas farmacéuticas líquidas homogéneas al disminuir sustancialmente el número de ensayos requeridos a nivel de laboratorio.<sup>10</sup>

Un fármaco una vez administrado en forma de medicamento, el principio activo debe liberarse en el sitio de la administración y posteriormente se disuelve en los fluidos biológicos, antes de poder ser absorbido, y una buena absorción garantizara una biodisponibilidad adecuada que permita cumplir el objetivo del fármaco.

La solubilidad de los fármacos es de gran importancia ya que ello permite elegir el mejor disolvente para una forma farmacéutica (al igual que el menos adecuado) ya sea sólida o líquida. Un estudio detallado de la solubilidad y de las propiedades relacionadas con ella, proporciona información sobre la estructura y las fuerzas intermoleculares de los fármacos. La solubilidad de un compuesto depende de las propiedades fisicoquímicas del soluto y disolvente.

Ahora bien teniendo en cuenta que la distribución del agua en el cuerpo humano es de aproximadamente  $\frac{2}{3}$  partes de líquido intracelular, de los cuales un 25% es líquido plasmático y  $\frac{1}{3}$  es líquido extracelular y que tiene muchas propiedades fisiológicas en el organismo, tales como la participación en la mayoría de las reacciones químicas del metabolismo: como son los procesos de digestión, respiración, absorción y excreción, ayuda a eliminar toxinas del cuerpo, actúa como el medio ideal para transportar sustancias a todas las partes del cuerpo y recoger las sustancias de desecho de la actividad celular, además de formar parte de los fluidos corporales, como la sangre, la saliva, líquido sinovial, las lágrimas, los mocos, etc., el estudio de la solubilidad de los fármacos en medios acuosos se hace imprescindible para

predecir su comportamiento dentro del cuerpo humano y la predicción de la solubilidad del compuesto, es una forma de garantizar el fin previsto del producto.

Dentro del estudio de la solubilidad, la determinación de los factores que influyen en la misma, tales como la temperatura, la estructura molecular del soluto, la naturaleza del disolvente, las características de los cristales (polimorfismo y solvatación) el efecto del ion común, el efecto de los electrolitos indiferentes sobre el punto de solubilidad, el efecto de los no electrolitos sobre la solubilidad de los electrolitos y viceversa, la formación de complejos, los agentes solubilizadores y el pH, son importantes para mejorar la solubilidad de un determinado compuesto de interés farmacéutico; pero dentro de este grupo de factores el pH, es uno que como el agua se encuentra íntimamente relacionado con aspectos fisiológicos que afectan de manera directa la solubilidad del fármaco una vez ingerido, es por eso, que el estudio la solubilidad de un compuesto por control de pH arroja datos de vital importancia que permitirá evaluar el comportamiento del fármaco una vez este en contacto con un fluido corporal.<sup>8</sup>

## **pH y solubilidad**

La correlación entre pH y la solubilidad de fármacos ionizados es de gran importancia en relación con la ionización de ácidos y bases débiles, ya que cualquier medicamento que sea ingerido vía oral, estará expuesto a un pH de 1 y 8. Esto influirá en el grado de ionización de las moléculas del fármaco por ende afectara su solubilidad y a su vez su capacidad para ser absorbidas, esta relación puede ser expresada mediante las ecuación 1. La cual es una modificación de la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

$$pH = pK_a + \log \frac{S_u}{S_i} \quad \dots\dots \text{Ecuación 1}$$

Donde S es la solubilidad total del fármaco,  $S_u$  la solubilidad de la forma no ionizada y  $S_i$  es la solubilidad de la forma ionizada.

$$S = S_u + S_i \quad \dots\dots \text{Ecuación 2}$$

Mediante esta ecuación se puede calcular la solubilidad de un fármaco a un pH determinado, al igual que se puede determinar el pH mínimo a la que un fármaco permanece en una solución de concentración conocida.

La ecuación 1 se emplea para ácidos débiles, y la ecuación 3, para bases débiles.

$$pH = pKa + \log \frac{S_u}{S^-} \dots\dots \text{Ecuación 3}$$

### **pH y biodisponibilidad**

De otro lado la relación del pH con la biodisponibilidad es indiscutible ya que de acuerdo a la naturaleza del fármaco, este se disolverá o precipitará, aumentando o disminuyendo su solubilidad, un ácido débil será poco soluble en el estómago donde el pH es bajo, pero aumentara a medida que pase al intestino delgado, especialmente después de superar el duodeno, por el contrario una base débil será muy soluble en el estómago y su solubilidad disminuirá cuando pase al intestino delgado. Se debe tener en cuenta que aunque la luz del intestino delgado tiene un carácter básico las paredes tienen un pH menor, lo que facilita la solubilidad de estos fármacos. La disolución del fármaco puede expresarse con la ecuación de Noyes-Whitney (Ecuación 4) propuesta en 1897, la cual describe la velocidad de disolución de partículas esféricas cuando el proceso depende de la difusión y no implica ninguna reacción química.<sup>8</sup>

$$dC/dt = DA (C_s - C) / h \dots\dots \text{Ecuación 4}$$

Donde  $dC$  es la velocidad de la disolución de las partículas del fármaco,  $D$  es el coeficiente de difusión del fármaco en solución en los líquidos gastrointestinales,  $A$  es la superficie eficaz de las partículas,  $h$  es el grosor de la capa de difusión alrededor de cada partícula,  $C_s$  es la solubilidad de saturación del fármaco en la capa de difusión y  $C$  es la concentración del fármaco en los líquidos gastrointestinales, es importante resaltar que  $C_s = HA + H^+$  lo que relaciona la ecuación de Noyes-Whitney con el pH.

## pH y absorción

Al igual que la solubilidad otro factor que relaciona al pH y su biodisponibilidad es la absorción. Cuando el fármaco se ha disuelto se hace posible su absorción, y de acuerdo a la eficiencia de su absorción aumentara o disminuirá su biodisponibilidad. El científico Suizo Ernst Overton, en 1899 propone la hipótesis de la partición por el pH de la absorción farmacológica, según la cual el epitelio gastrointestinal actúan como una barrera para los fármacos que se absorben mediante difusión pasiva, y deja pasar con facilidad las sustancias liposolubles, lo que implica que la forma no ionizada de fármacos débilmente ácidos o básicos es absorbida con facilidad, y la forma ionizada encuentra un barrera para hacerlo. Por ende de acuerdo a la hipótesis de partición por el pH, la absorción del electrolito débil dependerá del porcentaje de la forma no ionizada del fármaco. La manera de cuantificar este porcentaje es mediante las Ecuaciones 5 y 6, para ácidos y bases débiles respectivamente propuestas por Henderson – Hasselbalch.

$$\log \frac{A^-}{HA} = \text{pH} - \text{pka} \dots\dots \text{Ecuación 5}$$

$$\log \frac{BH^+}{B} = \text{pka} - \text{pH} \dots\dots \text{Ecuación 6}$$

Donde en la ecuación 5; pka es el logaritmo negativo de la constante de disociación del ácido y HA y A<sup>-</sup> son las concentraciones de las formas no ionizada e ionizadas del ácido del fármaco que se encuentran disueltas en equilibrio en el líquido gastrointestinal y pH es el potencial de hidrogeno del medio donde se encuentran las formas ionizadas y no ionizadas, es decir los fluidos gastrointestinales. De manera similar se presenta el mismo fenómeno para las bases débiles de acuerdo a la ecuación 5.<sup>10,11</sup>

Otro factor que mejora la absorción de ácidos débiles en el intestino delgado es el flujo conectivo o arrastre por el solvente, el flujo de agua trasportara pequeñas moléculas hacia el torrente sanguíneo.<sup>12</sup>



## Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB)

Es un marco científico para clasificar a los fármacos, este se basa en la determinación de propiedades biofarmacéuticas que modifican la Biodisponibilidad de los principios activos.

Las propiedades biofarmacéuticas que resultan relevantes para clasificar a los fármacos según el SCB son la solubilidad y permeabilidad. La guía SCB establece que la solubilidad de los fármacos debe determinarse en medios acuosos con un rango de pH de 1.0 a 7.5 y a 37°C, se recomienda el uso del método de agitación del frasco o de titulación, o bien un análisis por un ensayo indicador de estabilidad validado. La permeabilidad intestinal puede ser determinada por: (i) estudios de perfusión intestinal in vivo en humanos, (ii) estudios de perfusión intestinal in vivo o in situ en animales, (iii) experimentos de permeación in vitro con secciones de tejidos intestinales humano o animales o (iv) con experimentos de permeación in vitro a través de monocapas de células epiteliales.

La clasificación de fármacos establecida por el SCB, los fármacos se clasifican según sus características de solubilidad y permeabilidad como:

- Clase I - Alta Solubilidad, Alta Permeabilidad
- Clase II - Baja Solubilidad, Alta Permeabilidad
- Clase III - Alta Solubilidad, Baja Permeabilidad
- Clase IV - Baja Solubilidad, Baja Permeabilidad

El criterio para considerar a un fármaco con una alta solubilidad y una alta permeabilidad según el SCB, se considera *altamente soluble* cuando la dosis terapéutica más elevada empleada es soluble en no más de 250 mL de agua en un intervalo de pH de 1.0 a 7.5. Por otro lado, un fármaco es *altamente permeable* cuando el grado de absorción en humanos es mayor o igual al 90% de una dosis administrada basada en un balance de masa o en comparación a una dosis intravenosa de referencia.<sup>13,14</sup>

## **METODOLOGÍA DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

### **DETERMINACIÓN DE LINEALIDAD Y PRECISIÓN DEL MÉTODO.**

La validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

Las características de desempeño analítico evaluadas en este trabajo están basadas en los criterios de la NORMA Oficial Mexicana NOM-177- SSA1- 1998 son los siguientes:

#### **Linealidad**

La linealidad de un método debe demostrar una linealidad con al menos 5 puntos (excepto el cero) por duplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%.

#### **Precisión**

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente, a diferentes fracciones de la misma muestra homogénea. La precisión de los datos de linealidad se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2%.

#### **\*Reproducibilidad**

Evaluar el efecto de los eventos aleatorios en la precisión del método analítico, tales como los días, los analistas o los equipos. Debe analizarse una muestra homogénea del producto, al menos por triplicado para probar cada condición. El coeficiente de variación global no debe ser mayor al 2%.

**\*Repetibilidad**

Expresa la precisión de un método analítico empleado dentro de un laboratorio, bajo las mismas condiciones de operación en un corto intervalo de tiempo empleando al mismo analista y el mismo equipo, nueve determinaciones que cubren el intervalo, tres determinaciones repetidas de cada concentración. El coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.

**Estabilidad**

Determinar las condiciones de temperatura y tiempo entre otros, en las que el compuesto permanezca estable en experimento.

## Material

Tabla 2. Reactivos y equipo

EQUIPO	
Agitador con temperatura Thermo Scientific	Equipo de Purificación de Agua Milli-Q
Thermo Scientific. Evolution 60	Balanza Analítica Sartorius Modelo A210P
Potenciómetro Thermo Orion Modelo 410 A Plus	Matraces volumétricos de 25mL
Vortex	Piseta de plástico
Espátula cromo-níquel	Vasos de precipitados de 10, 50, 250 mL
Pipetas Pasteur de vidrio	Pipetas automáticas con puntas intercambiables de plástico
Celdas de cuarzo	Naves de pesado
REACTIVOS	
Mifepristona ( $C_{29}H_{35}NO_2$ )	Metanol ( $CH_3OH$ )
Fosfato dibásico de sodio anhidro ( $Na_2HPO_4$ )	Ácido clorhídrico (HCl)
Hidróxido de sodio (NaOH)	Ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ )
Ácido acético glacial ( $CH_3COOH$ )	Acetato de sodio ( $NaC_2H_3O_2$ )
Fosfato monobásico de potasio ( $KH_2PO_4$ )	

### Preparación de soluciones amortiguadoras

#### HCl 0.1N pH 1.2

En un matraz volumétrico de 500 mL, depositar 100 mL de agua, agregar lentamente 4.5 mL de HCl. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

#### Solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0

En un matraz volumétrico de 500mL, disolver 4.475g de fosfato dibásico de sodio ( $Na_2HPO_4$ ) y 1.74g de fosfato monobásico de potasio ( $KH_2PO_4$ ) con 450mL de agua destilada, si es necesario ajustar a pH 2.0 con ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) y llevar al aforo.

### **Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0**

Disolver 3.75g de fosfato dibásico de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) con 300 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 500mL, ajustar a pH 3.0 con ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y llevar al aforo.

### **Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5**

En un matraz volumétrico de 500 mL disolver 34g de fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) con 450mL de agua destilada. Ajustar a pH 3.5 con ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Llevar al aforo.

### **Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 4.6**

Pesar 2.05g de acetato de sodio ( $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ), colocarlos en un matraz volumétrico de 500 mL. Adicionar agua y disolver, agregar 1.4 mL de ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Ajustar el pH a 4.6 con ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 1M o hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 1M, llevar a volumen con agua.

### **Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0**

Pesar 6.8 g de fosfato de monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), pasar a un matraz de 500mL, disolver con 450 mL de agua destilada, si es necesario ajustar a pH 5.0 con solución de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 0.2N, llevar al aforo con agua y mezclar.

## Desarrollo experimental

### Barrido espectrofotométrico de mifepristona

Se realizó un barrido espectrofotométrico utilizando una solución de mifepristona de 1 µg/mL en un rango de longitud de onda de 200-450 nm en cada pH (solución amortiguadora de HCl pH 1.2, solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0, solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0, solución amortiguadora de acetatos pH 3.5, solución amortiguadora de acetatos pH 4.6 y solución amortiguadora de fosfatos pH 5.0)

### Preparación de la solución stock

Pesar 0.01g de mifepristona colocar en un matraz aforado de 10 mL y llevar al aforo con metanol (CH<sub>3</sub>OH), la solución tiene una concentración 0.001g/mL, (1mg/mL).

### Preparación de las soluciones para la curva

Preparar las soluciones, partir de la solución stock de acuerdo a la siguiente tabla, el aforo es con cada una de las soluciones amortiguadoras.

Tabla 3. Preparación de la curva patrón

Concentración µg/mL	alícuota µL	Aforo mL
5	50	10
10	100	10
20	200	10
30	300	10
40	400	10

## **PRUEBA DE ESTABILIDAD**

### **Preparación de la solución stock**

Preparar la solución stock de la misma manera que la utilizada en la validación (pág. 32).

### **Preparación de soluciones amortiguadoras**

Se prepararon las soluciones amortiguadoras utilizadas en el método de validación (pág. 31).

### **Preparación de soluciones para la prueba de estabilidad**

1. Agregar 200  $\mu\text{L}$  de la solución stock (concentración 1mg/mL) en matraces de 10 mL, llevar al aforo con cada una de las soluciones amortiguadoras (pH 1.2, pH 3.0, pH 5.0 y 6.8), estas soluciones poseen una concentración de 20  $\mu\text{g/mL}$ . Leer en el espectrofotómetro a 310nm (A tiempo 0, 4, 8 y 12h, todas las lecturas a temperatura ambiente). Registrar la absorbancia.
2. Colocar los matraces en el termo-agitador (Thermo Scientific), a una temperatura de 25°.
3. Al término del tiempo, retirar los matraces del termo-agitador y centrifugar las muestras, por 15 minutos a 6000rpm. Tomar el sobrenadante y leer en el espectro a 310nm. Registrar las absorbancias . Colocar los matraces de nuevo en el termo-agitador con las condiciones mencionadas anteriormente en cada tiempo.
4. Realizar los mismos pasos obtener la lectura a las 12 horas.

## RESULTADOS

### Barrido espectrofotométrico de mifepristona

Tabla 4. Valores de absorbancia de la mifepristona al realizar un barrido de 200 a 450 nm

1.0 µg/mL	pH					
λ (nm)	HCl 0.1N pH 1.2	SA de fosfatos pH 2.0	SA de fosfatos pH 3.0	SA de acetatos 0.01M pH 3.5	SA de acetatos 0.01M pH 4.6	SA de fosfatos 0.01M pH 5.0
250	0	0	0.018	0.002	0.003	0.002
260	0	0	0.019	0.006	0.006	0.003
270	0	0	0.022	0.009	0.009	0.008
280	0	0	0.026	0.018	0.026	0.020
300	0	0	0.026	0.022	0.027	0.023
<b>310</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.029</b>	<b>0.028</b>	<b>0.029</b>	<b>0.026</b>
320	0	0	0.028	0.027	0.028	0.026
340	0	0	0.026	0.025	0.026	0.024
350	0	0	0.026	0.023	0.025	0.022
360	0	0	0.023	0.018	0.026	0.020
370	0	0	0.014	0.009	0.018	0.012
380	0	0	0.011	0.006	0.010	0.008
390	0	0	0.007	0.006	0.007	0.006
400	0	0	0.006	0.005	0.006	0.003
410	0	0	0.006	0.003	0.006	0.002
420	0	0	0.003	0.002	0.003	0.001
430	0	0	0.003	0.001	0.003	0.001
440	0	0	0.001	0.001	0.002	0
450	0	0	0.001	0.001	0	0



## Linealidad en HCl 0.1N pH 1.2

Tabla 5. Determinación de la linealidad en HCl 0.1N pH 1.2

pH 1.2 HCl 0.1N	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	<b>1</b>	<b>2</b>
5	0.161	0.161
10	0.366	0.364
20	0.765	0.765
30	1.145	1.148
40	1.563	1.565
Ordena al origen(b)	-0.0358	-0.0374
Pendiente (m)	0.0398	0.0399
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9998</b>	<b>0.9998</b>
<b>%EER</b>	<b>1.0777</b>	<b>1.9902</b>

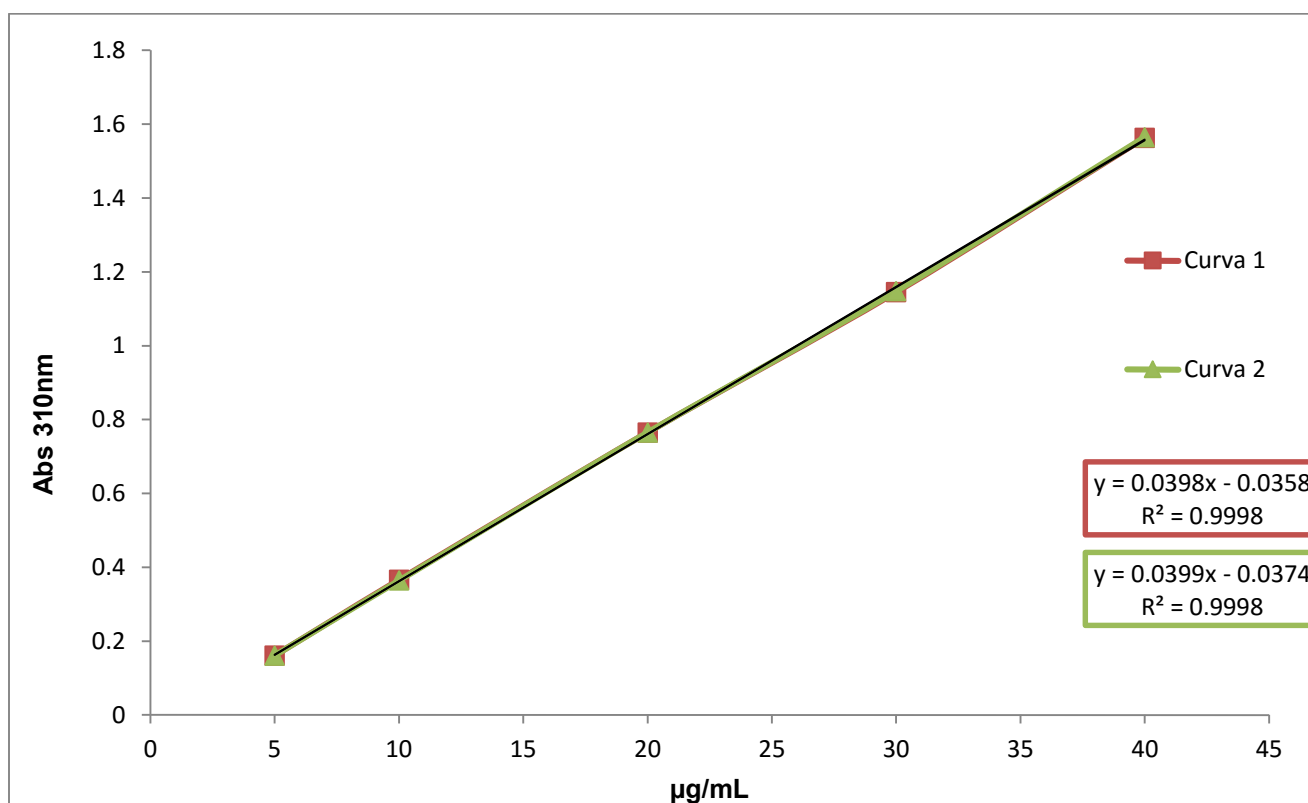


Figura 3. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en HCl 0.1N pH 1.2

## Precisión en HCl 0.1N pH 1.2

### Reproducibilidad

La tabla 6 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 6. Determinación de la reproducibilidad en HCl 0.1 N, pH 1.2.

HCl 0.1N pH 1.2	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.0902	5.0677	5.0727	4.9497	4.9447	4.9724	5.0162	0.0675	<b>1.3450</b>
10	10.1028	10.1053	10.0852	10.1005	10.0955	10.0602	10.0916	0.0169	<b>0.1679</b>
20	19.9273	19.9298	19.9599	20.1005	20.1206	20.1103	20.0247	0.0948	<b>0.4735</b>
30	29.5514	29.6040	29.6090	29.6985	29.6683	29.7093	29.6401	0.0619	<b>0.2087</b>
40	40.3534	40.3058	40.3108	40.1759	40.1709	40.1604	40.2462	0.0862	<b>0.2143</b>

### Repetibilidad

La tabla 7 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 7. Determinación de la repetibilidad en HCl 0.1N pH 1.2

HCl 0.1N pH 1.2	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.161	0.161	0.161	0.161	0	<b>0</b>
10	0.366	0.366	0.364	0.3653	0.0011	<b>0.3160</b>
20	0.764	0.765	0.765	0.7646	0.0005	<b>0.0755</b>
30	1.146	1.145	1.148	1.1463	0.0015	<b>0.1332</b>
40	1.563	1.563	1.565	1.5636	0.0011	<b>0.0738</b>

## Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona HCl 0.1N pH 1.2

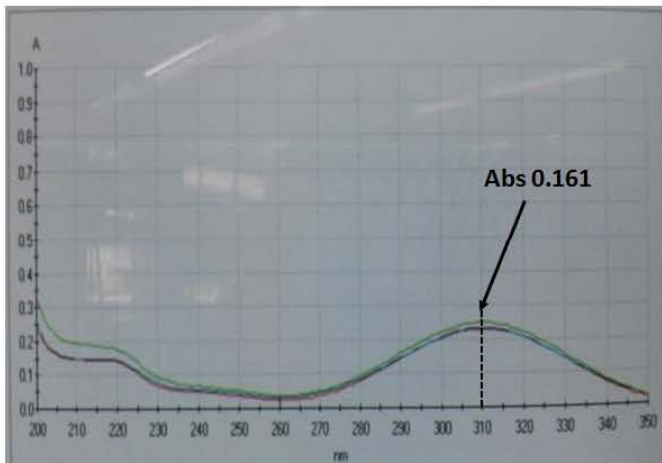


Figura 4. [5 µg/mL]

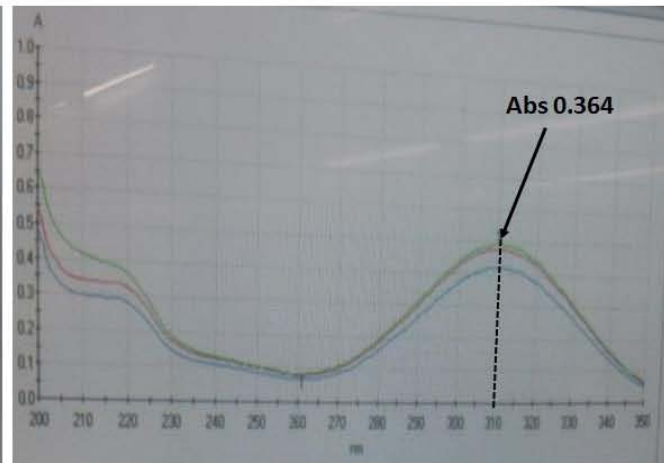


Figura 5. [10 µg/mL]

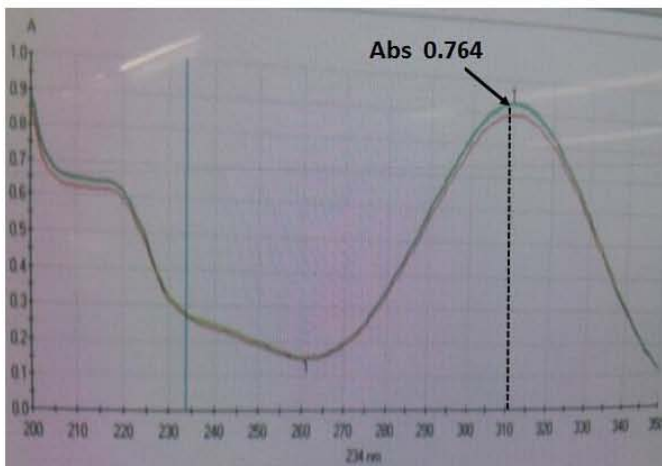


Figura 6. [20 µg/mL]

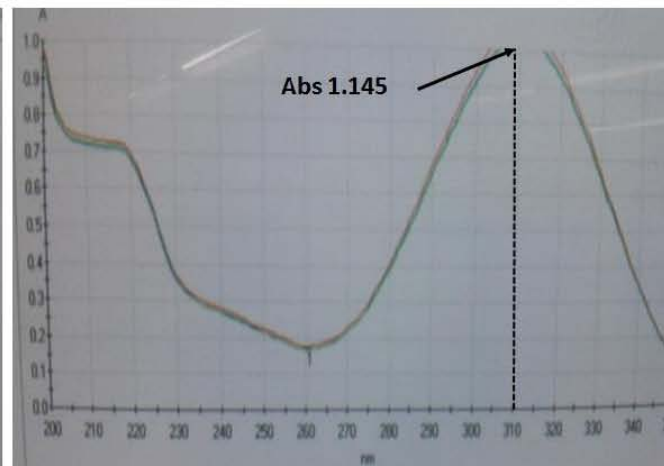


Figura 7. [30 µg/mL]

## Linealidad solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0

Tabla 8. Determinación de la linealidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0

Solución amortiguadora fosfatos pH 2.0	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	<b>1</b>	<b>23</b>
5	0.211	0.212
10	0.43	0.433
20	0.89	0.9
30	1.339	1.341
40	1.751	1.749
Ordena al origen(b)	-0.006	-0.0012
Pendiente (m)	0.0443	0.0442
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9994</b>	<b>0.999</b>
<b>%EER</b>	<b>0.6231</b>	<b>2.0095</b>

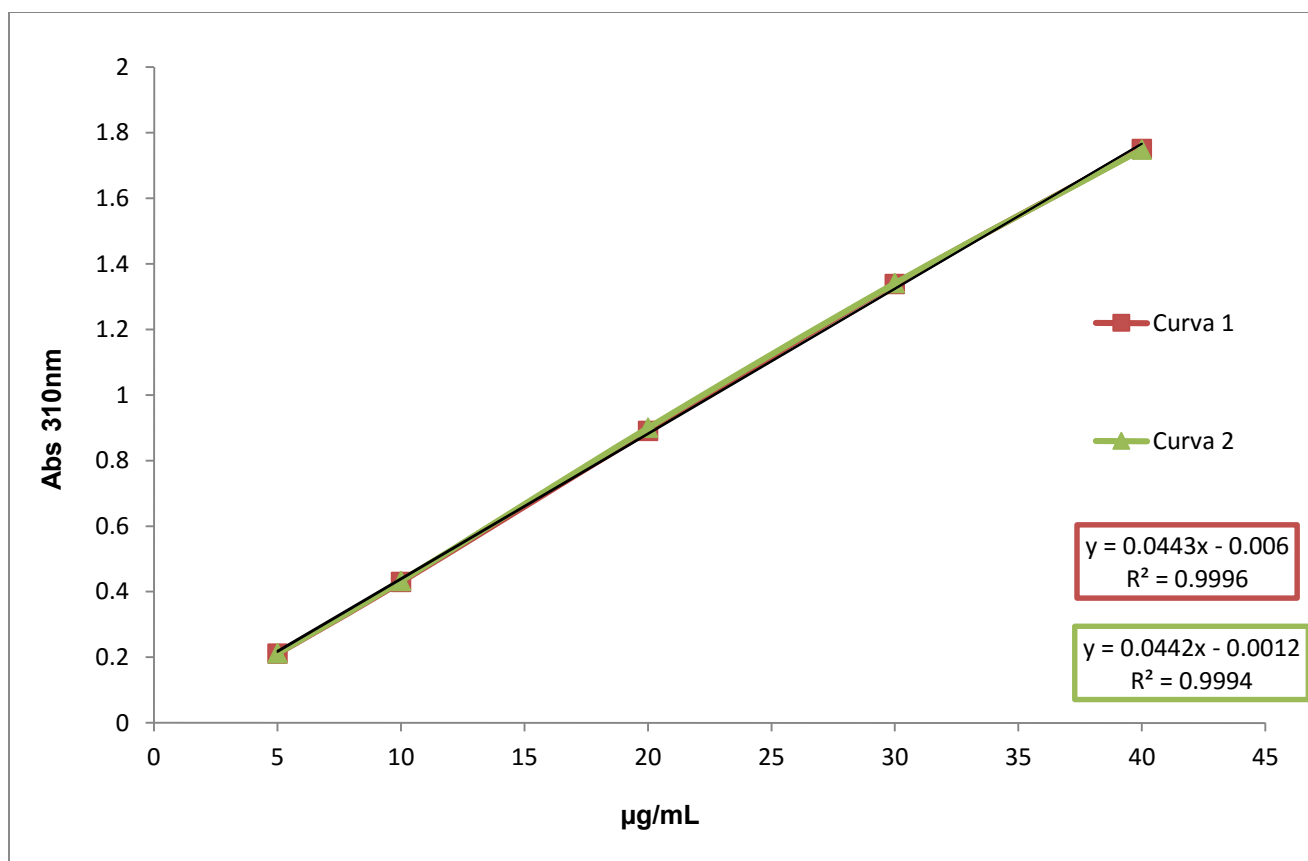


Figura 8. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en Solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0

## Precisión amortiguadora de fosfatos pH 2.0

### Reproducibilidad

La tabla 9 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 9. Determinación de la reproducibilidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0.

Solución amortiguadora fosfatos pH 2.0	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.0172	5.0236	5.0428	4.7946	4.8984	4.8235	4.9334	0.1093	<b>2.2149</b>
10	9.8448	9.8201	9.8180	9.7381	9.8420	9.8235	9.8144	0.0391	<b>0.3980</b>
20	20.4052	20.3340	20.3319	20.5959	20.2257	20.3891	20.3803	0.1229	<b>0.6032</b>
30	29.5431	29.7559	29.7537	30.3251	30.3612	30.3665	30.0176	0.3735	<b>1.2443</b>
40	40.1466	40.0343	40.0749	39.5576	39.6614	39.5973	39.8453	0.2673	<b>0.6709</b>

### Repetibilidad

La tabla 10 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 10. Determinación de la repetibilidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 2.0.

Solución amortiguadora fosfatos pH 2.0	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.21	0.211	0.212	0.211	0.001	<b>0.4739</b>
10	0.429	0.43	0.433	0.4307	0.0021	<b>0.4834</b>
20	0.91	0.89	0.9	0.9	0.01	<b>1.1111</b>
30	1.341	1.339	1.341	1.3403	0.0012	<b>0.0862</b>
40	1.75	1.751	1.749	1.75	0.001	<b>0.0571</b>

## Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 2.0

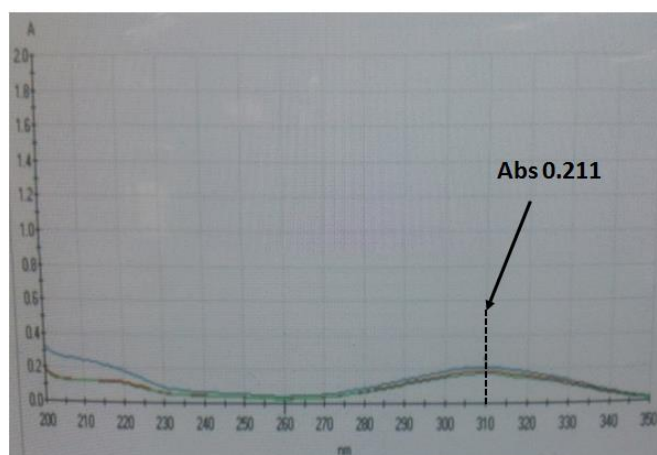


Figura 9. [5 µg/mL]

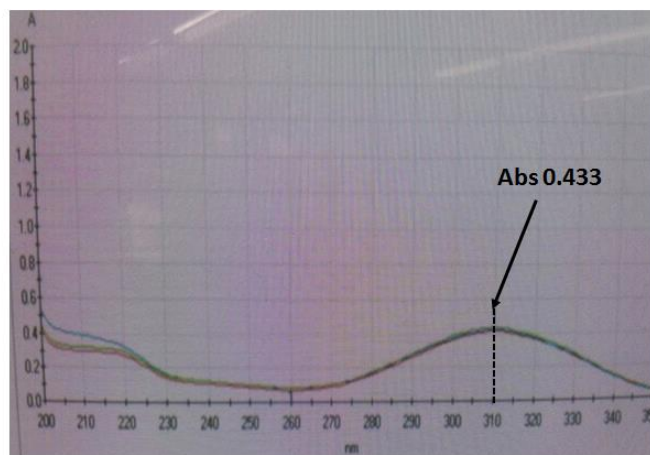


Figura 10. [10 µg/mL]

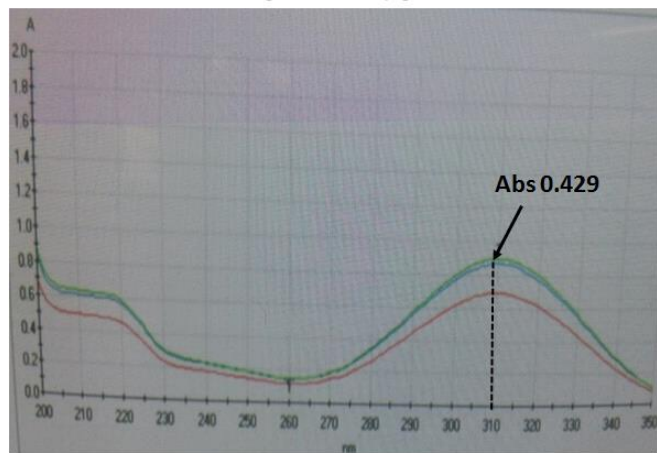


Figura 11. [20 µg/mL]

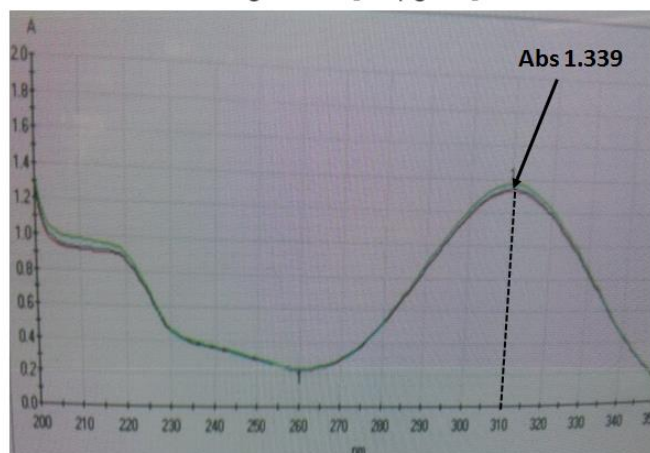


Figura 12. [30 µg/mL]

## Linealidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

Tabla11. Determinación de la linealidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2
5	0.222	0.225
10	0.436	0.437
20	0.879	0.884
30	1.385	1.387
40	1.819	1.817
Ordena al origen(b)	-0.0198	-0.0159
Pendiente (m)	0.0461	0.046
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9993</b>	<b>0.9996</b>
<b>%EER</b>	<b>1.4699</b>	<b>1.2791</b>

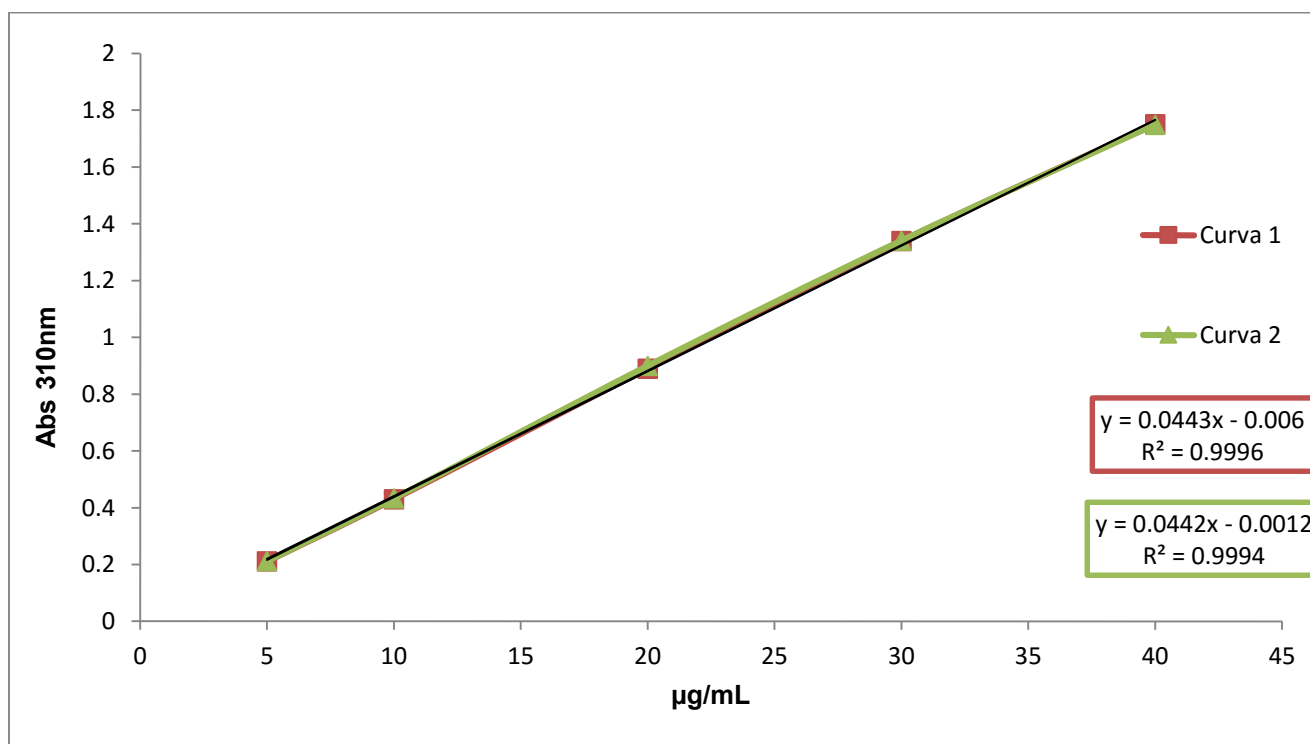


Figura 13. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

## Precisión en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

### Reproducibilidad

La tabla 12 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 12. Determinación de la reproducibilidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.2027	5.2281	5.2698	5.2451	5.2609	5.2370	5.2406	0.0240	<b>0.4584</b>
10	10.1458	10.0899	9.9674	9.8872	9.8478	9.8457	9.9640	0.1283	<b>1.2876</b>
20	19.5991	19.0991	19.2465	19.4967	19.5435	19.5630	19.4247	0.2033	<b>1.0465</b>
30	29.6674	30.6198	30.6884	30.4729	30.4565	30.4978	30.4005	0.3705	<b>1.2186</b>
40	40.3964	39.8594	39.8512	39.8872	39.8913	39.8457	39.9552	0.2169	<b>0.5430</b>

### Repetibilidad

La tabla 13 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 13. Determinación de la repetibilidad en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.222	0.224	0.225	0.2237	0.0015	<b>0.6829</b>
10	0.436	0.435	0.437	0.436	0.001	<b>0.2294</b>
20	0.879	0.881	0.884	0.8813	0.0025	<b>0.2855</b>
30	1.385	1.383	1.387	1.385	0.002	<b>0.1444</b>
40	1.819	1.817	1.817	1.8177	0.0012	<b>0.0635</b>



## Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 3.0

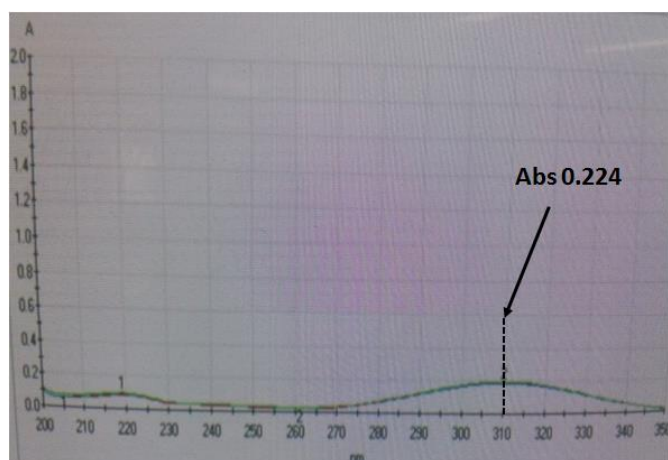


Figura 14. [5 µg/mL]

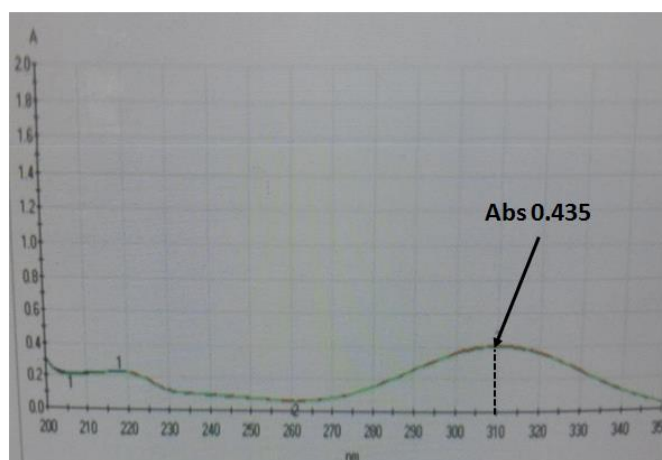


Figura 15. [10 µg/mL]

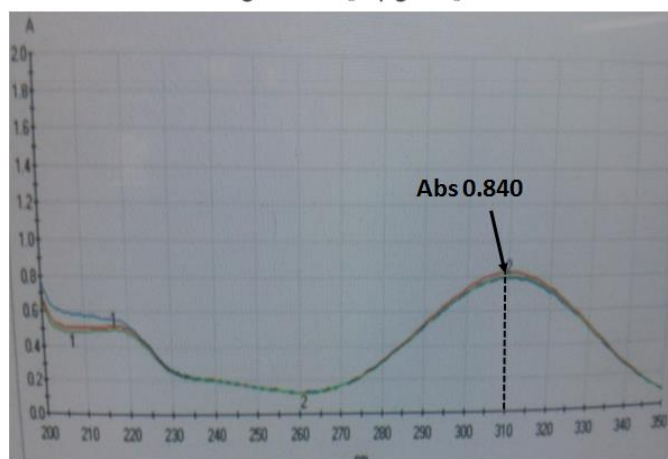


Figura 16. [20 µg/mL]

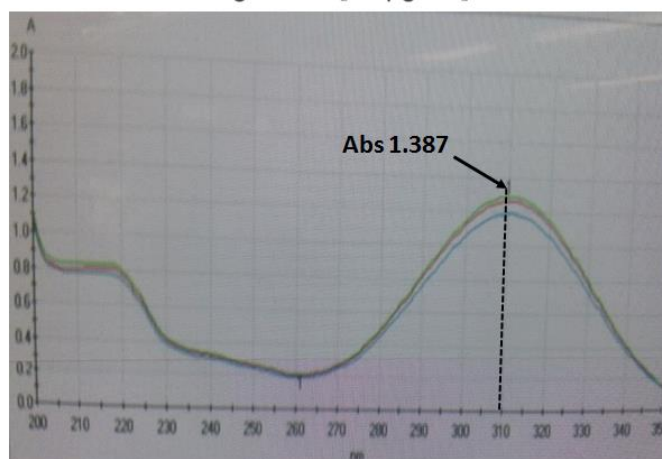


Figura 17. [30 µg/mL]

## Linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5

Tabla 14. Determinación de la linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5

Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2
5	0.224	0.225
10	0.419	0.42
20	0.888	0.887
30	1.363	1.365
40	1.859	1.865
Ordena al origen(b)	-0.0356	-0.0365
Pendiente (m)	0.047	0.0471
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9994</b>	<b>0.9989</b>
<b>%EER</b>	<b>0</b>	<b>1.0332</b>

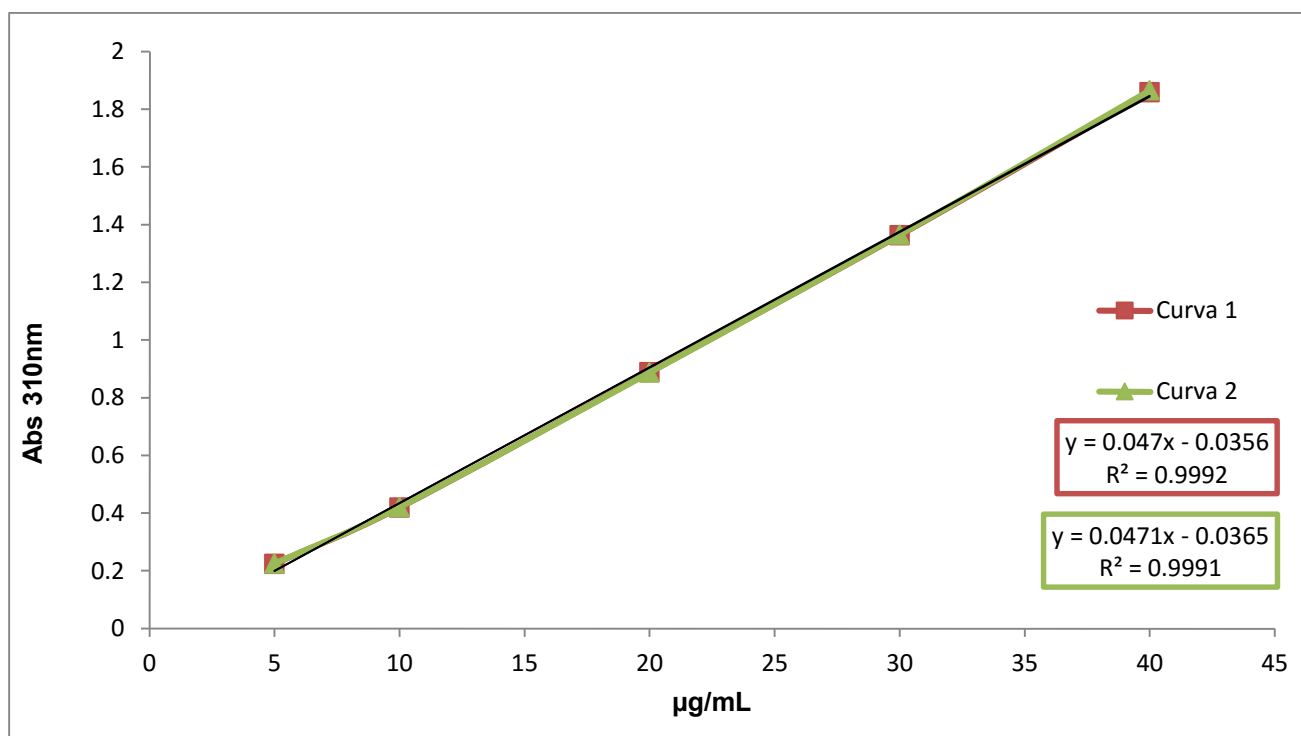


Figura 18. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5

## Precisión en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5.

Reproducibilidad

La tabla 15 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 15. Determinación de la reproducibilidad en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5

Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.4582	5.4004	5.4801	5.5106	5.5234	5.5520	5.4875	0.0538	<b>0.9809</b>
10	9.9979	10.0964	10.0084	9.7021	9.6723	9.6921	9.8616	0.1925	<b>1.9518</b>
20	19.3075	19.2998	19.2327	19.6596	19.6511	19.6072	19.4596	0.1993	<b>1.0241</b>
30	29.7259	29.6771	29.8407	29.7872	29.7574	29.7558	29.7574	0.0552	<b>0.1856</b>
40	40.4582	40.4948	40.4486	40.3404	40.3106	40.3715	40.4040	0.0734	<b>0.1818</b>

Repetibilidad

La tabla 16 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 16. Determinación de la repetibilidad en solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5

Solución amortiguadora de acetatos 0.01M pH 3.5	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.225	0.224	0.225	0.2247	0.0006	<b>0.2570</b>
10	0.422	0.419	0.42	0.4203	0.0015	<b>0.3634</b>
20	0.89	0.888	0.887	0.8883	0.0015	<b>0.1720</b>
30	1.366	1.363	1.365	1.3647	0.0015	<b>0.1119</b>
40	1.862	1.859	1.865	1.862	0.003	<b>0.1611</b>

**Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 3.5**

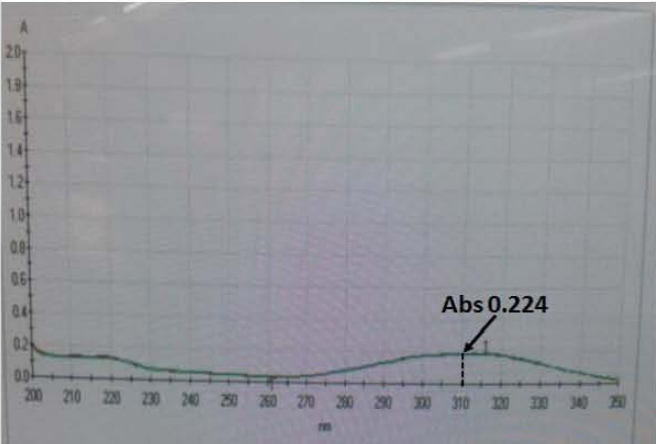


Figura 19. [5 µg/mL]



Figura 20. [10 µg/mL]

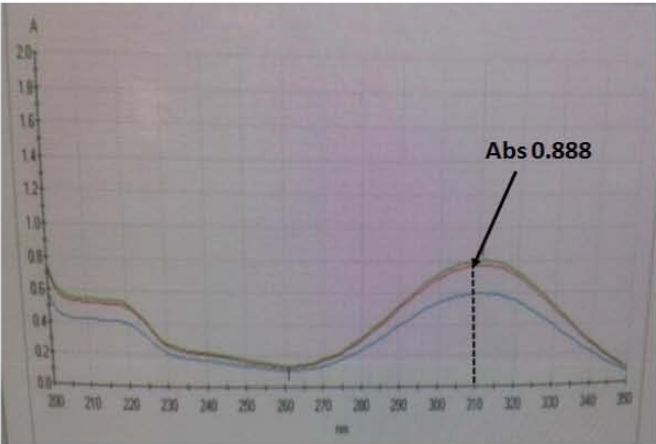


Figura 21. [20 µg/mL]



Figura 22. [30 µg/mL]

## Linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6

Tabla 17. Determinación de la linealidad en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6

Solución amortiguadora de acetatos 0.1M pH 4.6	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	<b>1</b>	<b>2</b>
5	0.253	0.251
10	0.431	0.43
20	0.959	0.953
30	1.464	1.466
40	1.924	1.926
Ordena al origen(b)	-0.0178	-0.0215
Pendiente (m)	0.0488	0.0489
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9999</b>	<b>0.9997</b>
<b>%EER</b>	<b>0</b>	<b>2.0303</b>

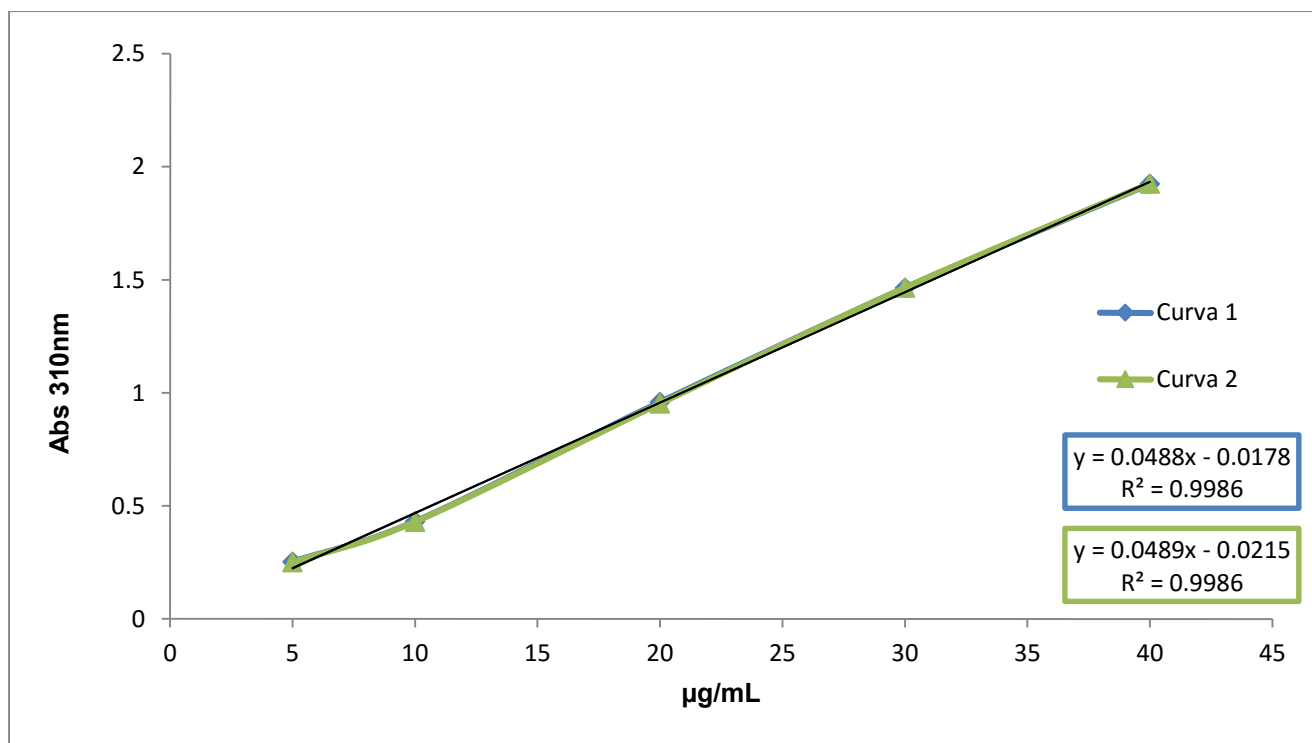


Figura 23. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6

## Precisión en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6.

### Reproducibilidad

La tabla 18 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 18. Determinación de la reproducibilidad en Solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6

Solución amortiguadora de acetatos 0.1M pH 4.6	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.7851	5.6653	5.7140	5.5492	5.5225	5.5726	5.6348	0.1035	<b>1.8376</b>
10	9.2390	9.2926	9.2940	9.1967	9.2316	9.2331	9.2478	0.0382	<b>0.4134</b>
20	19.7008	19.8537	19.7540	20.0164	20.0307	19.9284	19.8807	0.1359	<b>0.6836</b>
30	29.9618	29.9940	30.0140	30.3648	30.3996	30.4192	30.1922	0.2229	<b>0.7383</b>
40	40.1627	40.1142	40.1340	39.7910	39.8053	39.8262	39.9722	0.1815	<b>0.4540</b>

### Repetibilidad

La tabla 19 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 19. Determinación de la repetibilidad en Solución amortiguadora de acetatos 0.1 M pH 4.6

Solución amortiguadora de acetatos 0.1M pH 4.6	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.253	0.251	0.251	0.2517	0.0012	<b>0.4588</b>
10	0.431	0.432	0.43	0.4310	0.0010	<b>0.2320</b>
20	0.959	0.959	0.953	0.9570	0.0035	<b>0.3620</b>
30	1.464	1.465	1.466	1.4650	0.0010	<b>0.0683</b>
40	1.924	1.924	1.926	1.9247	0.0012	<b>0.0600</b>

## Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 4.6

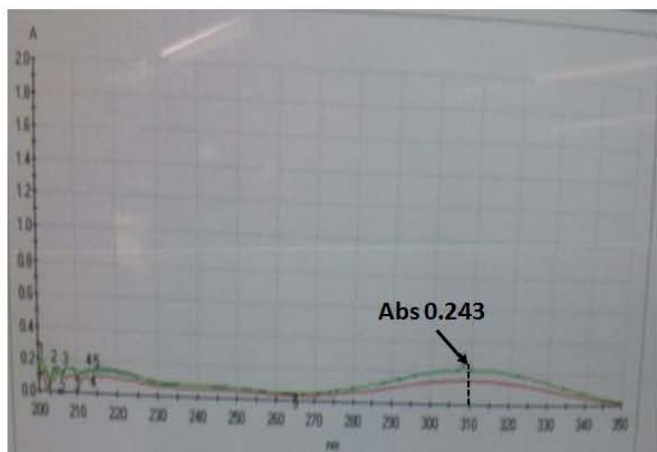


Figura 24. [5 µg/mL]

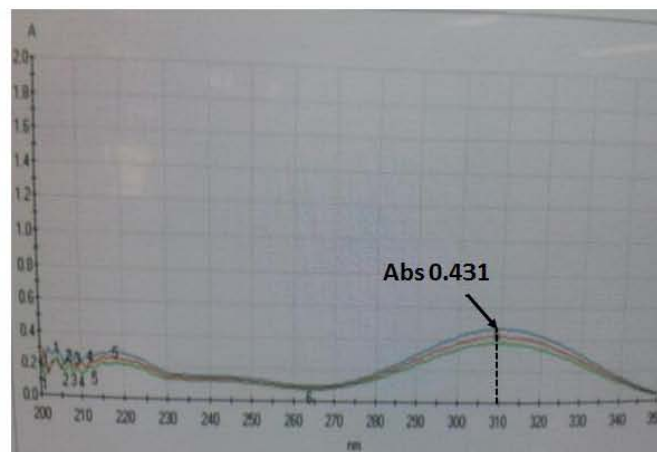


Figura 25. [10 µg/mL]

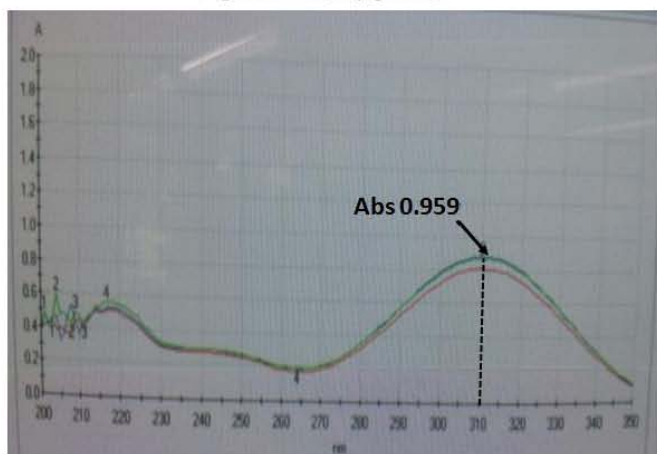


Figura 26. [20 µg/mL]



Figura 27. [30 µg/mL]

## Linealidad en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Tabla 20. Determinación de la linealidad en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0	Abs $\lambda$ 310 nm	
	Curva	
[ ] $\mu\text{g/mL}$	<b>1</b>	<b>2</b>
5	0.253	0.249
10	0.488	0.485
20	0.921	0.919
30	1.392	1.39
40	1.993	1.993
Ordena al origen(b)	-0.0165	-0.0207
Pendiente (m)	0.0489	0.049
<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>0.9991</b>	<b>0.9994</b>
<b>%EER</b>	<b>2.4145</b>	<b>2.0875</b>

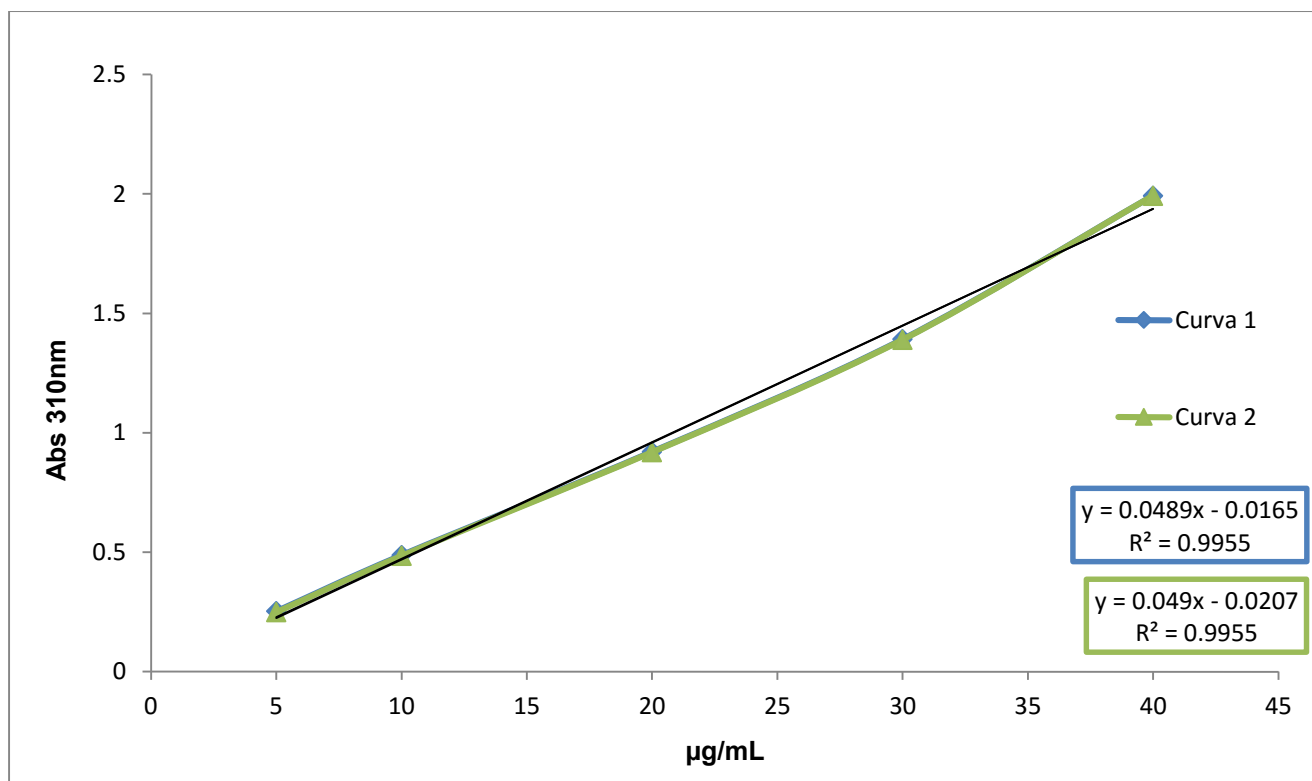


Figura 28. Linealidad del método para cuantificar mifepristona en buffer de fosfatos 0.1M pH 5.0



## Precisión en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Reproducibilidad

La tabla 21 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 21. Determinación de la reproducibilidad de mifepristona en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0	Abs $\lambda$ 310 nm								
	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$								
	Día 1			Día 2					
[ ] nominal $\mu\text{g/mL}$	C1	C2	C3	C1	C2	C3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	5.4353	5.4990	5.4764	5.5112	5.4776	5.5041	5.4839	0.0277	<b>0.5053</b>
10	10.6099	10.4887	10.5688	10.3170	10.3143	10.3204	10.4365	0.1364	<b>1.3066</b>
20	18.6386	18.7023	18.5975	19.1718	19.2735	19.1776	18.9269	0.3114	<b>1.6455</b>
30	29.2546	29.2772	29.3162	28.8037	28.7224	28.7898	29.0273	0.2818	<b>0.9707</b>
40	40.9589	40.9405	40.9384	41.0941	41.1102	41.0959	41.0230	0.0849	<b>0.2070</b>

Repetibilidad

La tabla 22 muestra los coeficientes de variación (%CV).

Tabla 22. Determinación de la repetibilidad en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0	Abs $\lambda$ 310 nm					
	Curva					
[ ] $\mu\text{g/mL}$	1	2	3	$\bar{x}$	DE	%CV
5	0.253	0.25	0.249	0.2507	0.0021	<b>0.8305</b>
10	0.488	0.487	0.485	0.4867	0.0015	<b>0.3139</b>
20	0.921	0.926	0.919	0.922	0.0036	<b>0.3911</b>
30	1.392	1.389	1.39	1.3903	0.0015	<b>0.1099</b>
40	1.993	1.996	1.993	1.994	0.0017	<b>0.0869</b>

**Espectros UV de Validación del método analítico de Mifepristona pH 5.0**

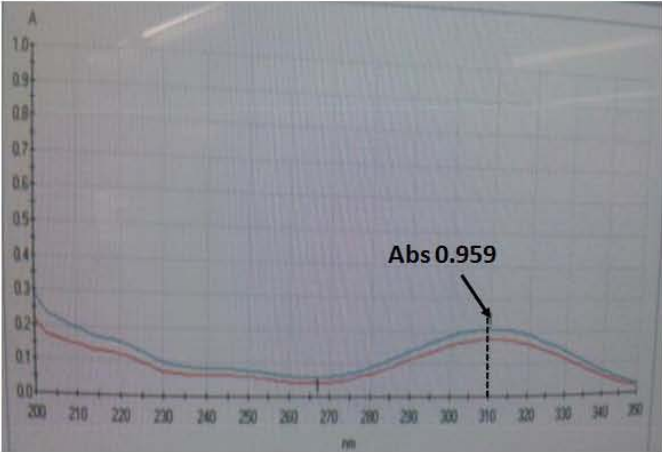


Figura 29. [5 µg/mL]

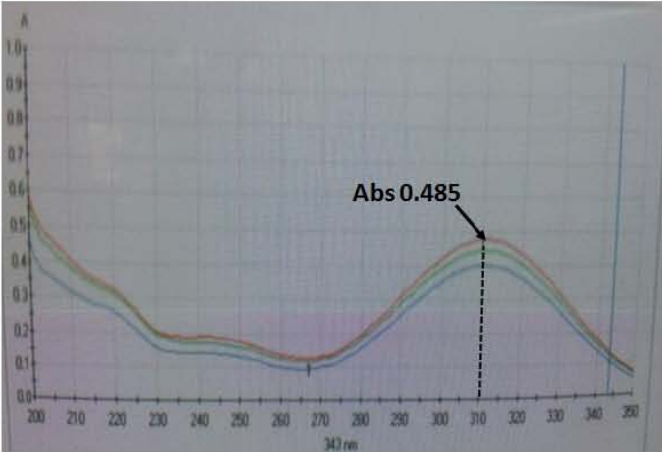


Figura 30. [10 µg/mL]

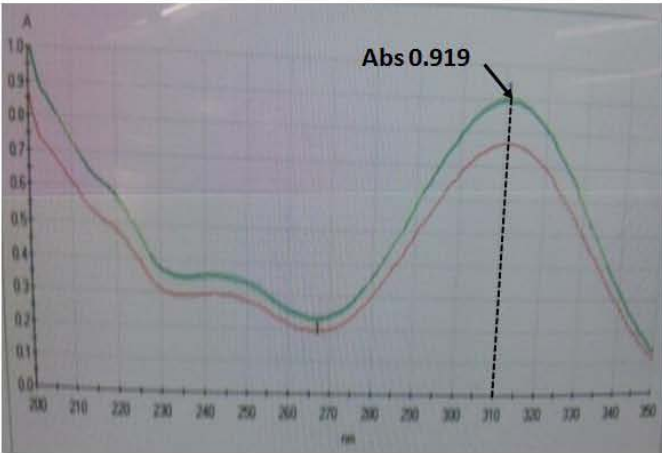


Figura 31. [20 µg/mL]



Figura 32. [30 µg/mL]

## Estabilidad de la mifepristona

Tabla 23. Absorbancias para la determinación de estabilidad de la mifepristona a 25°C, n=2.

pH	Abs $\lambda$ 310 nm							
	0h		4h		8h		12h	
	n=1	1 Duplicado	n=1	1 Duplicado	n=1	1 Duplicado	n=1	1 Duplicado
1.2	1	0.978	0.944	0.922	0.959	0.936	0.944	0.934
3	0.969	0.974	0.94	0.949	0.957	0.966	0.91	0.897
5	0.94	0.954	0.914	0.919	0.832	0.84	0.834	0.853
6.8	0.847	0.863	0.462	0.475	0.427	0.438	0.427	0.441

Tabla 24. Promedio de las absorbancias y su respectiva concentración para la determinación de la estabilidad de la mifepristona a 25°C

pH	Tiempo 0h	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Tiempo 4h	Concentración $\mu\text{g/mL}$
1.2	0.989	20.49 $\pm$ 0.02	0.933	19.43 $\pm$ 0.02
3	0.9715	20.22 $\pm$ 0.00	0.9445	19.69 $\pm$ 0.01
5	0.947	20.16 $\pm$ 0.01	0.9165	19.12 $\pm$ 0.00
6.8	0.853	20.41 $\pm$ 0.01	0.4685	10.68 $\pm$ 0.01
pH	Tiempo 8h	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Tiempo 12h	Concentración $\mu\text{g/mL}$
1.2	0.9475	19.70 $\pm$ 0.02	0.939	19.54 $\pm$ 0.01
3	0.9615	19.97 $\pm$ 0.01	0.9035	18.88 $\pm$ 0.01
5	0.836	17.60 $\pm$ 0.01	0.8885	17.75 $\pm$ 0.01
6.8	0.427	10.01 $\pm$ 0.01	0.449	10.03 $\pm$ 0.01

Se obtuvo el porcentaje de las solubilidades de cada uno de los pHs trabajados en los diferentes tiempos, estos se muestran en la tabla 25.

Tabla 25. Porcentaje presente en cada tiempo de mifepristona a 25°C.

pH	Porcentaje (%)			
	Tiempo 0h	Tiempo 4h	Tiempo 8h	Tiempo 12h
1.2	100	94.85	96.18	95.40
3	100	97.38	98.78	93.37
5	100	94.84	87.32	88.02
6.8	100	52.33	49.01	49.15

## **MÉTODO SHAKE-FLASK**

Es un método en el que se realiza la medición de la solubilidad de un fármaco en una solución que se lleva a saturación y se espera alcanzar el equilibrio entre la fase sólida y líquida.

## **METODOLOGÍA PERFIL pH-SOLUBILIDAD**

### **Preparación de la solución stock**

Preparar la solución stock de la misma manera que la utilizada en la validación (pág. 32).

### **Preparación de soluciones amortiguadoras**

Se prepararon las soluciones amortiguadoras utilizadas en el método de validación (pág. 31).

### **Preparación de la curva.**

Realizar una curva de calibración para los pH 1.2, pH 3.0 y pH 5.0, utilizando las alícuotas de la solución stock indicadas en la pág. 32, Tabla 3, y llevando al aforo con cada una de las soluciones amortiguadoras. Leer a 310nm.

### **Preparación de soluciones para el Perfil pH-solubilidad a 37°C.**

1. Agregar en tres matraces de 10 mL, 200 µL de la solución stock (1mg/mL), llevar al aforo con cada una de las soluciones amortiguadoras (pH 1.2, pH 3.0 y pH 5.0), concentración que se obtiene es de 20 µg/mL. Leer en el espectrofotómetro a 310nm (Tiempo 0). Registrar la absorbancia.
2. Colocar los tres matraces en el termo-agitador (Thermo Scientific), a una temperatura de 37°, con agitación moderada. Esperar 12 horas.

3. Al término del tiempo, retirar los matraces del termo-agitador y centrifugar las muestras, por 15 minutos a 6000rpm. Tomar el sobrenadante y leer en el espectro a 310nm. Registrar las absorbancias (Tiempo 12 horas). Agregar 500 µg de mifepristona en polvo, colocar de nuevo en el termo-agitador con las condiciones mencionadas anteriormente.
4. Al término del tiempo, retirar los matraces del termo-agitador y centrifugar las muestras, por 15 minutos a 6000rpm. Tomar el sobrenadante y leer en el espectro a 310nm. Registrar las absorbancias (Tiempo 24 horas). Agregar 500 µg de mifepristona en polvo, colocar de nuevo en el termo-agitador con las condiciones mencionadas anteriormente.
5. Realizar los mismos pasos obtener la lectura a las 36 horas.

Tabla 26. Cantidades de adición de mifepristona.

	<b>12h</b>	<b>24h</b>	<b>36h</b>
<b>pH</b>	<b>1° adición de mifepristona (µg)</b>	<b>2° adición de mifepristona (µg)</b>	<b>3° adición de mifepristona (µg)</b>
1.2	500	500	500
3.0	500	500	500
5.0	500	500	500

## RESULTADOS

### Curvas de calibración

#### Solución amortiguadora HCl 0.1N pH 1.2

Tabla 27. Curva de calibración en HCl 0.1N pH 1.2

[ ] $\mu\text{g/mL}$ pH 1.2	Absorbancias
5	0.1610
10	0.3653
20	0.7647
30	1.1463
40	1.5637

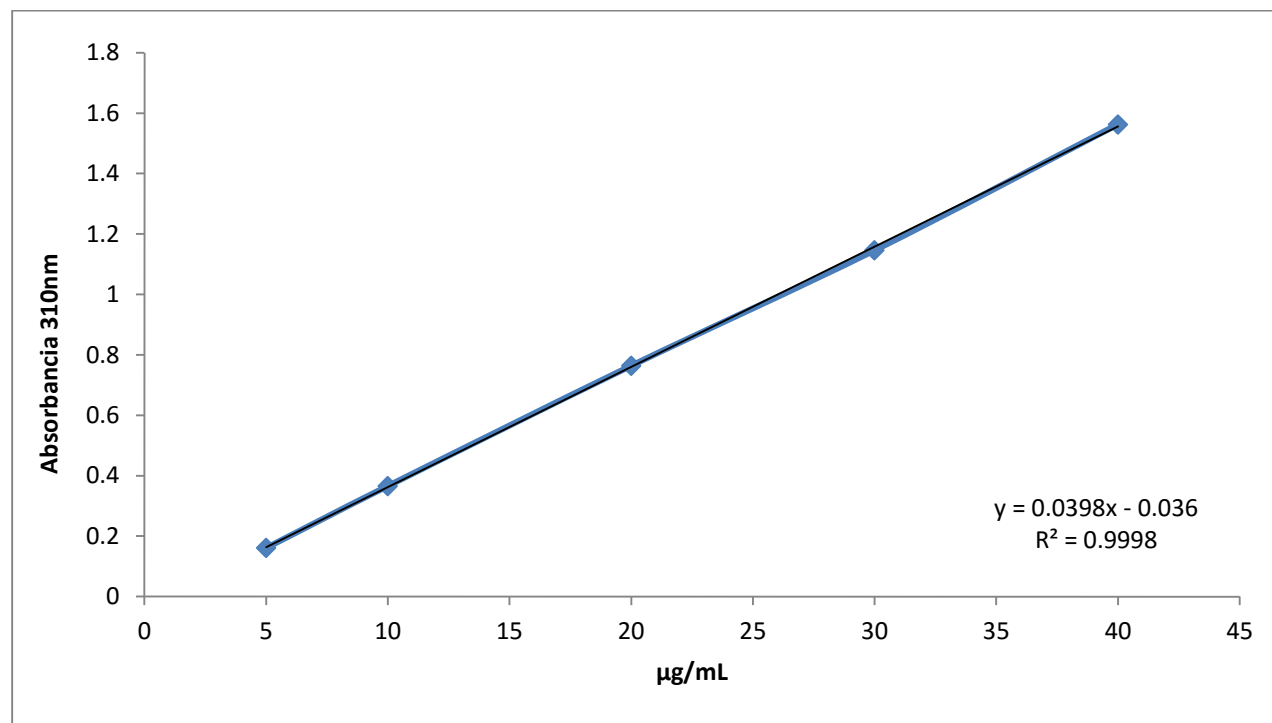


Figura 33. Curva de calibración en HCl 0.1N pH 1.2

## Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

Tabla 28. Curva de calibración en Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0

[ ] $\mu\text{g/mL}$ pH 3.0	Absorbancias
5	0.2237
10	0.436
20	0.8813
30	1.385
40	1.8177

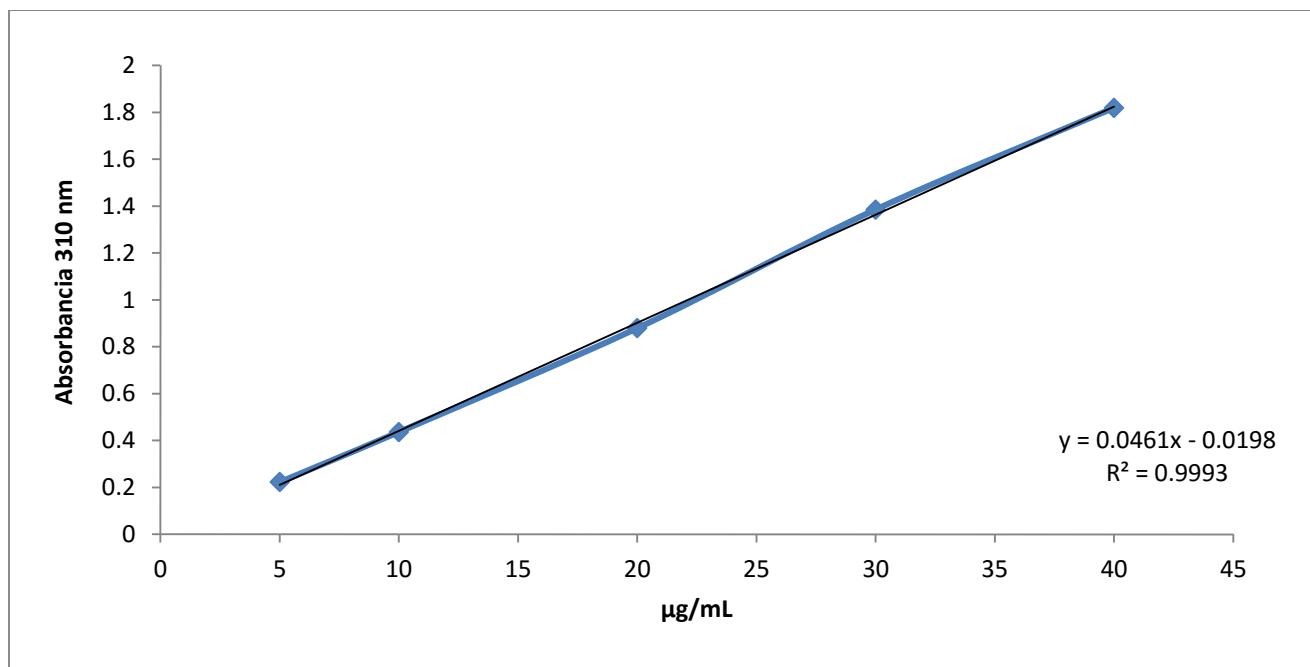


Figura 34. Curva de calibración en solución amortiguadora de fosfatos pH 3.0



## Solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Tabla 29. Curva de calibración en solución amortiguadora de fosfatos pH 5.0

[ ] $\mu\text{g/mL}$ pH 5.0	Absorbancias
5	0.2507
10	0.4867
20	0.922
30	1.3903
40	1.994

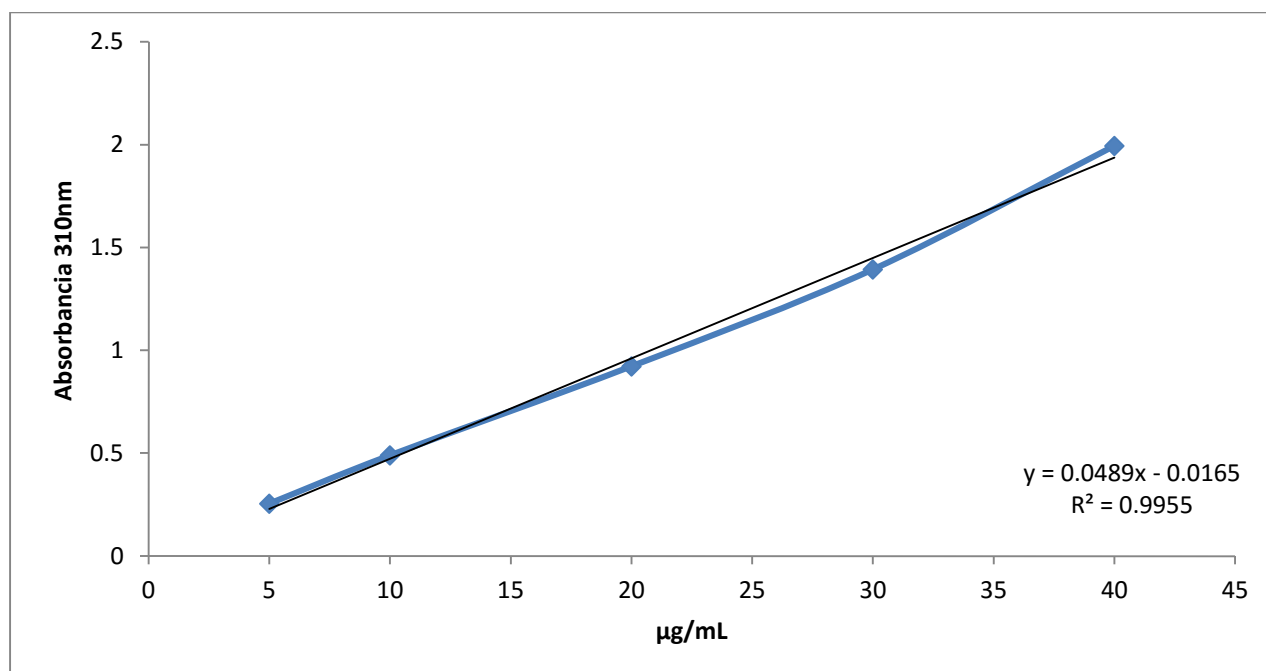


Figura 35. Curva de calibración en solución amortiguadora de fosfatos 0.01M pH 5.0

Tabla 30. Ecuaciones de las curvas de calibración

pH	Ecuación de la recta		
	Pendiente (m)	Ordenada (b)	Coefficiente de correlación
1.2	0.0398	-0.0364	0.9998
3.0	0.046	-0.0179	0.9993
5.0	0.0489	-0.0186	0.9955
6.8*	0.0507	-0.0233	0.9997

\*La validación a este pH de 6.8 se reporta en el trabajo de tesis de (en proceso)

Tabla 31. Absorbancias obtenidas en diferentes lapsos de tiempo

pH	Abs			
	0 h	12 h	24 h	36 h
1.2	1.032	1.03	4.13	4.219
3.0	0.979	0.966	3.907	4.027
5.0	0.929	0.127	0.173	0.182
*6.8	0.999	0.172	0.228	0.088

\*Este resultado es de una de tesis de Licenciatura en proceso de Zaragoza Lozada D.

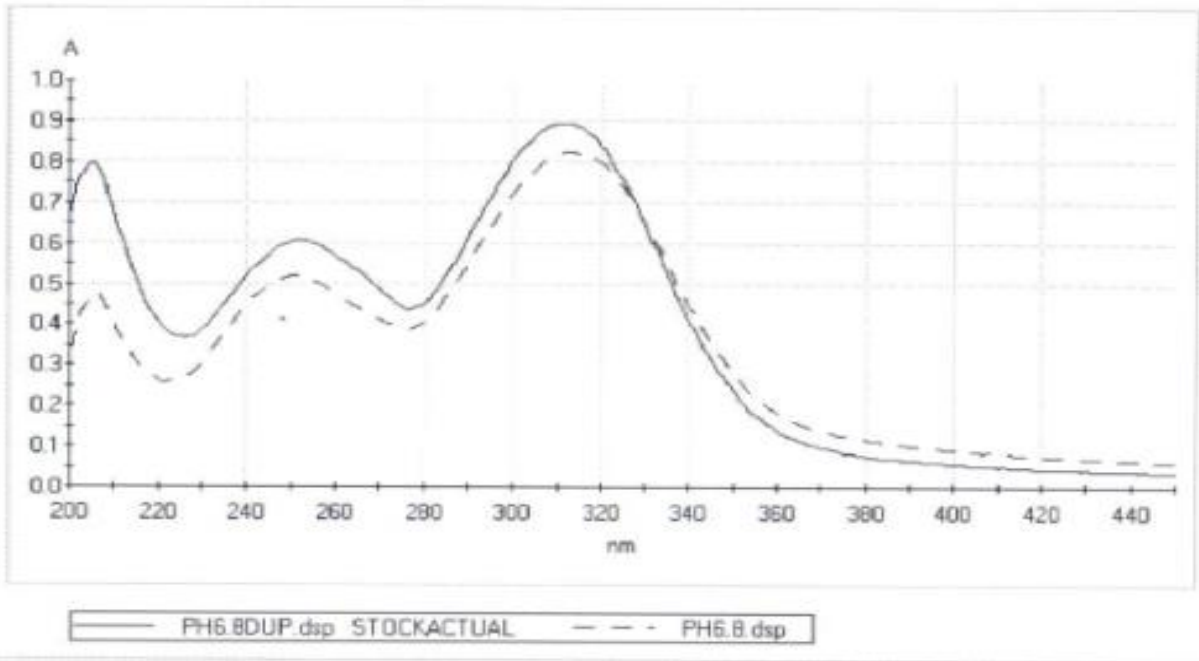


Figura 36. Espectro tiempo 0h pH 5.0

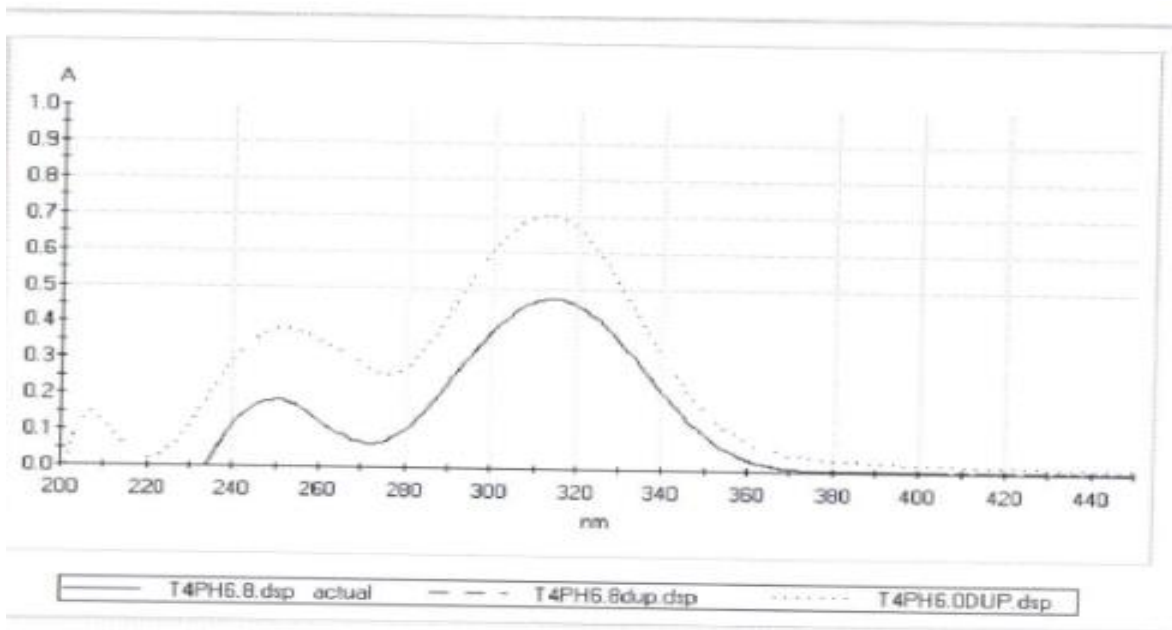


Figura 37. Espectro tiempo 4h pH 5.0

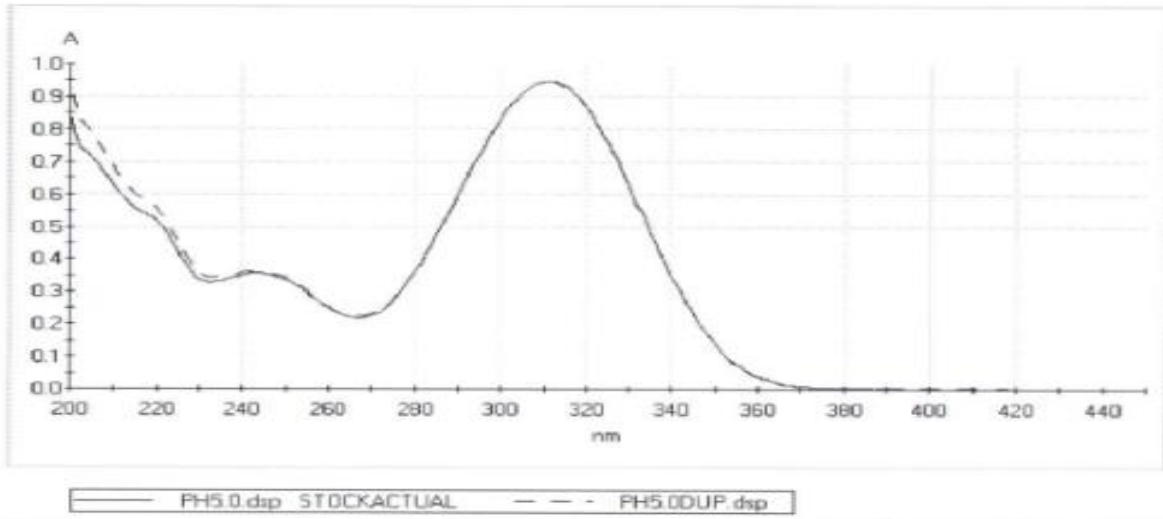


Figura 38. Espectro tiempo 0h pH 6.8

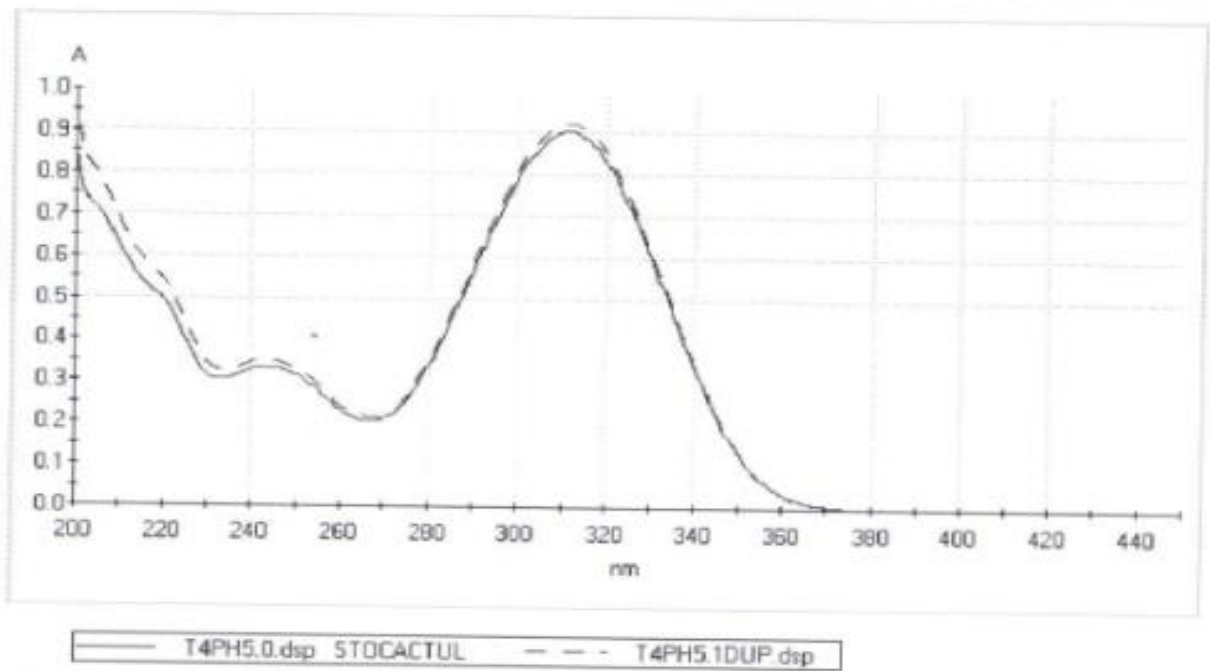


Figura 39. Espectro tiempo 4h pH 6.8

La cuantificación de la solubilidad se realizó utilizando la ecuación de la recta obtenida en las curvas de calibración, en cada uno de los pH's, al sustituir la absorbancia obtenida del perfil pH-solubilidad que se muestran en la tabla 32, en  $y$ .

Ejemplo de cálculo:

Utilizando la ecuación de la recta:

$$y = mx + b$$

Despejando "x" :

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Dónde:

x: Es la solubilidad

y: Absorbancia obtenida

b: ordenada

m: pendiente

Para pH 1.2 en Tiempo 0

$$x = \frac{1.032 - (-0.0364)}{0.0398} \qquad x = \frac{1.0684}{0.0398}$$

$$x = \frac{1.032 + 0.0364}{0.0398} \qquad x = 0.026 \text{ mg/mL}$$

Tabla 32. Solubilidades a diferentes pH

pH	Ecuación de la recta		0 h	12 h	24 h	36 h
	Pendiente (m)	Ordenada (b)	Solubilidad (mg/mL)	Solubilidad (mg/mL)	Solubilidad (mg/mL)	Solubilidad (mg/mL)
1.2	0.040	-0.036	0.026	0.027	0.105	0.106
3.0	0.0460	-0.018	0.021	0.021	0.085	0.088
5.0	0.0489	-0.019	0.019	0.029	0.004*	0.004*
6.8	0.050	-0.023	0.024	0.003*	0.005*	0.002*
Promedio			0.022 (n=4)	0.027 (n=3)	0.095 (n=2)	0.097 (n=2)

\* Se observó la presencia de un precipitado

Al obtener los logaritmos de la solubilidad (Tabla 32). Posteriormente en la tabla 33 se muestran los valores para cada pH, en los diferentes tiempos, la gráfica correspondiente es la figura 40.

Tabla 33. Log de solubilidades en diferentes pH

pH	0 h	12 h	24 h	36 h
	Log s	Log s	Log s	Log s
1.2	-1.585	-1.57	-0.97	-0.97
3.0	-1.67	-1.67	-1.07	-1.05
5.0	-1.72	-1.53*	-2.39*	-2.39*
6.8	-1.61	-2.52*	-2.3*	-2.69*

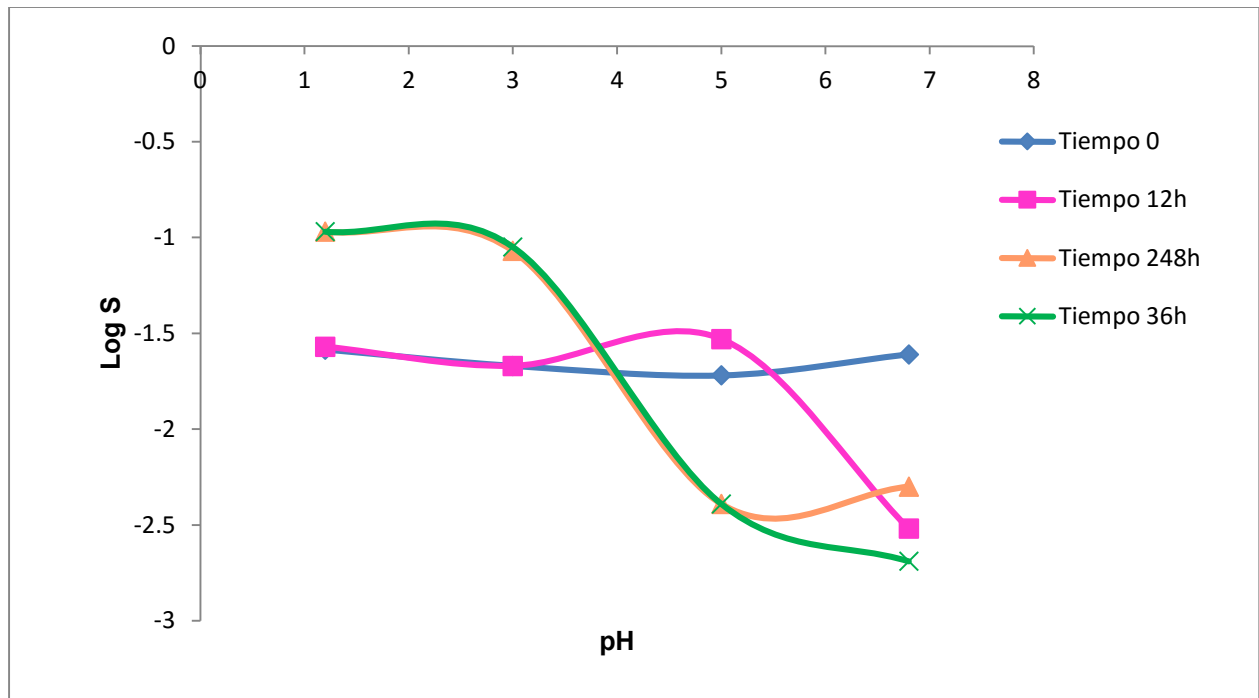


Figura 40. Gráfica de Log S contra pH

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la validación del método con el barrido que se realizó de 200-450nm (Tabla 4), se comprobó que la absorbancia máxima de la mifepristona se presenta en 310nm, la cual fue elegida para realizar la validación del método y el perfil de pH-solubilidad.

Algunos de los criterios evaluados en la validación del método, están basados en la Norma Oficial Mexicana NOM-177- SSA1- 1998, linealidad y precisión. Los cuales se emplearon en los pH's, 1.2, 2.0, 3.0, 3.5, 4.6, y 5.0.

Al realizar por duplicado cada una de las concentraciones de la curva para evaluar la linealidad, se obtuvo que el método es lineal. Ya que en todos los pH's 1.2, 2.0, 3.0, 3.5, 4.6 y 5.0 se obtuvieron %ERR menores al 3% y coeficientes de correlación  $\geq 0.99$ .

El método es preciso y reproducible, ya que entre los resultados de las pruebas el coeficiente de variación de todas las soluciones amortiguadoras es menor al 3%.

En cuanto a la repetibilidad del método, el coeficiente de variación es menor al 3% bajo las mismas condiciones de operación en un corto intervalo de tiempo empleando al mismo analista y el mismo equipo.

En la determinación de la estabilidad (Tabla 24) se muestra que la mifepristona es estable a 25°C hasta las doce horas, en los pH's de 1.2 y 3.0, se observa que tienen una similitud ya que no hay mucha variación en las absorbancias. En cuanto al pH de 5 y 6.8 se observa una variación en las absorbancias a partir de las 8 h ya que estas disminuyen considerablemente a pH de 6.8, obteniéndose un porcentaje aproximado de 50% (tabla 25).

En cuanto al perfil pH-Solubilidad a temperatura de 37°C se esperaba mejorar la solubilidad, sin embargo, en la figura 40 se observa que a tiempo cero, las absorbancias no cambian en las diferentes soluciones amortiguadoras, obteniéndose un valor promedio de 0.022, debido a que todas pertenecen a una misma concentración 20µg/mL y no han sido sometidas aún a las condiciones de shake-flask por lo que existe un equilibrio. A las 12 h se empieza a observar una disminución de los valores de absorbancia, a pH 5 y 6.8, lo que hace suponer una inestabilidad de la mifepristona y disminución de solubilidad. Al adicionarse mifepristona en polvo a las 24 h y 36 h en las mismas condiciones de temperatura y agitación, ya se presenta



un cambio significativo en todos los pH, la absorbancia aumenta hasta 4 veces más en los pH's 1.2 y 3, lo cual indica que se llegó a la saturación, pero a pH 5 y 6.8 se disminuye más el valor de absorbancia. También se observó algo de precipitado en esos pH's, el cual persiste hasta el final, con una disminución de solubilidad de mifepristona, que confirmamos con los espectros realizados en esos tiempos los cuales son iguales al espectro inicial de mifepristona (Figuras 36,37,38 y 39).

En base a los resultados obtenidos donde se muestra que después de 8 h a 25°C se obtiene una drástica disminución de la solubilidad, indicando inestabilidad, se propone realizar un nuevo estudio de solubilidad de mifepristona estableciendo un límite de 8h a una temperatura de 25°C.

## CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos de estabilidad de mifepristona se concluye que el perfil de pH-solubilidad se debe realizar a 25°C en un tiempo total de 8 h. El perfil pH-solubilidad obtenido a 37°C nos indica que presenta inestabilidad a las 12 h a pH 6.8, obteniéndose un promedio de solubilidad de 0.0256 mg/mL a pH de 1.2, 3 y 5 en ese mismo tiempo.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Brunton, Laurence, et al. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª Edición. McGraw Hill, Interamericana Editores. 2007. México. Pp. 1562-1563.
- 2) N.N. Sarkar. *Mifepristone: bioavailability, pharmacokinetics and use-effectiveness*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, Volume 101, Issue 2, 10 March 2002, Pp. 113–120.
- 3) Regine Sitruk-Ware, Irving M Spitz. *Pharmacological properties of mifepristone: toxicology and safety in animal and human studies*, *Contraception*. Volume 68, Issue 6, December 2003, Pp. 409–420.
- 4) Oskari Heikinheimo, Raimo Kekkonen, Pekka Lähteenmäki. *The pharmacokinetics of mifepristone in humans reveal insights into differential mechanisms of antiprogesterin action*. Volume 68, Issue 6, December 2003, Pp. 421–426.
- 5) N.N. Sarkar. *Mifepristone: bioavailability, pharmacokinetics and use-effectiveness*. Department of Reproductive Biology, All India Institute of Medical Sciences, Ansarinagar, New Delhi 110029, India.
- 6) CIME Centro de Información de Medicamentos. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. *Mifepristona: la píldora ru-486*. <http://cime.fcq.unc.edu.ar/mifepristona.htm> Consultada el día 24 de Septiembre 2015.

- 7) Ibis Reproductive Health. Aborto con medicamentos.  
<http://medicationabortion.com/Spanish/mifepristone/index.html> Consultada el día 24 de Septiembre 2015.
- 8) Labastidas, Iwany. Martinez, Fleming. *Aspectos termodinámicos de la solubilidad acuosa de algunas sales orgánicas de interés farmacéutico*. Área de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, A. A. 14490, Bogotá D.C., Colombia. Pp. 55-57.  
[http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/1/LAJOP\\_25\\_1\\_1\\_9\\_7XS70W54MR.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/1/LAJOP_25_1_1_9_7XS70W54MR.pdf)  
Consultada el día 12 de Septiembre 2015.
- 9) Pobudkowska A., Domańska U. *Study of ph-dependent drugs solubility in water*. Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry. Warsaw University of Technology, Warsaw, Poland. Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly 2014. Pp. 115–126.
- 10) Aulton, Michael. E. *La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. 2ª Edición. Elsevier. España. 2004. Pp 23-32, 236.
- 11) Yalkowsky, S, H. Sinkula, A. A, Valvani, S.C. *Physical Chemical properties of drugs*. Marcel Dekker, INC. New York. 1998. Pp 202-207.
- 12) Gennaro, Alfonso. *Remington Farmacia*. 20ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 2003. Volumen I. Pp 764-778.

- 13) Herrera Ruíz, Dea. *¿Qué sabe usted acerca de... el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico?* Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 36, núm. 4, octubre-diciembre. 2005. Pp. 56-58. Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C. México.
- 14) FDA. Guidance for Industry. *“Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System”*. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), USA (2000). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070246.pdf> Consultada el día 14 de Septiembre 2015.
- 15) Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology [www.fda.gov/downloads/drugs/.../ucm073384.pdf](http://www.fda.gov/downloads/drugs/.../ucm073384.pdf) Consultada el día 14 de Septiembre 2015.