



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN ORAL PEDIÁTRICA CON  
ACTIVIDAD DIURÉTICA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**PENÉLOPE GABRIELA AGUILAR REYES**



**CIUDAD DE MÉXICO. 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: ARTURO RODRÍGUEZ PEÑALOZA**

**VOCAL:**                       **Profesor: LILIANA AGUILAR CONTRERAS**

**SECRETARIO:**               **Profesor: ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA**

**1er. SUPLENTE:** **Profesor: NORMA ANGÉLICA VILLANUEVA MARTÍNEZ**

**2° SUPLENTE:**               **Profesor: LUZ ANTONIA BORJA CALDERÓN**

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA, TORRE DE INVESTIGACIÓN “DR. JOAQUÍN CRAVIOTO”. INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA.**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**M. EN F. ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

**Q.F.B. BEATRÍZ DÍAZ GONZÁLEZ**

**SUSTENTANTE:**

---

**PENÉLOPE GABRIELA AGUILAR REYES**

# ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	3
<i>OBJETIVO GENERAL</i> .....	3
<i>OBJETIVOS PARTICULARES</i> .....	3
ALCANCE.....	4
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
1.1 FARMACOTERAPIA EN PEDIATRÍA.....	5
1.1.1 FARMACOCINÉTICA .....	5
1.1.2 FARMACODINAMIA .....	6
1.1.3 FALTA DE MEDICAMENTOS ESPECÍFICOS .....	6
1.1.4 EPIDEMIOLOGÍA INFANTIL.....	6
1.2 DIURÉTICOS.....	8
1.2.1 USO EN PEDIATRÍA.....	9
1.2.2 CLASIFICACIÓN.....	9
1.2.2.1 DIURÉTICOS DE ASA.....	10
1.2.2.2 AHORRADORES DE POTASIO .....	10
1.2.2.3 TIAZIDAS .....	10
1.3 HIDROCLOROTIAZIDA.....	10
1.3.1. MECANISMO DE ACCIÓN .....	11
1.3.2 CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS.....	12
1.3.3 EFECTOS ADVERSOS.....	12
1.3.4 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS Y DE OTRO GÉNERO.....	12
1.3.5 POSOLOGÍA .....	13
1.3.6 PRESENTACIONES DISPONIBLES .....	13
1.4 FORMAS FARMACÉUTICAS.....	13
1.4.1 FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES SÓLIDAS .....	14
1.4.2 FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES LÍQUIDAS.....	14
1.4.2.1 SOLUCIONES.....	14
1.4.2.1.1 EXCIPIENTES EMPLEADOS EN SOLUCIONES.....	15
1.4.2.1.1.1 STEVIA.....	16
1.4.2.1.1.2 CICLODEXTRINAS .....	17
1.4.2.1.2 EXCIPIENTES NO APROBADOS PARA SU USO EN PEDIATRÍA .....	19
1.5 DESARROLLO FARMACÉUTICO .....	21
1.6 DISEÑO DE EXPERIMENTOS.....	22
1.6.1 SIMPLEX LATTICE .....	22
1.7 ESTABILIDAD DE LA FORMULACIÓN.....	23
1.7.1 CICLADO TÉRMICO .....	24
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGÍA .....</b>	<b>25</b>
2.1 JUSTIFICACIÓN DEL DESARROLLO DE UNA SOLUCIÓN ORAL PEDIÁTRICA CON ACTIVIDAD DIURÉTICA	25
2.2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.3 ESTUDIOS DE PRE-FORMULACIÓN .....	26

2.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	26
2.3.1.1 DESCRIPCIÓN .....	26
2.3.1.2 SOLUBILIDAD .....	27
2.3.1.4 TAMAÑO DE PARTÍCULA .....	28
2.3.2 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	29
2.3.2.1 BARRIDO ESPECTROSCÓPICO DE ABSORCIÓN UV .....	29
2.3.2.2 PUNTO DE FUSIÓN .....	30
2.3.2.3 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA .....	31
2.3.3 ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	33
2.3.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES .....	34
<b>2.4 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN.....</b>	<b>35</b>
2.4.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	35
2.4.1.1 ELECCIÓN DE CICLODEXTRINA .....	35
2.4.1.2 COMPATIBILIDAD DE CICLODEXTRINAS CON EXCIPIENTES .....	35
2.4.1.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	37
2.4.1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN .....	38
2.4.1.5 EVALUACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	39
2.4.1.5.1 ESPECTROSCOPÍA UV .....	39
2.4.1.5.2 ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO .....	40
2.4.1.5.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO .....	41
2.4.1.5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS .....	42
2.4.1.5.5 SOLUBILIDAD DE HIGUCHI .....	43
2.4.1.6 EVALUACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN FINAL.....	43
2.4.1.7 COMPATIBILIDAD DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON EXCIPIENTES .....	43
2.4.2 MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN .....	44
2.4.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....	44
2.4.4 PRUEBAS DE PALATABILIDAD .....	46
<b>2.5 CICLADO TÉRMICO .....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....</b>	<b>48</b>
<b>3.1 JUSTIFICACIÓN DEL DESARROLLO DE UNA SOLUCIÓN ORAL PEDIÁTRICA CON ACTIVIDAD DIURÉTICA</b> .....	<b>48</b>
<b>3.2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>50</b>
<b>3.3 ESTUDIOS DE PRE-FORMULACIÓN .....</b>	<b>51</b>
3.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	51
3.3.1.1 DESCRIPCIÓN .....	51
3.3.1.2 SOLUBILIDAD .....	51
3.3.1.4 TAMAÑO DE PARTÍCULA .....	53
3.3.2 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	54
3.3.2.1 BARRIDO ESPECTROSCÓPICO DE ABSORCIÓN UV .....	54
3.3.2.2 PUNTO DE FUSIÓN .....	55
3.3.2.3 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA .....	56
3.3.3 ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO .....	57
3.3.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES .....	59
<b>3.4 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....</b>	<b>60</b>
3.4.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	60
3.4.1.1 ELECCIÓN DE CICLODEXTRINA .....	61
3.4.1.2 COMPATIBILIDAD DE CICLODEXTRINAS CON EXCIPIENTES .....	61
3.4.1.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	62
3.4.1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN .....	63
3.4.1.5 EVALUACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN .....	64
3.4.1.5.1 ESPECTROSCOPÍA UV .....	64
3.4.1.5.2 ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO .....	65

3.4.1.5.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO .....	70
3.4.1.5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS .....	71
3.4.1.5.5 SOLUBILIDAD DE HIGUCHI .....	72
3.4.1.6 EVALUACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN FINAL.....	73
3.4.1.7 COMPATIBILIDAD DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON EXCIPIENTES .....	76
3.4.2 MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN.....	77
3.4.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....	77
3.4.4 PRUEBAS DE PALATABILIDAD .....	84
<i>3.5 CICLADO TÉRMICO .....</i>	<i>86</i>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>94</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>95</b>

# ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

## TABLAS

Tabla 1. Factores fisiológicos en pacientes pediátricos .....	5
Tabla 2. Distribución porcentual de las causas de defunción en la población de 1-4 años y de 5-14 años por sexo. [2015]. .....	7
Tabla 3. Principales causas de consulta de primera vez especialidades. ....	7
Tabla 4. Causas de mortalidad hospitalaria .....	8
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de la HCTZ.....	11
Tabla 6. Clasificación y propiedades de las ciclodextrinas.....	19
Tabla 7. Especificaciones para la prueba de descripción.....	26
Tabla 8. Especificaciones en la prueba de solubilidad.....	27
Tabla 9. Disolventes empleados en la prueba.....	27
Tabla 10. Parámetros de solubilidad.....	27
Tabla 11. Pesos de los tamices antes de la prueba.....	28
Tabla 12. Parámetros de clasificación del tamaño de partícula de sólidos.. ..	29
Tabla 13. Picos de absorción de onda máxima para la hidroclorotiazida. ....	30
Tabla 14. Puntos de fusión de la hidroclorotiazida en la literatura. ....	31
Tabla 15. Medios sugeridos para la prueba de CCF. ....	32
Tabla 16. Medios utilizados en la prueba de degradación .....	33
Tabla 17. Excipientes probados para conformar la fórmula final.....	34
Tabla 18. Mezclas aleatorizadas de la ciclodextrina con los excipientes de la formulación.....	36
Tabla 19. Condiciones de proceso de formación de complejos. ....	39
Tabla 20. Componentes del D.E. ....	45
Tabla 21. Diseño de experimentos.....	45
Tabla 22. Grupos terapéuticos más dosificados correspondientes al 80% acumulado.....	48
Tabla 23. Frecuencia de dosificación de los diuréticos. ....	49
Tabla 24. Resultados de la prueba de descripción del principio activo. ....	51
Tabla 25. Resultados de las pruebas de solubilidad. ....	51

Tabla 26. Excipientes propuestos como solubilizantes. ....	52
Tabla 27. Resultados promedio de la determinación de tamaño de partícula. ....	54
Tabla 28. Picos de absorción máxima obtenidos en el barrido espectroscópico de HCTZ.....	55
Tabla 29. Medios de elución propuestos para la prueba de CCF.....	56
Tabla 30. Resultados experimentales CCF.....	56
Tabla 31. Resultados de las pruebas de degradación del principio activo. ....	58
Tabla 32. Resultados de las pruebas de compatibilidad con excipientes.....	59
Tabla 33. Apariencia de las mezclas de ciclodextrinas con excipientes.....	61
Tabla 34. Comparativa entre los métodos de preparación de complejos de inclusión .....	63
Tabla 35. Rendimiento obtenido de los CI prueba. ....	63
Tabla 36. Resultados de concentración de las muestras de CI.....	65
Tabla 37. Resultados prueba de Higuchi. ....	72
Tabla 38. Resultados de concentración del CI Final. ....	73
Tabla 39. Compatibilidad de CI y excipientes.....	76
Tabla 40. Resultados de la solución preparada. ....	77
Tabla 41. Resultados de los diseños de experimentos. ....	78
Tabla 42. Efectos estimados de Apariencia .....	80
Tabla 43. Resultados del Modelo .....	80
Tabla 44. ANOVA Apariencia.....	80
Tabla 45. Efectos estimados de Sabor.....	82
Tabla 46. Resultados del Modelo .....	82
Tabla 47. ANOVA Sabor .....	82
Tabla 48. Saborizantes propuestos para la formulación. ....	84
Tabla 49. Pruebas de palatabilidad. ....	84
Tabla 50. Pruebas de palatabilidad 2. ....	84
Tabla 51. Pruebas de palatabilidad 3. ....	85
Tabla 52. Pruebas de palatabilidad 4. ....	85

Tabla 53. Propuesta de fórmula final.....	86
Tabla 54. Ciclado térmico. Prueba 1. ....	87
Tabla 55. Fórmula final.....	88
Tabla 56. Ciclado térmico. Prueba 2. ....	88
Tabla 57. Estadísticas de muestras emparejadas.....	90
Tabla 58. Correlaciones de muestras emparejadas.....	90
Tabla 59. Prueba de muestras emparejadas.....	90
Tabla 60. Rf prueba de excipientes.....	91
Tabla 61. Estudios de estabilidad NOM 073.....	93

## **FIGURAS**

Fig 1. Etapas del desarrollo de un medicamento. ....	4
Fig 2. Sitios de acción de los tipos de diuréticos en la nefrona. ....	9
Fig 3. Molécula de HCTZ.....	11
Fig 4. Mecanismo de acción de HCTZ a nivel de túbulo contorneado distal de la nefrona. ....	11
Fig 5. Farmacocinética de los glucósidos de esteviol en el organismo. ....	17
Fig 6. Estructura molecular y espacial de la $\beta$ -Ciclodextrina. ....	18
Fig 7. Espectro de absorción de la hidroclorotiazida en solución en metanol (10 $\mu\text{g/mL}$ ).....	30
Fig 8. Esquema de una cromatografía de capa fina.....	32
Fig 9. Métodos de preparación de los complejos de inclusión.. ....	38
Fig 10. Equipo utilizado en la prueba de Espectroscopía de Infrarrojo. ....	40
Fig 11. Equipo utilizado para la prueba DSC.....	41
Fig 12. Equipo utilizado en la prueba de difracción de rayos X de polvos.....	42
Fig 13. Método final de preparación de la formulación.....	44
Fig 14. Uso del picnómetro.....	47
Fig 15. Espectro de absorción para la muestra de hidroclorotiazida (Corrida 3) ...	55
Fig 16. Tipo de aparato de punto de fusión utilizado.....	66

Fig 17. Capilares utilizados en la prueba de punto de fusión. ....	56
Fig 18. Cromatoplaqueta revelada en luz UV. ....	56
Fig 19. CCF degradación del principio activo. Día 0. ....	57
Fig 20. CCF degradación del principio activo. Día 7 ....	57
Fig 21. CCF de prueba de compatibilidad con excipientes. Día 0 ....	59
Fig 22. CCF de prueba de compatibilidad con excipientes. Día 7. ....	59
Fig 23. Complejos de inclusión en solución ....	60
Fig 24. Espectro IR Hidroclorotiazida. ....	66
Fig 25. Espectro IR HP- $\beta$ -Ciclodextrina. ....	66
Fig 26. Espectro IR Mezcla Física. ....	67
Fig 27. Espectro IR CI Metanol-Agua. ....	68
Fig 28. Espectro IR del CI Etanol-Agua. ....	69
Fig 29. Espectro IR del CI Agua. ....	69
Fig 30. Espectro IR CI Final. ....	74
Fig 31. CCF Diseño de experimentos inicial. ....	79
Fig 32. CCF Diseño de experimentos final. ....	79
Fig 33. Superficies de respuesta Apariencia. ....	81
Fig 34. Contornos de superficie de respuesta para Sabor. ....	83
Fig 35. Llenado de los envases primarios. ....	86
Fig 36. CCF Ciclado térmico. Prueba 1. ....	87
Fig 37. CCF Ciclado térmico. Prueba 2. ....	89
Fig 38. CCF Excipientes. ....	91

## **ECUACIONES**

Ecuación 1. Obtención de la cantidad retenida de muestra. ....	28
Ecuación 2. Obtención del porcentaje retenido de muestra en cada tamiz. ....	29
Ecuación 3. Obtención del porcentaje de muestra acumulado. ....	29
Ecuación 4. Obtención del porcentaje de muestra no retenida. ....	29

Ecuación 5. Cálculo del Rf para un compuesto determinado.....	33
Ecuación 6. Cálculo de CD y HCTZ .....	38
Ecuación 7. Masa de la muestra. ....	47
Ecuación 8. Fórmula de la densidad ( $\rho$ ).....	47
Ecuación 9. Ecuación de la recta y su despeje .....	65

## **GRÁFICOS**

Gráfico 1. Grupos terapéuticos más dispensados en el periodo 2002-2017.....	48
Gráfico 2. Total de dosis dispensadas de hidroclorotiazida en el periodo 2002-2017. ....	50
Gráfico 3. Distribución del tamaño de partícula.....	53
Gráfico 4. % Acumulado de la muestra. ....	53
Gráfico 5. Curvas patrón de hidroclorotiazida .....	64
Gráfico 6. Curvas de DSC .....	70
Gráfico 7. Difractogramas de XRD de HCTZ, HP- $\beta$ -CD y CI.....	71
Gráfico 8. Solubilidad de Higuchi. ....	73
Gráfico 9. Curvas DSC CI Final.....	75
Gráfico 10. Difractograma CI Final. ....	75

## INTRODUCCIÓN

La población pediátrica representa un gran reto para la industria farmacéutica debido a que posee características muy diferentes a las de la población adulta y además su medicación depende de factores como la edad, peso, patologías específicas, etc. Debido a esto, muy pocos fármacos se encuentran en presentaciones dirigidas específicamente a esta población, por lo que, para su tratamiento, se emplean fármacos en presentación para adultos e incluso fármacos no aprobados para su uso en niños.<sup>1</sup>

En instituciones públicas y privadas, el servicio de Farmacia Hospitalaria apoya y promueve el Uso Racional de Medicamentos (URM), llevando a cabo su dispensación y distribución en dichas instituciones. Además de otras actividades, se realiza el fraccionamiento de medicamentos existentes en el mercado para ser administrados al paciente pediátrico en la dosis que lo requiere, sin embargo, con esta práctica se corre el riesgo de presentar un error en la dosificación o acondicionamiento los cuales son considerados como errores de medicación.<sup>2</sup>

Un error de medicación se define como cualquier incidente prevenible que puede causar daño al paciente o dar lugar a una utilización inapropiada de los medicamentos, cuando están bajo el control de los profesionales sanitarios, paciente o consumidor (The National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention)<sup>3</sup>. Éstos son un problema frecuente en pacientes pediátricos debido a que la respuesta farmacológica en niños es muy variable, además de la carencia de un método universal para el cálculo de las dosis pediátricas por la falta de ensayos clínicos especiales. La probabilidad de fallo en la terapia aumenta con el uso de medicamentos no específicos.<sup>1</sup>

Con lo anterior, se justifica la necesidad del Desarrollo Farmacéutico; que se entiende como el conjunto de actividades que se realizan dentro del conocimiento de la ciencia, la tecnología, el arte y la ética farmacéutica, destinado a obtener el máximo aprovechamiento de un medicamento (Román, FD)<sup>4</sup>. Así pues, se emplean tecnologías, excipientes, sistemas de liberación o formas farmacéuticas novedosas para mejorar, ampliar y facilitar la farmacoterapia, haciendo posible la

creación, desarrollo y posterior comercialización de nuevas formulaciones que cumplan con las características deseadas de eficacia, seguridad y calidad.

Según el INEGI, en el 2016 se registraron en México 685,766 defunciones de las cuales, 24,730 fueron en la edad infantil. La tasa de mortalidad infantil en México es de 11.9 en varones y 13.3 en mujeres. Las causas más comunes incluyen: accidentes, malformaciones congénitas y tumores malignos.<sup>5</sup> Una mayor diversidad y disponibilidad en medicamentos especiales para pacientes pediátricos podría mejorar su pronóstico, debido a que muchas veces se ven perjudicados por la escasez de medicamentos pediátricos para este tipo de enfermedades.

Los diuréticos son fármacos que estimulan la eliminación renal de agua y electrolitos mediante diversos mecanismos de acción en diferentes sitios de la nefrona, la unidad funcional del riñón. Son un grupo terapéutico muy versátil, ya que se utilizan en muchos tipos de patologías y su uso en pediatría ha sido bien estudiado. Muchos diuréticos son medicamentos de primera elección en patologías como edemas, cardiopatías congénitas, hipertensión, etc., siendo un gran área de interés para el desarrollo de un nuevo medicamento.<sup>6</sup>

Durante el desarrollo de un nuevo medicamento, la selección de la forma farmacéutica es primordial. Las formas farmacéuticas sólidas son las más comunes en presentaciones para adultos, sin embargo, no son óptimas para los pacientes pediátricos, ya que pueden presentar dificultad en la deglución o una mala palatabilidad del medicamento que puede ser causa de rechazo. Por otro lado, las vías parenterales al ser invasivas, son incómodas y dolorosas para el paciente. Por estas razones, el empleo de formas farmacéuticas líquidas para la población pediátrica es la mejor elección.

Debido a que el grupo terapéutico de los diuréticos es muy extenso, se requiere de una evaluación exhaustiva para determinar la demanda de consumo de éstos, con lo cual será posible asegurar que al desarrollar una nueva forma farmacéutica se podrán cubrir de la mejor manera las necesidades de la población.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar una formulación oral pediátrica que tenga actividad diurética empleando el desarrollo farmacéutico con la finalidad de cubrir las necesidades de la población pediátrica por la falta de una forma farmacéutica de este tipo.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar las necesidades de tratamiento de la población pediátrica de un hospital de tercer nivel de atención mediante el análisis de las bases de datos de utilización de medicamentos, para determinar la demanda de consumo de los fármacos.
- Conocer las características y propiedades esenciales del fármaco elegido mediante los estudios de pre-formulación para establecer de manera adecuada el proceso de formulación.
- Desarrollar una formulación oral pediátrica al emplear como herramienta el diseño de experimentos para que ésta cumpla con las características de calidad como producto terminado.

## ALCANCE

En el presente trabajo, se llevará a cabo el desarrollo de una formulación pediátrica oral líquida mediante el desarrollo farmacéutico y la aplicación de diseño de experimentos, con la finalidad de obtener un producto de calidad con características propicias para ser administrado a la población infantil de manera segura y eficaz.

Tomando en cuenta las etapas del desarrollo de un medicamento; el alcance del proyecto se delimitará solamente a la fase de Descubrimiento como proyecto de investigación; el cual abarca las sub etapas de pre-formulación y formulación. La metodología experimental será llevada a cabo únicamente mediante trabajo de laboratorio.

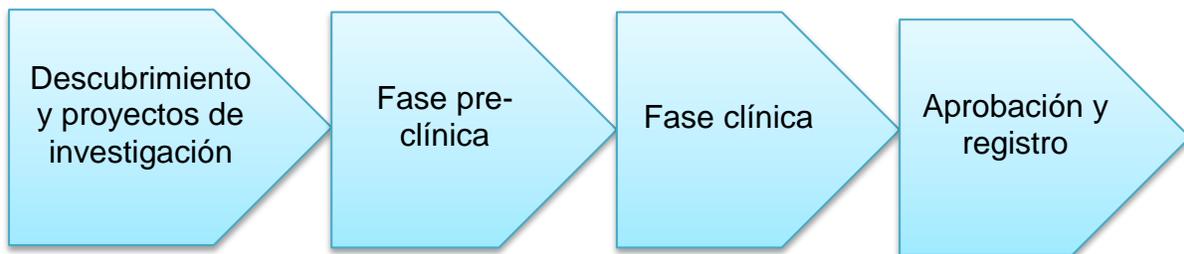


Fig 1. Etapas del desarrollo de un medicamento.

# CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

## 1.1 FARMACOTERAPIA EN PEDIATRÍA

Los pacientes pediátricos, a diferencia de los adultos, presentan una serie de características fisiológicas que se deben considerar en la terapia farmacológica. La edad adulta condiciona la respuesta farmacológica, por lo tanto, es de esperarse que ésta no esté bien definida en la edad infantil, aunado a que la población pediátrica no es homogénea. Según la NOM-008-SSA2-1993 “Control de la nutrición, crecimiento y desarrollo del niño y del adolescente. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio.” se clasifican de la siguiente forma: recién nacido (menor de 28 días), lactante menor o infante (menor de un año), lactante mayor (de un año a un año 11 meses), preescolar (dos a cuatro años), escolar (de cinco a nueve años) y adolescente (de diez a diecinueve años).<sup>1,7</sup>

Los procesos de farmacocinética y farmacodinamia son esenciales para determinar la eficacia del tratamiento farmacológico y explicar los efectos adversos del fármaco, que son de gran relevancia principalmente en pacientes pediátricos.

### 1.1.1 FARMACOCINÉTICA

La farmacocinética explica los cambios que sufre el fármaco dentro del organismo, dividida en sub-procesos como son: absorción, distribución, biotransformación y eliminación. En niños, muchos de los factores fisiológicos que determinan la farmacocinética de un fármaco; están alterados respecto a los valores normales de un paciente adulto como se muestra en la Tabla 1.<sup>1</sup>

Tabla 1. Factores fisiológicos en pacientes pediátricos

<b>Factor fisiológico</b>	<b>Niños</b>
pH gástrico	6-8 (1-2 en adultos)
Vaciado gástrico	↓
Movilidad intestinal	↓
Velocidad de absorción	↓
Contenido de agua corporal	75% (60% en adultos)
Proteínas plasmáticas	↓
Permeabilidad de membranas celulares	↑
Desarrollo hepático	↓
Desarrollo renal	↓
pH urinario	↓

### **1.1.2 FARMACODINAMIA**

La farmacodinamia es el estudio de la interacción del fármaco con sus sitios de acción o receptores en el organismo para causar el efecto terapéutico deseado. Se sabe que debido a la inmadurez y constante desarrollo de los órganos y sistemas del cuerpo humano durante la etapa infantil, los receptores o sitios de acción pueden verse alterados, por lo que es difícil prever la respuesta farmacológica en cada etapa del crecimiento; por una parte influye la escasez de estudios clínicos en pacientes pediátricos y por otro lado, el proceso farmacodinámico puede verse afectado por factores intrínsecos del paciente.<sup>1</sup>

### **1.1.3 FALTA DE MEDICAMENTOS ESPECÍFICOS**

A pesar del interés creciente de las industrias farmacéuticas en desarrollar más medicamentos en presentaciones infantiles, la cantidad de fármacos que se encuentran en presentación infantil sigue siendo limitada. Así mismo, se ha encontrado que las formas farmacéuticas líquidas infantiles tienen un costo entre dos y tres veces mayor que un comprimido en presentación para adulto.<sup>8</sup>

Muy comúnmente, se siguen utilizando los medicamentos existentes en presentación para adultos. Si bien la dosificación realizada por los servicios de Farmacia Hospitalaria de las instituciones de salud está regulada y se lleva a cabo de manera sistemática y cuidadosa, puede desencadenar errores de medicación. Algunos pacientes recurren a la trituración de tabletas, la disolución o suspensión de las formas farmacéuticas sólidas en agua y su mezcla con alimentos, etc.; sin embargo, éstas son prácticas riesgosas para el paciente, sobre todo cuando no existe la supervisión de un profesional de la salud.<sup>8</sup>

En el 2007, la OMS estableció que dos terceras partes de las defunciones infantiles en 2007 serían causadas por enfermedades que podrían ser tratables si se contara con medicamentos pediátricos esenciales seguros.<sup>8</sup>

### **1.1.4 EPIDEMIOLOGÍA INFANTIL**

La ONU, en cooperación con la OMS y la UNICEF, estableció que en 2012 aproximadamente 6,6 millones de niños en el mundo, murieron antes de cumplir los cinco años. Que a pesar de ser un número alto, ha ido en los últimos años.<sup>9</sup>

En México, la mortalidad infantil también se redujo en las últimas décadas. El INEGI proporciona una lista con las principales causas de muerte en niños entre 1 y 14 años, en el 2015 (Tabla 2) donde se observa que las anomalías congénitas son una de las principales causas, además de que los niños que sobreviven tienen una gran probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas.<sup>10</sup>

Tabla 2. Distribución porcentual de las causas de defunción en la población de 1-4 años y de 5-14 años por sexo. [2015].

Principales causas de muerte en hombres		Principales causas de muerte en mujeres	
<b>Preescolar (1-4 años)</b>	<b>100.0</b>	<b>Preescolar (1-4 años)</b>	<b>100.0</b>
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	16.1	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	17.5
Accidentes de transporte.	7.5	Neumonía.	7.8
Neumonía.	6.8	Accidentes de transporte.	7.7
Ahogamiento y sumersión accidentales.	5.6	Diarrea y gastroenteritis de presunto origen infeccioso.	5.4
Diarrea y gastroenteritis de presunto origen infeccioso.	5.1	Leucemia.	4.1
Las demás causas.	58.9	Las demás causas.	57.5
<b>Escolar (5-14 años)</b>	<b>100.0</b>	<b>Escolar (5-14 años)</b>	<b>100.0</b>
Accidentes de transporte.	12.0	Leucemia.	10.6
Leucemia.	9.2	Accidentes de transporte.	9.0
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	6.0	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	8.2
Ahogamiento y sumersión accidentales.	5.7	Lesiones autoinfligidas intencionalmente.	3.9
Agresiones.	4.4	Agresiones.	3.0
Las demás causas.	62.7	Las demás causas.	65.3

Fuente: INEGI. "Estadísticas a propósito de día de muertos". Oct 30, 2017.

Hablando específicamente en el Instituto Nacional de Pediatría (INP); en las causas de consulta de primera vez por especialidad (Tabla 3) se observa un patrón similar al de la tabla anterior. Las malformaciones congénitas se encuentran como la primera causa de consulta tanto en el año 2016 como 2017.

Tabla 3. Principales causas de consulta de primera vez especialidades.

No.	2016			2017		
	Causas	Casos	Tasa	Causas	Casos	Tasa
1	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	2,631	17.3	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	2,323	16.2
2	Factores que influyen en el estado de salud y contacto con los servicios médicos.	1,606	10.6	Factores que influyen en el estado de salud y contacto con los servicios médicos.	1,681	11.8

No.	Causas	Casos	Tasa	Causas	Casos	Tasa
3	Trastornos mentales y del comportamiento.	1,279	8.4	Trastornos mentales y del comportamiento.	1,422	9.9
4	Enfermedades endócrinas, nutricionales y metabólicas.	1400	6.9	Enfermedades endócrinas, nutricionales y metabólicas.	972	6.8
5	Tumores (neoplasias).	930	6.1	Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio, no clasificados en otra parte.	935	6.5
	Otras	7349	49.3	Otras	7333	51.3
Total de consultas = 15,195			100.0	Total de consultas = 14,303		100.0

Fuente: Informe anual 2017 Archivo Clínico. Dirección Médica. Agenda Estadística 2017. Instituto Nacional de Pediatría. [https://www.pediatria.gob.mx/archivos/agenda\\_estadistica17.pdf](https://www.pediatria.gob.mx/archivos/agenda_estadistica17.pdf)

Además, las principales causas de mortalidad en la institución en 2016 y 2017 (Tabla 4), son muy semejantes a lo encontrado a nivel nacional tomando en cuenta que las listas del INP no discriminan por edad ni género del paciente.

Tabla 4. Causas de mortalidad hospitalaria

2016			2017		
Causas	Defunciones	Tasa	Causas	Defunciones	Tasa
Tumores (neoplasias)	36	27.7	Tumores (neoplasias).	47	28.3
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	21	16.2	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas.	33	19.9
Enfermedades del sistema circulatorio.	12	9.2	Enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos y trastornos que afectan la inmunidad.	15	9.0
Enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos y trastornos que afectan la inmunidad.	12	9.2	Enfermedades del sistema digestivo.	14	8.4
Enfermedades del sistema respiratorio.	10	7.7	Afecciones originadas en el periodo perinatal.	14	8.4
Otras	39	30.0	Otras	43	26.0
Total de defunciones: 130		100.0	Total de defunciones:166		100.0

Fuente: Informe anual 2017 Archivo Clínico. Dirección Médica. Agenda Estadística 2017. Instituto Nacional de Pediatría. [https://www.pediatria.gob.mx/archivos/agenda\\_estadistica17.pdf](https://www.pediatria.gob.mx/archivos/agenda_estadistica17.pdf)

## 1.2 DIURÉTICOS

Un diurético es un fármaco que se utiliza para aumentar la excreción de agua y electrolitos en la orina; éstos actúan a nivel renal, en la nefrona. Los diuréticos se clasifican en diferentes grupos dependiendo de su mecanismo de acción.

## 1.2.1 USO EN PEDIATRÍA

Debido a su versatilidad, los diuréticos han sido ampliamente utilizados en pediatría para el tratamiento de diversas patologías como en el tratamiento de edema, que es la acumulación de agua en el organismo o en órganos específicos. Así mismo, se han utilizado para tratar la insuficiencia cardiaca crónica; que en niños es muy frecuentemente derivada de cardiopatías congénitas. Los diuréticos también se han utilizado en varios tipos de hipertensión, como: intracraneal, arterial, arterial pulmonar, etc.<sup>6</sup>

El uso de diuréticos en síndromes renales también se ha estudiado. Su uso puede ser adecuado en pacientes que presentan fallo renal o enfermedad renal crónica, en que se presente una retención de fluidos u oliguria (disminución de orina) para inducir la excreción urinaria.<sup>6</sup>

## 1.2.2 CLASIFICACIÓN

La forma más común de clasificación es por mecanismo de acción (Fig 2).

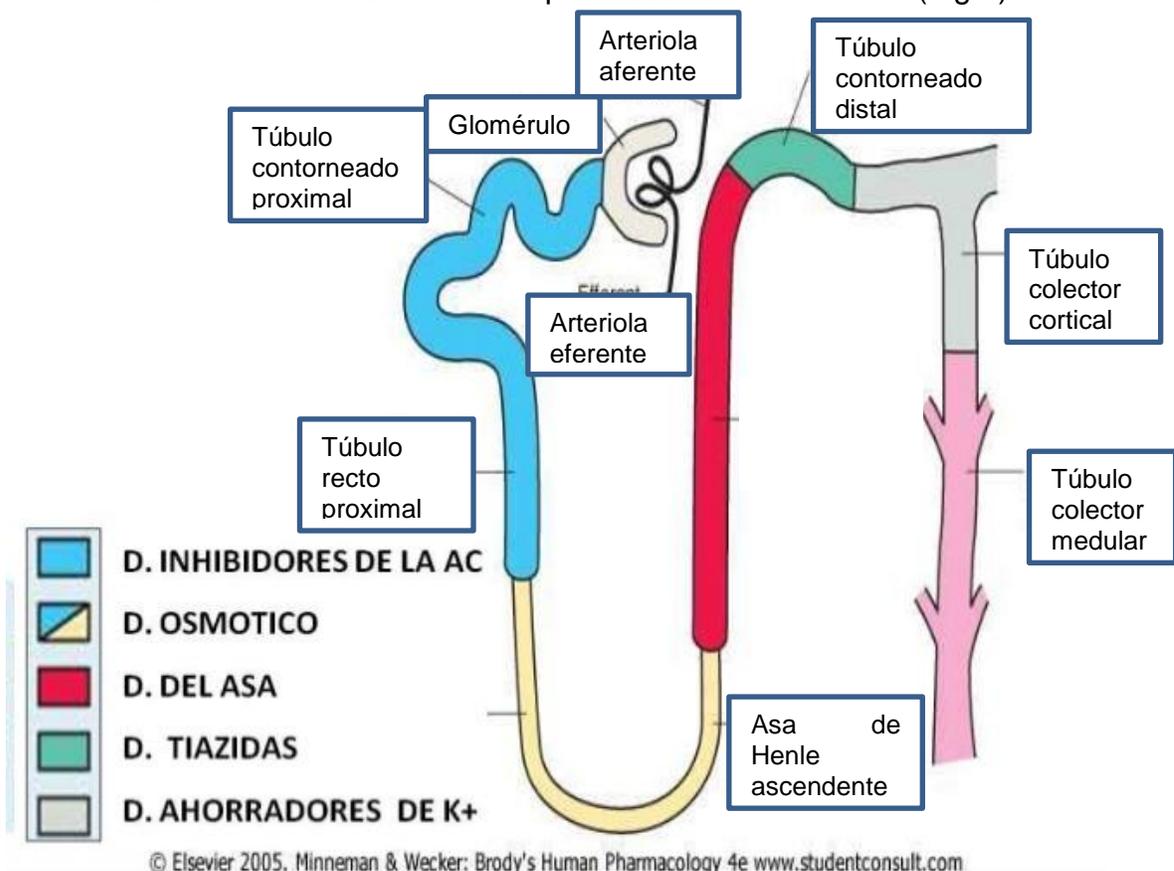


Fig 2. Sitios de acción de los tipos de diuréticos en la nefrona.  
Fuente: Elsevier. Minneman & Wecker: Brody's Human Pharmacology 4e, 2005.

Los diuréticos de mayor uso en pediatría son los diuréticos de asa, los ahorradores de potasio y las tiazidas, debido a su versatilidad y a su seguridad ya que tienen menos efectos adversos en comparación con los otros grupos.

### **1.2.2.1 DIURÉTICOS DE ASA**

Son los diuréticos más potentes, pero de acción relativamente corta, siendo ésta de 4 a 6 horas en administración oral. Los diuréticos de asa actúan sobre el sistema de cotransporte  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  inhibiendo su reabsorción en la rama ascendente del Asa de Henle.<sup>6</sup> Son útiles cuando se requiere una diuresis rápida como en edema pulmonar u oliguria. Debido a que su efecto es corto, el riesgo de hipopotasemia es bajo, sin embargo, presentan otros efectos adversos como hipovolemia o deshidratación en dosis altas. El fármaco modelo de este grupo es la furosemida.<sup>11</sup>

### **1.2.2.2 AHORRADORES DE POTASIO**

Son diuréticos relativamente débiles ya que al ejercer su efecto en el túbulo colector, la mayor parte del sodio ya se reabsorbió. Se dividen en dos grupos dependiendo de si inhiben la aldosterona o no. La espirinolactona es el fármaco modelo del primer grupo, mientras que la amilorida es el fármaco modelo del segundo grupo, que actúa bloqueando los canales de  $\text{Na}^+$ . Como lo indica su nombre, disminuyen la excreción de potasio y aumentan la excreción de sodio.<sup>6</sup>

### **1.2.2.3 TIAZIDAS**

Son de potencia moderada, pero producen diuresis por periodos más prolongados de hasta 12-24 horas. Son más tolerados que los diuréticos de asa y disminuyen el riesgo de infarto asociado con la hipertensión. Inhiben la reabsorción de sodio y cloruro en el túbulo contorneado distal.<sup>6</sup> Reducen la excreción de calcio por lo que se usan para tratar la hipercalcemia idiopática (alto contenido de calcio en orina). Estos diuréticos no son eficaces en pacientes con función renal alterada.<sup>11,12</sup>

## **1.3 HIDROCLOROTIAZIDA**

La hidroclorotiazida, abreviada HCTZ, es el fármaco representativo del grupo de las tiazidas, utilizado como diurético de primera elección. Se encuentra en el Formulario Modelo de la OMS como un medicamento esencial, en la Lista Modelo

OMS de Medicamentos Pediátricos Esenciales así como en el Cuadro Básico de Medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social.<sup>11, 13, 14</sup>

La molécula de hidroclorotiazida está compuesta de una benzotiadiazina, que es una tiadiazina conjugada con un benceno, con una sustitución con un radical cloruro y una sustitución con una sulfonamida.

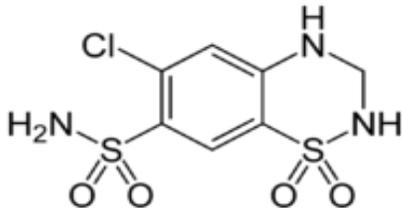


Fig 3. Molécula de HCTZ.  
Fuente: DrugBank, Hydrochlorothiazide<sup>12</sup>

Peso molecular	297.74 g/mol
Punto de fusión	266-268°C
pka	1: 7.9; 2: 9.2
Solubilidad	Poco soluble en agua

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de la HCTZ.  
Fuente: DrugBank, Hydrochlorothiazide<sup>12</sup>

### 1.3.1. MECANISMO DE ACCIÓN

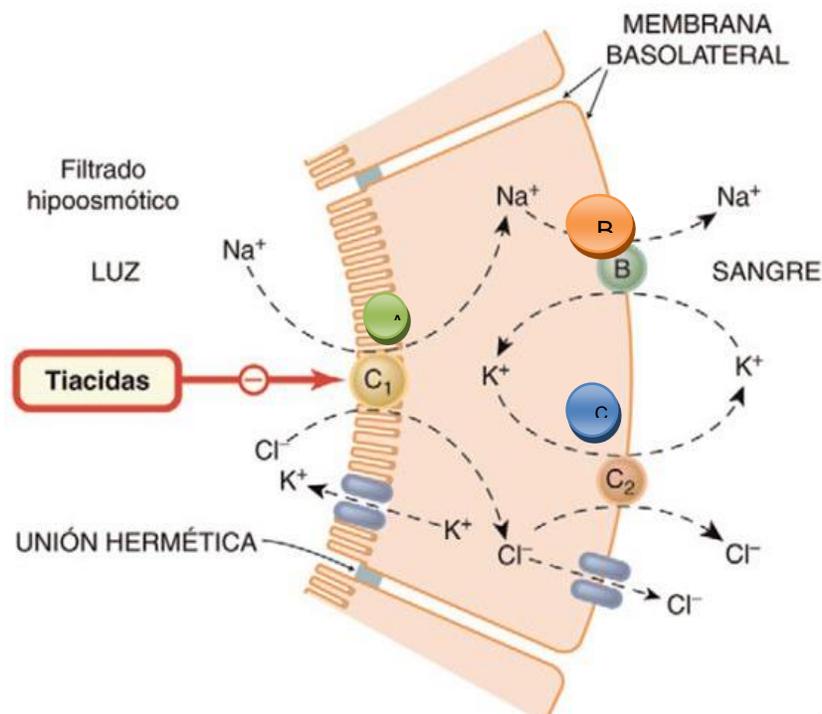


Fig 4. Mecanismo de acción de HCTZ a nivel de túbulo contorneado distal de la nefrona.

A) Cotransportador  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ , B) Bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , C) Cotransportador  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$

Fuente: Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower JR, Henderson G. Rang & Dale Pharmacology, 7 Ed. Madrid: Elsevier, 2011.

Las tiazidas se unen al sitio  $\text{Cl}^-$  en el cotransportador  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  inhibiendo la reabsorción de estos electrolitos en las células epiteliales del túbulo contorneado

distal, lo que corresponde a un 5-10% de la reabsorción total de sodio y agua. Este cotransportador efectúa el co-transporte de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  al interior de las células, donde el gradiente de sodio está regulado por la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  acoplada a ATPasas en la membrana basolateral. La reabsorción de agua ocurre naturalmente por ósmosis por el transporte de sodio al intersticio basolateral. La hidroclorotiazida, al inhibir este proceso reduce el gradiente osmótico, evitando la reabsorción de agua. El mecanismo por el cual aumenta la reabsorción de calcio no está bien elucidado, sin embargo se cree que actúa a nivel de canal de  $\text{K}^+$  activado por  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>12,15</sup>

### **1.3.2 CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS**

La hidroclorotiazida se absorbe por vía oral en un 50-60%, iniciando su efecto a las 2 horas y alcanzando el efecto máximo a las 4 horas; tiene un tiempo de vida media entre 5.6 a 14.8 horas y presenta entre un 40 y 60% de unión a proteínas; no sufre metabolismo hepático ni biliar y se elimina por vía renal principalmente por secreción tubular; no atraviesa la barrera hematoencefálica pero sí atraviesa la placenta y además se excreta en leche materna por lo que está contraindicada en el embarazo y la lactancia.<sup>12,15</sup>

### **1.3.3 EFECTOS ADVERSOS**

Los principales efectos adversos incluyen hipopotasemia, hipocloremia e hiponatremia, así como deshidratación resultante de diuresis excesiva, entre los cuales, la hipopotasemia suele ser el más importante. Éstos se presentan principalmente en pacientes que han consumido el fármaco de manera crónica o bien a altas dosis.<sup>12</sup>

### **1.3.4 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS Y DE OTRO GÉNERO**

Existen muchas interacciones medicamentosas reportadas, sin embargo éstas son las más relevantes: Presenta un aumento del efecto antihipertensivo al ser administrado con otros antihipertensivos. Su absorción se ve disminuida por fármacos como colestiramina y colestipol, así como indometacina. Se debe evitar administrar junto con corticosteroides, laxantes y anfotericina B de forma parenteral debido a que aumenta el riesgo de presentar hipopotasemia. No se

debe administrar con sales de Calcio, ya que presenta riesgo de hipercalcemia. Existe el riesgo de presentar hiperuricemia al administrar ciclosporina y tetraciclinas de forma concomitante.

En cuanto a la alimentación se recomienda no consumir alcohol durante el tratamiento ni sal común. Si se están consumiendo suplementos alimenticios que incluyen minerales como calcio, aluminio, magnesio o hierro, éstos se deben tomar con dos horas de diferencia respecto a la hidroclorotiazida. Finalmente, se recomienda aumentar el consumo de potasio en la dieta para disminuir el riesgo de hipopotasemia en el paciente.<sup>12</sup>

### **1.3.5 POSOLOGÍA**

La posología para pacientes pediátricos está dada por la edad y peso del paciente.

Para niños menores de 6 meses, la dosis es de 2-3 mg/kg/día en un intervalo de 12 horas, sin exceder de 37.5 mg/día por vía oral.

Para niños mayores de 6 meses, la dosis recomendada es de 1-2 mg/kg/día en un intervalo de 12 horas sin exceder 200 mg/día por vía oral.<sup>6</sup>

### **1.3.6 PRESENTACIONES DISPONIBLES**

En México el medicamento de patente autorizado por la FEUM es el Rofucal<sup>®</sup>, del laboratorio PROBIOMED<sup>®</sup> y se encuentra en presentaciones de 20 ó 30 tabletas de 25 mg. También se comercializan medicamentos genéricos de los laboratorios ULTRA<sup>®</sup> y AURAX<sup>®</sup> en la misma presentación de tabletas de 25 mg.

Es importante señalar que todas estas presentaciones son para adultos, es decir, en el mercado nacional no existe ninguna presentación disponible especialmente para su administración en pacientes pediátricos.

### **1.4 FORMAS FARMACÉUTICAS**

Una forma farmacéutica es la presentación disponible para su administración para un paciente en la que se encuentra el fármaco. Se pueden clasificar de varias maneras, pero en este caso solo se hablará de formas farmacéuticas orales no estériles, las cuales se dividen por su estado físico en sólidas y líquidas; también

se puede considerar el estado semi-sólido como un tercer grupo, sin embargo, éste es más común en administración por vía tópica.<sup>16</sup>

#### **1.4.1 FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES SÓLIDAS**

Existe una gran variedad de formas farmacéuticas orales sólidas, algunos de los ejemplos más importantes son:

- Polvos
- Tabletas
- Cápsulas<sup>16</sup>

#### **1.4.2 FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES LÍQUIDAS**

Las formas farmacéuticas líquidas se dividen principalmente en tres grupos, soluciones, suspensiones y emulsiones. Las últimas dos se consideran sistemas no homogéneos debido a que se fabrican por la dispersión de una fase en otra.

-Suspensiones. Son formas farmacéuticas líquidas formadas por dos fases donde la fase sólida es dispersada en la líquida por métodos mecánicos. Se utilizan principalmente cuando el principio activo es insoluble en el vehículo.

-Emulsiones. Son formas farmacéuticas líquidas o semi-sólidas heterógenas, ya que tienen dos fases inmiscibles entre sí, donde una de ellas está dispersa en la otra en forma de gotas y cuya tensión superficial se reduce por la acción de un emulsificante brindándole estabilidad.<sup>16</sup>

##### **1.4.2.1 SOLUCIONES**

Las soluciones son formas farmacéuticas líquidas homogéneas en las que el principio activo y los excipientes están disueltos en un vehículo. Ofrecen ciertas ventajas que las hacen adecuadas para su administración en pacientes pediátricos como son:

- ✓ Administración sencilla.
- ✓ Ajuste de dosis flexible.
- ✓ Buena biodisponibilidad.
- ✓ Buena palatabilidad.

Sin embargo, también presentan algunas desventajas como pueden ser:

- × Fácil contaminación.
- × La estabilidad de los fármacos está comprometida.
- × En algunos casos es difícil enmascarar el sabor de los fármacos.
- × Formulación complicada para fármacos insolubles.

#### **1.4.2.1.1 EXCIPIENTES EMPLEADOS EN SOLUCIONES**

Existe una gran variedad de excipientes para cumplir las diferentes funciones que requiere la formulación final; que tengas las características deseadas como: fácil administración, buena biodisponibilidad y calidad. Una solución típica se compone de varios excipientes básicos y la posibilidad de agregar excipientes adicionales.<sup>17</sup>

- Excipientes básicos:
  - Vehículo. Es la base de la solución. El agua es el disolvente más común debido a que no presenta problemas de toxicidad o incompatibilidad biológica.
  - Conservador. Su función es mantener la solución libre de contaminación microbiológica; al elegirlo es importante considerar el pH en el que actúa, su compatibilidad con otros componentes de la solución y que sea de amplio espectro de acción.
  - Antioxidante. Cuando se tiene un fármaco que es propenso a la oxidación, se utiliza un antioxidante para prevenirla y así poder mantener su estabilidad.
  - Regulador de pH. Su función es mantener el pH adecuado y deseado para que la solución se mantenga estable. Los reguladores de pH o buffers, deben ser compatibles con los otros componentes de la formulación; algunos de los más utilizados son carbonatos, citratos, fosfatos, etc.<sup>17</sup>
- Excipientes opcionales:
  - Edulcorantes. En especial en pacientes pediátricos es importante la buena palatabilidad de la solución, por lo que se utilizan estos excipientes para enmascarar sabores u olores desagradables del

fármaco. Es importante evaluar el riesgo-beneficio del edulcorante a utilizar, ya que muchos producen reacciones adversas sobre todo en pacientes pediátricos.

- Saborizantes. El uso de saborizantes en formulaciones líquidas no solo mejora la palatabilidad del producto sino que además facilita su identificación para favorecer el apego al tratamiento. Los saborizantes pueden ser de fuente natural o artificial y su elección depende del sabor original del principio activo dependiendo de si éste es amargo, salado, ácido, etc.
- Colorantes. En algunos casos se opta por agregar un colorante que se asocie con el sabor elegido para la formulación, para mejorar la presentación del producto o facilitar su identificación. Se debe tener precaución con el uso de colorantes ya que muchos presentan toxicidad sobre todo en niños.<sup>17</sup>

Las formulaciones pediátricas representan muchos retos, puesto que cada día es más importante la búsqueda y el empleo de excipientes que sean más adecuados para esta población. El empleo de excipientes novedosos en el desarrollo de una formulación permite brindarle las características más óptimas.

#### **1.4.2.1.1 STEVIA**

La *Stevia rebaudiana* Bertoni por su nombre científico, es una planta originaria de Sudamérica que ha sido utilizada desde hace muchos años como un endulzante natural. Los componentes responsables del sabor dulce de la planta se conocen como glucósidos de esteviol entre los que destacan el esteviósido, los rebaudiósidos (Reb) A, B, C, D y E, así como el dulcósido A.

En el cuerpo humano, se hidrolizan en el intestino grueso convirtiendo las moléculas en esteviol, que posteriormente se absorbe y sufre glucoronidación en el hígado para finalmente ser excretado vía renal. Debido a que al momento de la hidrólisis, las moléculas de azúcar liberadas se utilizan rápidamente como fuente de energía en el intestino, se le ha dado la denominación de edulcorante no calórico.<sup>18</sup>

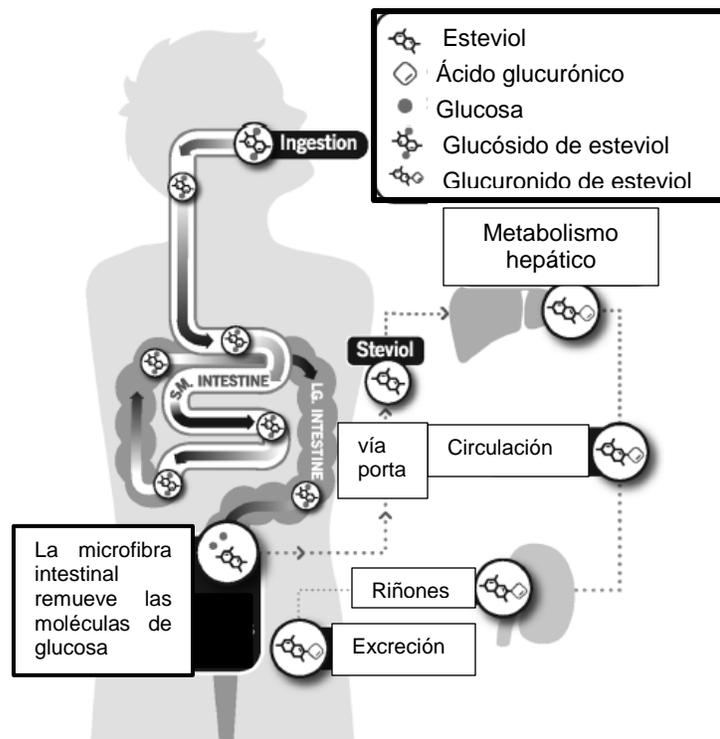


Fig 5. Farmacocinética de los glucósidos de esteviol en el organismo.

Fuente: Samuel, P., et. al. Stevia Leaf to Stevia Sweetener: Exploring Its Science, Benefits and Future Potential. The Journal of Nutrition, 2018.

En cuanto a su seguridad, la stevia ha demostrado no tener efectos carcinogénicos, reproductivos ni genotóxicos. Su valor de Ingesta Diaria Aceptable ADI (Acceptable Daily Intake por sus siglas en inglés) es de 10 mg/kg al día de Reb A y 12 mg/kg al día de estevióside. Se ha reportado que el potencial alergénico de la planta no es significativo y no tiene efectos adversos gastrointestinales importantes. Por lo tanto, los glucósidos de esteviol han sido aprobados para su uso en productos alimenticios y farmacéuticos, obteniendo la clasificación como una sustancia Generalmente Reconocida Como Segura o GRAS por sus siglas en inglés, que ha sido probada como segura para grupos vulnerables como mujeres embarazadas, personas diabéticas y niños.<sup>18</sup>

#### 1.4.2.1.1.2 CICLODEXTRINAS

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos formados por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1,4 que forman una estructura de cubeta con una cavidad hidrofóbica y un exterior hidrofílico. Las ciclodextrinas se producen a partir del almidón por digestión enzimática con ciclodextrina glicosiltransferasas (CGTasa). Como resultado de su estructura y forma, las ciclodextrinas son

capaces de contener en su interior una molécula huésped, como por ejemplo un fármaco.<sup>19</sup>

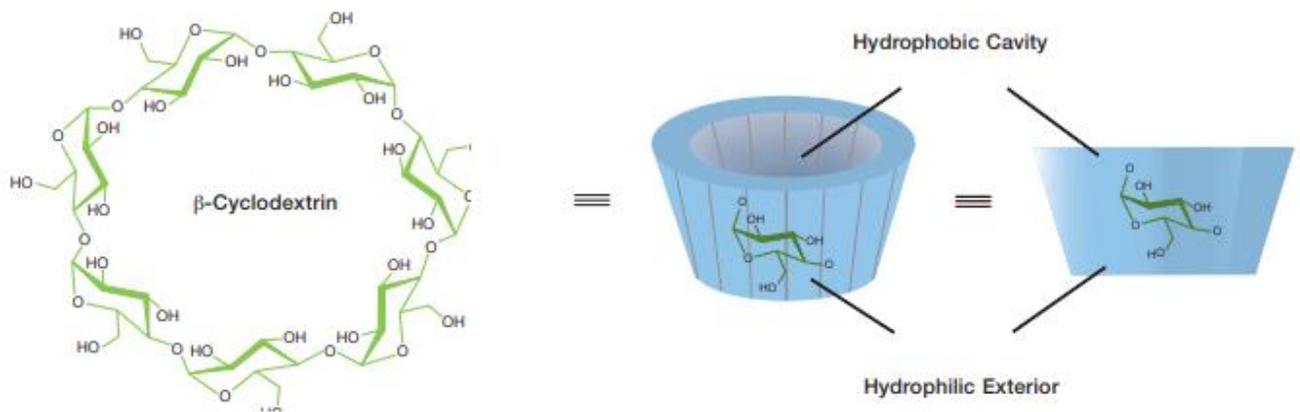


Fig 6. Estructura molecular y espacial de la  $\beta$ -Ciclodextrina.

Fuente: Wacker Chemie AG. "CAVAMAX® and CAVASOL® Cyclodextrins- The Innovator's Molecule". Sept, 2012.

Los complejos de inclusión (CI) resultantes pueden ser utilizados de muchas maneras en formulaciones farmacéuticas debido a las ventajas que presenta como son las siguientes:

- ✓ Aumentan la biodisponibilidad al mejorar la solubilidad en agua de fármacos hidrofóbicos y su tasa de disolución en el tracto gastrointestinal.
- ✓ Enmascaran el sabor u olor desagradable del fármaco, mejorando la palatabilidad de la fórmula, excelente para pacientes pediátricos.
- ✓ Aumentan la estabilidad de la formulación, protegiendo al fármaco de la luz, radiación UV, temperatura, agentes oxidantes, hidrólisis, etc.
- ✓ Previenen la interacción del fármaco con excipientes incompatibles en la fórmula o bien, si se usa más de un principio activo en ésta, de la interacción fármaco-fármaco.
- ✓ Reduce la irritación gastrointestinal que pueden provocar ciertos fármacos.<sup>19</sup>

Existen diferentes tipos de ciclodextrinas, que se clasifican dependiendo del número de unidades de glucosa, además de las ciclodextrinas convencionales, existen las ciclodextrinas sustituidas como la hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, la cual se obtiene por la reacción de la  $\beta$ -ciclodextrina y óxido de propileno. Las más usadas se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Clasificación y propiedades de las ciclodextrinas.

Tipo de ciclodextrina	# unidades de glucosa	Diámetro de la cavidad (A)	Tipo de molécula huésped	Solubilidad en agua (g/100mL)
$\alpha$	6	4.7-5.3	Compuestos con cadenas alifáticas	14.5
$\beta$	7	6.0-6.5	Compuestos aromáticos y heterocíclicos	1.8
$\gamma$	8	7.5-8.3	Macromoléculas y esteroides	23.2
Hidroxipropil- $\beta$	7	6.0-6.5	Compuestos aromáticos y heterocíclicos	60

Fuente: Wacker Chemie AG. "CAVAMAX® and CAVASOL® Cyclodextrins- The Innovator's Molecule". Sept, 2012.

Las ciclodextrinas son termoestables (aproximadamente hasta 200°C) y también son estables en soluciones alcalinas (pH <14) y en soluciones moderadamente ácidas (pH > 3), pueden ser hidrolizadas en ácidos fuertes. Son estables en presencia de enzimas como amilasas en una tasa moderada y en el caso de la Hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, el grado de sustitución disminuye consideradamente su propensión a la degradación por amilasas.

La seguridad de las ciclodextrinas es amplia, ya que se obtienen del almidón, sin embargo, la  $\beta$ -Ciclodextrina en altas dosis puede formar complejos insolubles con el colesterol que dañen la función del riñón por lo que no se recomienda en vías parenterales y su consumo oral está limitado a no más de 5 mg/kg/día.<sup>19</sup>

#### 1.4.2.1.2 EXCIPIENTES NO APROBADOS PARA SU USO EN PEDIATRÍA

A pesar de haber una amplia variedad de excipientes que pueden ser utilizados en las soluciones, algunos son incompatibles con las formulaciones pediátricas por varias razones; éstos que se mencionan a continuación, se descartan para formar parte de la solución final que va a ser administrada a los pacientes pediátricos.

##### ❖ Conservadores

- Parabenos. Como el metilparabeno o propilparabeno. Éstos conservadores no están recomendados para su uso en pediatría

debido a que son posibles alérgenos; además presentan interacción con incrementadores de la solubilidad como las ciclodextrinas.<sup>20,21</sup>

- Ácido benzoico. Está contraindicado su uso en formulaciones para neonatos, porque está relacionado con neurotoxicidad, complicaciones respiratorias y metabólicas.
- Benzoato de sodio. Puede presentar toxicidad en niños por reacciones adversas no inmunológicas.
- Sulfitos. La FDA levantó reportes de muertes por el consumo de sulfitos en niños por reacciones adversas.<sup>20</sup>

#### ❖ Vehículos

- Propilenglicol. Causantes de hiperosmolaridad, presentan un mayor tiempo de vida media en neonatos (aproximadamente de 17 horas comparado con 5 horas en adultos). Riesgo de depresión respiratoria en niños.
- Etanol. Genera neurotoxicidad por lo tanto, tiene un porcentaje de uso muy restringido.

#### ❖ Edulcorantes

- Sacrosa. Contraindicado en pacientes intolerantes a la fructosa.<sup>20</sup>
- Aspartame. Presenta diversos efectos neurológicos asociados, principalmente cefaleas. Además está contraindicado en pacientes con fenilcetonuria.
- Sacarina. Contraindicado en pacientes con alergias a las sulfas. Debe limitarse su consumo en niños y mujeres embarazadas.
- Sorbitol y Xilitol. Pueden causar diarrea osmótica.<sup>20</sup>

- ❖ Colorantes. En general los colorantes como el Rojo 4 o Amarillo 2, están contraindicados sobre todo en pacientes pediátricos, debido a que la posibilidad de presentar alergia a ellos es muy alta, por lo tanto, no es recomendable agregar colorantes a formulaciones pediátricas.<sup>20</sup>

## **1.5 DESARROLLO FARMACÉUTICO**

El desarrollo farmacéutico se encarga de la producción de medicamentos adecuados para su comercialización. Es una parte esencial en la industria farmacéutica debido a que gracias a ésta es posible el desarrollo de productos en formas farmacéuticas idóneas para la población a la que van dirigidos.

El objetivo del desarrollo farmacéutico es que mediante el uso de fármacos, excipientes, tecnologías, formas farmacéuticas, sistemas de liberación, etc. se mejore lo ya conocido o comercializado, haciéndolo más eficiente en cualquiera de sus características; por ejemplo, fármacos con mayor índice terapéutico, posologías más convenientes para el paciente, administración más sencilla, entre otros; siempre tomando en cuenta que el producto nuevo, debe ser mejor o igual a lo ya conocido y siempre se debe tomar en cuenta el riesgo-beneficio.

El desarrollo farmacéutico sigue una serie de etapas conocidas, con la finalidad de crear un nuevo medicamento, éstas pueden variar dependiendo de si se va a desarrollar una nueva formulación a partir de un fármaco ya conocido y bien caracterizado o si la investigación es a partir de moléculas nuevas. Cabe destacar que el tiempo del desarrollo puede ir desde 5 años para moléculas ya conocidas, hasta 20 años en caso de la búsqueda y descubrimiento de moléculas nuevas.

La primera etapa en común es conocida como pre-formulación en la cual se caracteriza y evalúa el fármaco para conocer sus propiedades físicas, químicas y organolépticas fundamentales y derivadas, las cuales servirán para determinar variables en la formulación, como selección de la forma farmacéutica y excipientes más adecuados para ésta, control de parámetros esenciales en el proceso y fabricación del producto, en esta etapa también se lleva a cabo la comprobación de la identidad del fármaco, su pureza y la evaluación de otras características importantes como su estabilidad física y química y su compatibilidad con excipientes probables para la formulación que se pretende desarrollar.

Una vez seleccionada la forma farmacéutica, se deben realizar las pruebas de formulación y desarrollo de procesos al mismo tiempo que la evaluación del producto para asegurar que la formulación final cuente con los mejores parámetros y características, siempre asegurando la estabilidad del fármaco, así

como la eficacia, calidad y seguridad del producto. Con las pruebas de estabilidad se busca que el producto mantenga la misma eficacia, aspecto y calidad desde el día de su fabricación hasta su fecha de caducidad; con el empleo de excipientes adecuados y un proceso de producción controlado, es posible lograr este objetivo.

En fases posteriores se llevan a cabo las pruebas pre-clínicas en animales de laboratorio y clínicas en sujetos de investigación siguiendo con el desarrollo de un medicamento hasta que se cumplan las especificaciones determinadas del producto que culminen en la comercialización de éste.<sup>4, 17</sup>

## **1.6 DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

Se le conoce como experimento diseñado a la prueba o serie de pruebas que se efectúan aplicando cambios establecidos por el experimentador en las variables de un proceso o sistema, de esta manera puede ser posible identificar las causas de los cambios en las respuestas posteriormente evaluadas. Con el diseño de experimentos es posible identificar de manera estadística qué variables influyen en mayor grado en la respuesta, qué valores de estas variables dan mejores respuestas y también puede ser posible eliminar aquellas variables que den respuestas indeseables.<sup>22</sup>

Al desarrollar una formulación, existen muchas variables que pueden influir en las características deseadas del producto, por lo que puede llegar a ser muy complicado establecer los valores más óptimos para cada una de ellas. Un ejemplo de esto, es la selección de la concentración de uso de los excipientes a utilizar en la formulación, lo cual influirá directamente en las características del producto final. Como se trata de una mezcla de diferentes componentes con variables y respuestas específicas, la selección del modelo del diseño de experimentos a utilizar es crucial para que éstas puedan ser evaluadas de manera adecuada.

### **1.6.1 SIMPLEX LATTICE**

La mayoría de los modelos de diseño de experimentos considera a cada variable del experimento de manera independiente con respecto a los otros factores, sin embargo en una formulación es necesario analizar, cómo cada componente de la

mezcla interactúa con los otros y afecta las características de la fórmula final. Para este propósito se utiliza lo que se conoce como experimentos de mezcla donde los factores corresponden a los componentes de una mezcla, en este caso la formulación y sus niveles no son independientes.

Entre los experimentos de mezclas, el diseño simplex lattice es el que representa mejores atributos para este fin. Se utiliza para estudiar los efectos de componentes de mezclas en cada variable de respuesta. En primer lugar se establece un espacio experimental donde se van a llevar a cabo los experimentos, conocido como “mezcla simplex”; los simplex más comunes son de 2, 3 y 4 componentes y se representan de manera lineal, como una figura plana o como una figura tridimensional respectivamente. A partir del número de componentes deseados, se lleva a cabo un diseño de experimentos que permita establecer los valores apropiados para cada uno de ellos y así también, poder establecer una ecuación que explique el modelo.<sup>22</sup>

### **1.7 ESTABILIDAD DE LA FORMULACIÓN**

Una vez desarrollada una formulación final que cumpla con los parámetros de calidad deseados, es esencial que éstos se mantengan a lo largo de todo su periodo de almacenamiento y posterior uso.

Un fármaco puede degradarse principalmente por cuatro procesos: hidrólisis, oxidación, fotólisis y catálisis por metales, donde los dos primeros son los más frecuentes; verificar que el principio activo sea resistente a hidrólisis y el uso de antioxidantes pueden prevenir estos problemas. En algunos casos, los pH extremos y la luz pueden catalizar las reacciones de descomposición del fármaco por lo que el uso de buffers es muy importante en estos casos, así como el mantenimiento de los productos farmacéuticos en envases protectores de luz y alejados del sol o de fuentes de calor. Finalmente es muy importante conocer los productos de degradación del principio activo, qué efectos potencialmente peligrosos podrían tener y cómo prevenir su aparición en las formulaciones.<sup>17</sup>

El propósito de las pruebas de estabilidad, es dar la evidencia necesaria de que las características del producto farmacéutico y principalmente el principio activo no varían significativamente con el tiempo, sobre todo estando expuesto a

características ambientales no controladas o extremas, a diferencia de cuando éste se encuentra en una planta de producción o en un laboratorio. Como ya se explicó anteriormente, los factores ambientales como luz, temperatura, humedad, etc., definen el tiempo de vida y las condiciones de almacenaje del producto farmacéutico y por lo tanto, son aquéllos que se evalúan durante estas pruebas.<sup>23</sup>

Existen pruebas de estabilidad que se efectúan en diversos puntos del proceso, sin embargo, para fines de este proyecto, solamente se efectuarán estudios de estabilidad preliminar.

### **1.7.1 CICLADO TÉRMICO**

Las pruebas de estabilidad preliminar tienen como objetivo auxiliar y orientar en la selección de las formulaciones. Se llevan a cabo en la fase inicial del desarrollo del producto y emplean condiciones extremas de temperatura con el objetivo de retar a la formulación y acelerar posibles reacciones entre sus componentes y el surgimiento de señales de descomposición, inestabilidad, etc.

Uno de los métodos más utilizados para llevar a cabo pruebas de estabilidad preliminar se conoce como ciclado térmico; éste consiste en la aplicación cíclica de cambios de temperaturas extremas altas a temperaturas extremas bajas conocidas y viceversa, donde cada uno de estos cambios corresponde a un ciclo (de 24 horas) y se aplica durante un periodo de tiempo establecido de 8 días, pero que dependiendo de las características de estabilidad del principio activo y de la formulación en sí, puede extenderse desde 15 días hasta 30 días; de esta manera, se obtiene información aproximada de las condiciones apropiadas para el producto terminado.<sup>24</sup>

Es importante mencionar que esta prueba no es útil para determinar la fecha de caducidad del producto terminado, la cual se determina únicamente efectuando las pruebas establecidas en la Norma Oficial Mexicana de Estabilidad de Fármacos y Medicamentos, así como de remedios herbolarios (NOM-073-SSA1-2015), sin embargo, para fines de este proyecto y por cuestiones de falta de infraestructura indicada en las evaluaciones de dicha norma, solo se realizaron las pruebas de ciclado térmico.

## **CAPÍTULO II. METODOLOGÍA**

A continuación se presenta la metodología empleada en el desarrollo de una solución oral pediátrica de hidroclorotiazida de 2mg/mL, la cual se realizó en 5 etapas generales.

- I. Justificación del desarrollo de una solución oral pediátrica con actividad diurética.
- II. Revisión bibliográfica.
- III. Estudios de pre-formulación.
- IV. Estudios de formulación.
- V. Ciclado térmico.

### **2.1 JUSTIFICACIÓN DEL DESARROLLO DE UNA SOLUCIÓN ORAL PEDIÁTRICA CON ACTIVIDAD DIURÉTICA**

Para determinar la necesidad del desarrollo de una solución oral pediátrica con actividad diurética, se realizó una revisión retrospectiva de los registros de dispensación de dosis unitarias de los servicios de Farmacia Hospitalaria y Farmacotécnica de un hospital de tercer nivel de atención; con la finalidad de evaluar las necesidades farmacoterapéuticas de los pacientes pediátricos. Para seleccionar el principio activo, se capturaron en bases de datos los registros encontrados en los años 2002-2017, clasificándolos por grupo terapéutico y fármaco; las cuales fueron validadas para asegurar la captura correcta de información. Posteriormente se realizó el análisis de la información y se obtuvieron gráficos y tablas con los datos más relevantes.

La dosis de la solución pediátrica se determinó, tomando en cuenta los mismos registros del periodo entre 2002 y 2017 haciendo un recuento de aquellas dosis del principio activo elegido con mayor dispensación.

### **2.2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

El primer paso del desarrollo farmacéutico consistió en efectuar una consulta de diversas bases de datos, journals, revistas científicas, etc.; para conocer las

características fisicoquímicas y farmacológicas del principio activo hidroclorotiazida para así poder establecer las pruebas control necesarias y variables a controlar durante el proceso.

Durante todo el proceso del desarrollo, la bibliografía pertinente se consultó constantemente.<sup>4</sup>

## **2.3 ESTUDIOS DE PRE-FORMULACIÓN**

Los estudios de pre-formulación consistieron en la caracterización del principio activo; fueron divididos en 4 partes fundamentales: características físicas, comprobación de la identidad, estudios de degradación del principio activo, así como compatibilidad con posibles excipientes en la formulación.

Para llevar a cabo todas las pruebas de pre-formulación del principio activo y el posterior proceso de formulación se utilizó como materia prima hidroclorotiazida donada por laboratorios Neolpharma SA de CV con número de lote: MPA005160417 y con certificado de análisis aprobado (Anexo 1).

### **2.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Se evaluaron las principales características físicas del principio activo para poder determinar las cualidades deseadas en la formulación final y establecer las condiciones necesarias para que el fármaco mantuviera sus características y con esto, la estabilidad y calidad deseada a lo largo de todo el proceso.

#### **2.3.1.1 DESCRIPCIÓN**

Esta prueba consistió en observar la apariencia del principio activo, para lo cual se colocó una muestra de aproximadamente 50 mg en una superficie plana, limpia y sin partículas extrañas en un ambiente bien iluminado. Se tomó como referencia la especificación de descripción de la monografía de la hidroclorotiazida en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 10<sup>a</sup> Edición.

Tabla 7. Especificaciones para la prueba de descripción (FEUM 10<sup>a</sup> Ed.).

<b>Característica</b>	<b>Especificación</b>
Descripción	Polvo blanco o casi blanco.

### 2.3.1.2 SOLUBILIDAD

La solubilidad del principio activo es esencial para determinar la base o vehículo a utilizar. Para términos de esta prueba se tomó como definición de solubilidad, el grado de disolución de un polvo dentro de 30 minutos en un disolvente a 25°C, aplicando agitación vigorosa (vórtex 2) durante 30 segundos a intervalos de 5 minutos; presentada en el apartado “Solubilidad” de la FEUM 10ª Ed.<sup>25</sup>

Para seleccionar los disolventes a utilizar en la prueba, se consideró la especificación encontrada en la monografía de la hidroclorotiazida en la FEUM 11ª Ed. (Tabla 8).<sup>26</sup>

Tabla 8. Especificaciones en la prueba de solubilidad (FEUM 11ª Ed.).

<b>Característica</b>	<b>Especificación</b>
Solubilidad	Ligeramente soluble en metanol, acetonitrilo y alcohol. Muy poco soluble en agua. Casi insoluble en éter dietílico y cloroformo.

Para determinar el volumen de cada disolvente y el peso del principio activo a utilizar, se relacionaron los parámetros de solubilidad mencionados en el apartado “Solubilidad” de la FEUM 10ª Ed con la especificación de cada disolvente.<sup>25,26</sup>

Tabla 9. Disolventes empleados en la prueba. (FEUM 11ª Ed.).

<b>Disolvente</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Volumen (mL)</b>	<b>Peso HCTZ (g)</b>
Metanol	Ligeramente soluble	5	0.07
Etanol	Ligeramente soluble	5	0.07
Acetonitrilo	Ligeramente soluble	5	0.05
Agua	Muy poco soluble	10	0.005
Cloroformo	Casi insoluble	20	0.002

Tabla 10. Parámetros de solubilidad (FEUM 10ª Ed.).

<b>Parámetro</b>	<b>Partes de disolvente en volumen requeridas para 1 parte de soluto</b>
Muy soluble	Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 101 a 1000 partes
Muy poco soluble	De 1001 a 10000 partes
Casi insoluble	Más de 10000 partes

Se evaluó también la solubilidad del principio activo en excipientes utilizados en soluciones como agentes solubilizantes (Glicerina, Polietilenglicol, Tween 20). La prueba se llevó a cabo a 35°C utilizando aproximadamente 5 mg de principio activo y agregando gota a gota cada solubilizante, con agitación vigorosa (Vórtex 2) por 10 segundos, hasta solubilizar completamente.

### 2.3.1.4 TAMAÑO DE PARTÍCULA

Se efectuó la prueba “Determinación de Tamaño de Partículas Sólidas por Tamizado” del Método General de Análisis MGA 0861 de la FEUM 11ª Ed. Su fundamento consiste en hacer pasar el sólido a través de mallas de aperturas específicas y bajo condiciones establecidas. Para esta prueba se utilizó un juego de tamices de números 20, 40, 60, 80, 100, 200 y la base, los cuales se limpiaron y secaron totalmente y se pesaron antes de comenzar la prueba (Tabla 11).

Tabla 11. Pesos de los tamices antes de la prueba. (FEUM 11ª Ed.).

# Tamiz	Malla (FEUM)	Apertura de la malla (µm)
20	B	840
40	C	420
60	D	250
80	E	177
100	E'	149
200	G	74
Base	-	-

Se montó el juego de tamices en el orden correspondiente en la tamizadora modelo Retsch AS200, verificando previamente que se encontrara totalmente limpia y se colocó la muestra de aproximadamente 3 gramos en el tamiz superior. Se fijaron las condiciones de operación (Tiempo: 10 minutos y amplitud: 40) y se puso en funcionamiento. Al final de la prueba se volvió a pesar cada tamiz y se sacó la diferencia entre el peso final y el peso inicial de los tamices para obtener la cantidad de muestra retenida en cada uno (Ecuación 1); posteriormente se obtuvo la expresión en % retenido (Ecuación 2). Se hicieron 3 repeticiones, recuperando el principio activo y limpiando totalmente con aire a presión los tamices entre cada repetición.<sup>26</sup>

$$\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)} = \text{Cantidad retenida (g)}$$

Ecuación 1. Obtención de la cantidad retenida de muestra.

$$(Cantidad\ retenida\ (g) / Muestra\ inicial\ (g)) * 100 = \% \text{ retenido}$$

Ecuación 2. Obtención del porcentaje retenido de muestra en cada tamiz.

Una vez obtenido el % retenido para cada tamiz, en cada una de las repeticiones, se promediaron los valores y también se obtuvo el % acumulado de muestra (Ecuación 3) así como el % no retenido (Ecuación 4).

$$\% \text{ retenido } 1 + \% \text{ retenido } 2 = \% \text{ acumulado}$$

Ecuación 3. Obtención del porcentaje de muestra acumulado.

$$100\% - \% \text{ retenido} = \% \text{ no retenido}$$

Ecuación 4. Obtención del porcentaje de muestra no retenida.

Para determinar el tamaño de partícula del principio activo, se graficaron los datos obtenidos para cada tamiz y para su clasificación, se tomó en cuenta la información encontrada en la FEUM 11ª Ed. en el MGA 0861 (Tabla 12).

Tabla 12. Parámetros de clasificación del tamaño de partícula de sólidos. (FEUM 11ª Ed.).

Clasificación	Sólidos vegetales y animales				Sólidos químicos			
	Partículas que pasan a través de:				Partículas que pasan a través de:			
	Malla	%	Malla	%	Malla	%	Malla	%
Muy grueso	A	100	D	<20	B	100	C	<60
Grueso	B	100	D	<40	C	100	D	<60
Semigrueso	C	100	E	<40	E	100		
Fino	D	100	E'	<40	F	100		
Muy fino	E	100						

## 2.3.2 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

Antes del desarrollo de cualquier formulación es importante asegurar la identidad del principio activo y que éste no tenga ningún otro componente extraño o impureza, para este propósito se llevaron a cabo tres pruebas diferentes.

### 2.3.2.1 BARRIDO ESPECTROSCÓPICO DE ABSORCIÓN UV

La espectrofotometría se basa en la medida de la absorción de una radiación electromagnética en longitudes de onda específicas de una sustancia. Se llevó a cabo un barrido en la región UV del espectro con la finalidad de encontrar los picos de absorción máxima del principio activo. De esta manera, es posible identificar una sustancia, ya que presenta picos de absorción máxima específicos.

La prueba se efectuó con base en el Método General de Análisis MGA 0361: Espectrofotometría Visible y Ultravioleta en la FEUM 11<sup>a</sup> Ed.

Para proceder con la determinación, se preparó una solución de hidroclorotiazida en una concentración de 10 µg/mL en metanol, debido a su buena solubilidad en este disolvente. Se seleccionó la lectura en la región UV del espectro de 200 a 600 nm y se realizó la medición por triplicado utilizando celdas espectrofotométricas de cuarzo y metanol como blanco. El equipo utilizado fue un espectrofotómetro de la marca Genesys IOS-UV-VIS.<sup>26,27</sup>

Como referencia se tomó el espectro reportado por Latha, Srinivasan, Gunasekaran y Ramkumaar en el artículo “Quantitative Analysis of Anti-Hypertensive drugs in Association (combination therapy) using IR and UV-Visible spectroscopy.”<sup>28</sup>

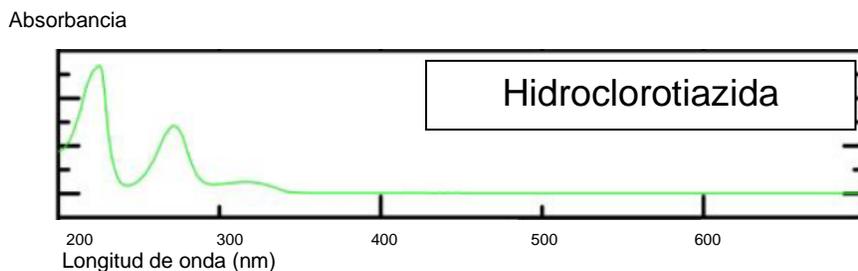


Fig 7. Espectro de absorción de la hidroclorotiazida en solución en metanol (10 µg/mL). Fuente: Latha, Srinivasan, Gunasekaran, Ramkumaar. “Quantitative Analysis of Anti-Hypertensive drugs in Association (combination therapy) using IR and UV-Visible spectroscopy”. International Journal of Materials Science; 2017.

Tabla 13. Picos de absorción de onda máxima para la hidroclorotiazida.<sup>28</sup>

Longitud de onda	Absorbancia teórica
226 nm	1.340
272 nm	0.710
317 nm	0.122

### 2.3.2.2 PUNTO DE FUSIÓN

El punto o temperatura de fusión de una sustancia sólida es el intervalo o valor de temperatura en el que el sólido funde por completo. La determinación del punto de fusión, además de utilizarse como una prueba de identificación, también es útil para determinar si el principio activo se encuentra puro o si tiene impurezas o un alto contenido de humedad, las cuales se manifiestan con una disminución del punto de fusión teórico.

La prueba se efectuó con base en el Método General de Análisis MGA 0471 Temperatura de Fusión de la FEUM 11<sup>a</sup> Ed., utilizando un Aparato de punto de fusión de la marca Barnstead Thermolyne o Clase I B (Aparato II); se tomó una pequeña muestra del principio activo suficiente para cubrir la punta de un capilar, aplicando fuerza mecánica para dejarlo lo más empacado posible, se ingresó al equipo y se encendió la lámpara para aumentar gradualmente la temperatura, la cual se registra en un termómetro que viene acoplado al equipo.<sup>26</sup> El punto de fusión corresponde a la temperatura en que inicia el cambio de estado del fármaco hasta la temperatura en que se observa la muestra totalmente líquida; por lo tanto es válido registrar la temperatura como un intervalo.

Los valores de referencia se consultaron y obtuvieron de diversas bases de datos, ya que la hidroclorotiazida puede presentar puntos de fusión muy variados, dependiendo de las condiciones de calentamiento (Tabla 14).<sup>29</sup>

Tabla 14. Puntos de fusión de la hidroclorotiazida en la literatura.

<b>Fuente</b>	<b>Punto de fusión reportado</b>
DrugBank <sup>12</sup>	266-268°C
Merck Index <sup>30</sup>	273-275°C
Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. <sup>29</sup>	263-275°C
Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists <sup>31</sup>	265-270°C
AK Scientific <sup>32</sup>	265-276°C

### **2.3.2.3 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA**

Finalmente, se utilizó la cromatografía de capa fina (CCF), que es una técnica de cromatografía que consiste en una fase estacionaria compuesta de un adsorbente sólido distribuido de manera uniforme en una superficie plana como hojas de aluminio o placas de vidrio, el cual presenta un fenómeno de capilaridad, por las partículas finamente divididas lo que permite que la fase móvil pase entre éstas. La separación depende de la relación del analito y la fase móvil y de cómo es retenido en la fase estacionaria.

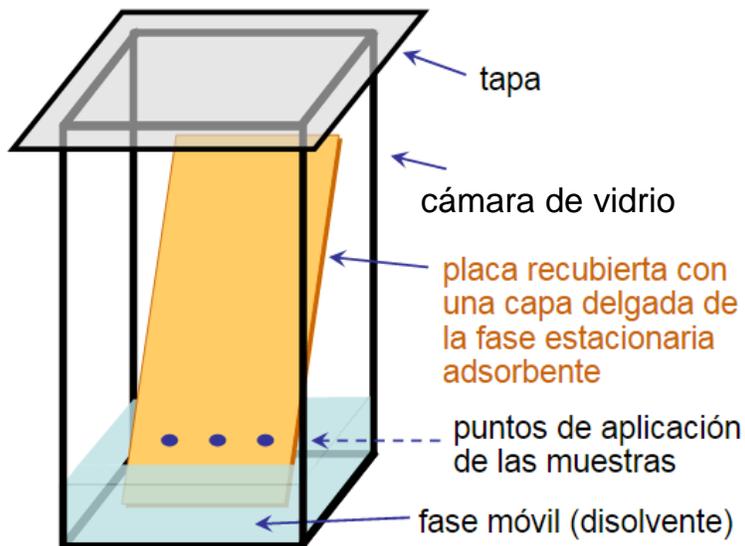


Fig 8. Esquema de una cromatografía de capa fina.  
Fuente: Waksmundzka-Hajnos, M. 2008.

El Factor de Retención o también llamado Relación de frentes ( $R_f$ ), está dado por la relación de la distancia recorrida por la fase móvil y la distancia recorrida por el analito de interés, el  $R_f$  sirve para develar la identidad de un compuesto en específico, ya que el movimiento de cada sustancia en un determinado sistema es característico por lo que utilizando el medio adecuado, esta prueba es altamente específica y adecuada para el propósito deseado.

Para establecer la fase móvil o medio de elución adecuado, se probaron medios de elución de diferentes polaridades (Tabla 15). La solución blanco de hidroclorotiazida se preparó a una concentración de 1 mg/mL en metanol.

Tabla 15. Medios sugeridos para la prueba de CCF.

Disolvente y proporción	Referencia
Acetato de etilo (1)	British Pharmacopeia <sup>33</sup>
Acetato de etilo –Cloroformo (1:1)	Medio modificado de la British Pharmacopeia
Acetato de etilo – Hexano (7:3)	Medio modificado de la British Pharmacopeia
Cloroformo – Metanol (9:1)	Clarke's Analysis of Drugs and Poisons <sup>34</sup>
Acetato de etilo – Metanol – Ácido acético glacial (28:1:0.1)	Naguib, Abdelaleem, Zaazaa, Draz <sup>35</sup>

Para esta prueba se siguió el procedimiento descrito en el MGA 0241: Cromatografía de la FEUM 11ª Ed. Se utilizó una cromatoplaaca de sílica gel con soporte de vidrio y se reveló con una lámpara de fluorescencia F254 de aproximadamente 7x10 cm. Con un capilar de vidrio se colocó una muestra del principio activo en la solución blanco de metanol y se comprobó la visibilidad del punto de aplicación con luz UV a  $\lambda=254$  nm. Se utilizó una cámara de elución de vidrio, donde se añadieron aproximadamente 10 mL de la fase móvil y se colocó la cromatoplaaca para dejar correr el medio. Se marcaron los puntos de inicio y final de la fase móvil y se observó la placa en la luz UV a  $\lambda=254$  nm, a partir de estos datos se calculó el Rf (Ecuación 5).<sup>26</sup>

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por el compuesto (cm)}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil (cm)}}$$

Ecuación 5. Cálculo del Rf para un compuesto determinado.

### 2.3.3 ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

Es importante determinar bajo qué condiciones se puede degradar o descomponer el principio activo. Para los estudios de degradación, se prepararon los medios indicados en la Tabla 16 en su respectiva concentración para evaluar si el principio activo es sensible a: medio ácido, medio básico, hidrólisis en medio acuoso, oxidación y fotodegradación.<sup>4,17</sup>

Para efectuar la prueba se pesaron aproximadamente 10 mg de principio activo, el cual se colocó en 10 mL de cada medio por separado, para evaluar la influencia de la presencia o ausencia de luz en el principio activo, se utilizaron frascos transparentes y frascos ámbar respectivamente y en ambos casos se expusieron a una fuente de luz natural.

Tabla 16. Medios utilizados en la prueba de degradación

<b>Medio</b>	<b>Condición</b>	
Medio ácido (HCl 0.1 N)	c/ luz	s/ luz
Medio básico (NaOH 0.1 N)	c/ luz	s/ luz
Medio oxidativo (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0.3%)	c/ luz	s/ luz
Medio acuoso	c/ luz	s/ luz
Blanco (MeOH)	c/ luz	s/ luz

Para evaluar al principio activo en la prueba, los frascos se almacenaron con la muestra por una semana.

Las pruebas control que se realizaron al inicio (día 0) y al final de la prueba (día 7) fueron: medición de pH, cromatografía de capa fina, utilizando el procedimiento descrito en la prueba de identificación (2.3.2.3) y evaluación de la apariencia.

### 2.3.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

Al momento de desarrollar la formulación, es indispensable que el principio activo se mantenga estable y que no reaccione con ninguno de los otros componentes de la fórmula.

Inicialmente se descartaron los excipientes que no son adecuados para la administración en pacientes pediátricos (1.4.2.1.2). Tomando en cuenta las características y ventajas de los excipientes necesarios para la formulación y para reducir el desperdicio de material en la prueba, se eligieron únicamente seis excipientes probables para conformar la fórmula final como se muestra en la Tabla 17, cada uno de ellos se colocó en un frasco ámbar por separado y el peso de cada uno se determinó utilizando su porcentaje de uso máximo<sup>34</sup> para asegurar que el fármaco se mantenga estable en todo el rango de porcentaje de uso de cada excipiente; se agregaron 10 mL de agua destilada a cada frasco y finalmente se agregaron aproximadamente 10 mg de HCTZ en cada uno. Todos los frascos se almacenaron durante una semana para posteriormente realizar las pruebas de control correspondientes.

Tabla 17. Excipientes probados para conformar la fórmula final.

Excipiente	Porcentaje de uso <sup>33</sup>
Regulador de pH	0.1-2%
Antioxidante	0.01-0.1%
Conservador 1	0.1-0.5%
Conservador 2	0.3-2.0%
Edulcorante 1	0.2-0.3%
Edulcorante 2	0.005-0.2%

La interacción del fármaco con los excipientes se evaluó mediante las metodologías de evaluación, ya mencionadas en las pruebas de degradación

(2.3.3). En todos los casos se realizaron las mediciones al inicio (día 0) y al final de la prueba (día 7).

## **2.4 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN**

La siguiente fase en el desarrollo farmacéutico consistió en el desarrollo de la formulación tomando en cuenta la evidencia encontrada en los estudios de pre-formulación, principalmente en cuanto a las características del principio activo que permitan establecer la manera en que se va a proceder con el proceso de la formulación, qué excipientes utilizar en la fórmula, qué condiciones ambientales evitar y qué características deben controlarse en el proceso para que el fármaco conserve la eficacia y estabilidad deseadas.

Además, en esta etapa se llevó a cabo el diseño de experimentos de mezclas para determinar la fórmula con las características más adecuadas para conformar la fórmula final; a la cual sea posible posteriormente realizar la prueba de ciclado térmico.

### **2.4.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN**

El principio activo elegido tiene la gran desventaja de ser insoluble en agua; por lo tanto, para aumentar su solubilidad acuosa se propone el empleo de ciclodextrinas para formar complejos de inclusión, debido a la gran cantidad de ventajas que presenta para el desarrollo farmacéutico, además de ser excipientes seguros para su uso en pediatría.

#### **2.4.1.1 ELECCIÓN DE CICLODEXTRINA**

Para elegir la ciclodextrina que mejor se adapte a las necesidades de la formulación, se revisó la literatura para determinar las características más adecuadas de cada tipo de ciclodextrina, así como las ventajas y desventajas que presentan éstas.

#### **2.4.1.2 COMPATIBILIDAD DE CICLODEXTRINAS CON EXCIPIENTES**

Debido a que las ciclodextrinas también deben ser compatibles con los excipientes elegidos para la formulación y no degradarse o degradar a alguno de estos, se

efectuaron pruebas para verificar que tanto las ciclodextrinas como el resto de los excipientes empleados conservan su integridad al estar en contacto.

Para esta evaluación se pesaron aproximadamente 0.1 g de cada excipiente elegido para la formulación final y se disolvieron en 10 mL de agua por separado y a cada frasco se agregó aproximadamente 0.1 g de la ciclodextrina, así mismo, se realizaron mezclas aleatorizadas de excipientes en pares junto con la ciclodextrina. (Tabla 18).

Tabla 18. Mezclas aleatorizadas de la ciclodextrina con los excipientes de la formulación.

<b>Mezcla</b>	<b>Ciclodextrina</b>	<b>Conservador</b>	<b>Antioxidante</b>	<b>Regulador de pH</b>	<b>Edulcorante</b>
1	✓	✓	x	x	x
2	✓	x	✓	x	x
3	✓	x	x	✓	x
4	✓	x	x	x	✓
5	✓	✓	✓	x	x
6	✓	✓	x	✓	x
7	✓	✓	x	x	✓
8	✓	x	✓	✓	x
9	✓	x	✓	x	✓
10	✓	x	x	✓	✓

Debido a que las ciclodextrinas no absorben en luz UV, no se efectuaron pruebas de cromatografía de capa fina, las pruebas realizadas fueron únicamente para evaluar la apariencia de la solución con la finalidad de encontrar si en alguna de las mezclas se presentó algún cambio de coloración o precipitación de compuestos tomando en cuenta que todos los excipientes empleados para la prueba son solubles en agua.

### 2.4.1.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

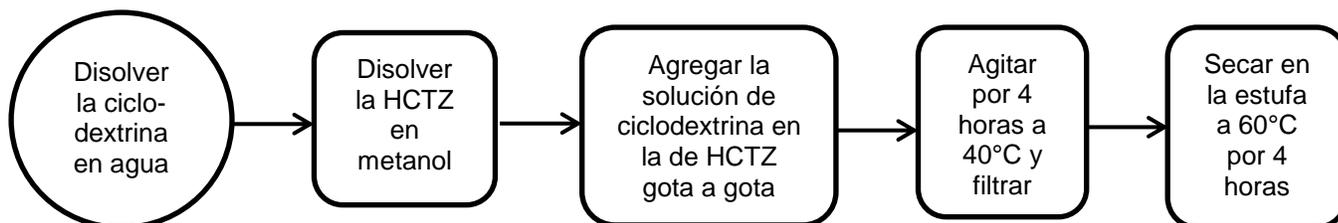
La formación de los complejos de inclusión ocurre por diferentes mecanismos y existe una serie de factores que influye en ésta. En primer lugar se debe tomar en cuenta el tamaño de la cavidad de la ciclodextrina y su relación con el tamaño de la molécula huésped, ya que si esta última no entra en la cavidad, la complejación no tendrá lugar.

Por otro lado, debe considerarse las interacciones termodinámicas entre la ciclodextrina y la molécula huésped. Para que la complejación se produzca es necesario que el delta de energía sea positivo, para que se alcance el equilibrio de complejación. Hay cuatro tipos de interacción que favorecen la formación del complejo de inclusión.

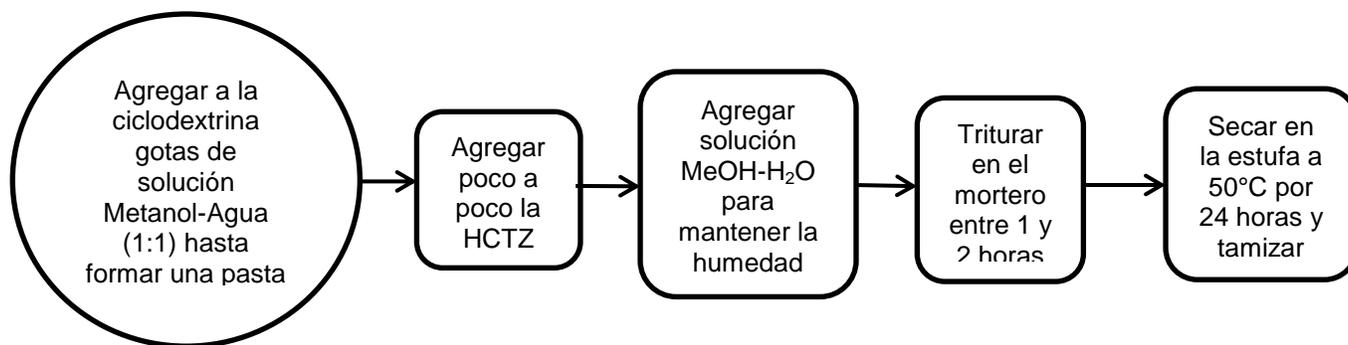
1. Desplazamiento de moléculas de agua de la cavidad hidrofóbica de la ciclodextrina.
2. Formación de puentes de hidrógeno por el desplazamiento de las moléculas de agua.
3. Reducción de fuerzas de repulsión entre el huésped de carácter hidrófobo y el ambiente acuoso.
4. Aumento de interacciones hidrofóbicas mientras la molécula huésped se inserta en la cavidad apolar de la ciclodextrina.<sup>19</sup>

Existe una gran variedad de métodos para formar los complejos de inclusión. En este caso se probaron tres métodos descritos en la literatura conocidos como Co-Precipitación, Amasado y Evaporación de solventes para encontrar aquel método con un mejor rendimiento de obtención del complejo de inclusión. Los procedimientos realizados en cada caso se explican a detalle en la Fig 9.<sup>37</sup>

#### Método de co-precipitación



### Método de amasado



### Método de evaporación de solventes

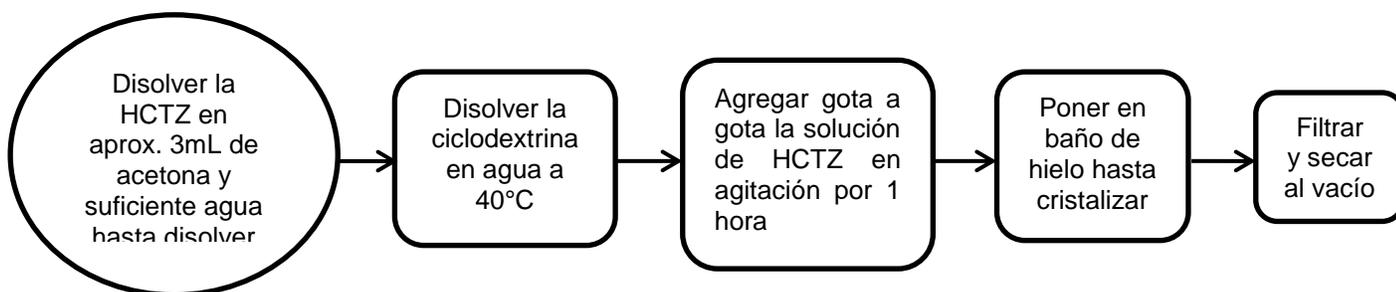


Fig 9. Métodos de preparación de los complejos de inclusión.

Fuente: Ghosh A., Biswas S. & Ghosh T. Preparation and Evaluation of Silymarin  $\beta$ -cyclodextrin Molecular Inclusion Complexes.

Para cada método se utilizó la relación molar encontrada en la literatura respecto a la ciclodextrina y la hidroclorotiazida (1:1) y la cantidad de ciclodextrina para la HCTZ a usar se obtuvo utilizando la estequiometría y relación molar (Ecuación 6).

$$(\text{Peso HCTZ}) * (\text{Peso molecular HCTZ}) * (\text{Relación molar CD:HCTZ}) * (\text{Peso molecular CD}) = \text{Peso CD}$$

Ecuación 6. Cálculo de CD

#### **2.4.1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN**

Una vez elegido el método de mejor rendimiento y características de complejación fue necesario fijar las condiciones de preparación.

Como primer experimento se fijaron las variables descritas en la Tabla 19 y se decidió efectuar el procedimiento cambiando el disolvente utilizado, debido a que es un paso crítico en la formación del complejo de inclusión y puede tener muchas variantes; se probaron tres disolventes diferentes: metanol-agua (1:1), etanol-agua (1:1) y agua, y se realizó el procedimiento descrito para realizar la complejación.

Tabla 19. Condiciones de proceso de formación de complejos.

<b>Variable</b>	<b>Condición</b>
Ciclodextrina	Hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina
Método de complejación	Amasado (“Kneading”)
Disolvente	Metanol-Agua (1:1), Etanol-Agua (1:1) y Agua
Proporción molar HCTZ-Ciclodextrina	1:1
Tiempo y temperatura de secado	50°C x 24hrs
Tiempo de amasado	60 min

#### **2.4.1.5 EVALUACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN**

Una vez formados los complejos de inclusión fue necesario evaluar si la complejación se llevó a cabo de manera adecuada y suficiente para poder disolver el principio activo en la dosis requerida.

Se evaluaron los tres complejos de inclusión formados hasta el momento: con disolvente metanol-agua, etanol-agua y agua (Condiciones especificadas en la Tabla 19), una mezcla física de la hidroclorotiazida con la HP- $\beta$ -Ciclodextrina, la cual fue preparada únicamente poniendo en contacto ambos reactivos en polvo y mezclando vigorosamente hasta observar una mezcla homogénea. Además, por separado, se analizó la hidroclorotiazida en su estado natural y la HP- $\beta$ -Ciclodextrina. Los métodos instrumentales de evaluación fueron los siguientes.

##### **2.4.1.5.1 ESPECTROSCOPÍA UV**

En primer lugar se evaluó la cantidad de principio activo complejado mediante espectroscopia de UV. Cada complejo se evaluó por triplicado agregando un exceso de cada uno en 2 mL de agua destilada y se colocó en agitación horizontal durante 24 horas a temperatura ambiente (25°C), asegurando que en cada tubo existiera un precipitado al final de la prueba lo que indica que llegó al equilibrio. Cada uno se filtró con una membrana Millipore de tamaño de poro de 0.22  $\mu$ m y el filtrado se evaluó en el espectro de absorción UV, realizando las diluciones pertinentes, posteriormente se calculó la concentración de cada una, utilizando como referencia una curva patrón de hidroclorotiazida.

#### 2.4.1.5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

La espectroscopía de infrarrojo (IR) se basa en la medición de la absorción de la radiación infrarroja debida a su interacción con los enlaces de los grupos funcionales en las moléculas orgánicas. La complejación al estar mediada por formación de puentes de hidrógeno y pérdida de moléculas de agua, puede evidenciarse mediante esta prueba. La técnica particularmente empleada en este caso se conoce como Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FTIR por sus siglas en inglés), debido a que el aparato utilizado se conoce como Espectrómetro por Transformadas de Fourier, existe otro espectrómetro de infrarrojo conocido como espectrómetro dispersivo, sin embargo, el primero tiene un gran número de ventajas como un tiempo de análisis más corto, un espectrograma libre de bandas de emisión de la muestra y es un método más suave con la muestra. La técnica de muestreo elegida fue por Reflectancia Total Atenuada (ATR por sus siglas en inglés), la cual se produce cuando una radiación infrarroja entra en un cristal ATR transmisor y de alto índice de refracción, éste está diseñado para permitir una reflexión interna total que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal que se extiende a la muestra obteniéndose así el espectro de infrarrojo del analito. Es una técnica muy útil; ya que permite el empleo de muestras pequeñas y analizarlas en su estado natural sin tener que aplicarle un tratamiento extra.<sup>26,38</sup>



Fig 10. Equipo utilizado en la prueba de Espectroscopía de Infrarrojo.  
Fuente: USAII. <https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii>

Las condiciones de análisis se obtuvieron del artículo Pharmaceutical Composition of Hydrochlorothiazide:  $\beta$ -Cyclodextrin: Preparation by Three Different Methods, Physico-Chemical Characterization and In Vivo Diuretic Activity Evaluation de Silva, PM., Souza, RA. & Sinisterra, RD.<sup>39</sup> Se utilizó una muestra de aproximadamente 20 mg y el análisis se realizó en un rango de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 2.4.1.5.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés), pertenece a una serie de técnicas instrumentales conocidas como análisis térmicos, éstos permiten determinar propiedades asociadas a cambios físicos o químicos de una sustancia o mezcla en función de la temperatura o del tiempo, mientras la muestra se calienta o enfría mediante temperatura y atmósfera controladas. Estas técnicas pueden utilizarse como pruebas de identidad y pureza debido a que ciertos eventos termodinámicos como los cambios de estado ocurren bajo condiciones de presión y temperatura características para cada compuesto. En este caso la finalidad es identificar interacciones en estado sólido, más específicamente la formación de complejos. Un aparato de calorimetría diferencial de barrido mide la diferencia en el flujo de calor en la muestra.<sup>26</sup>



Fig 11. Equipo utilizado para la prueba DSC.

Fuente: USAII. <https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii>

Al igual que en el caso anterior, las condiciones de análisis fueron obtenidas del artículo de Silva, PM., Souza, RA. & Sinisterra, RD.<sup>39</sup> Se emplearon muestras de 10 mg aproximadamente, las cuales se ingresaron en un calorímetro diferencial de barrido y se operó con una tasa de calentamiento de 2°C/min en un rango de 25°C a 450°C bajo una atmósfera controlada de nitrógeno.

#### 2.4.1.5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS

Conocida como XRD por sus siglas en inglés, esta técnica sirve para identificar el estado sólido de una sustancia que puede clasificarse como amorfo, semicristalino o cristalino, lo que depende de las fuerzas interatómicas de la molécula. Esto es relevante en la formación de complejos, debido a que se sabe que entre más cristalina sea la conformación de la molécula es más difícil y lenta su solubilidad en agua. Todos los compuestos producen un patrón característico de difracción de rayos X al irradiar la muestra con un haz de rayos X por lo que también puede servir como método de identificación. Los rayos X al incidir en un polvo cristalino, éste se difracta en varias direcciones y el sólido actúa como una red de difracción tridimensional ante esa radiación lo cual da el diagrama de difracción observado.<sup>26</sup>



Fig 12. Equipo utilizado en la prueba de difracción de rayos X de polvos.  
Fuente: USAII. <https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii>

Para esta prueba, las condiciones de análisis también fueron tomadas del artículo de Silva, PM., Souza, RA. & Sinisterra, RD.<sup>39</sup> Se utilizaron muestras de 120 mg aproximadamente y se ingresaron en un difractómetro de rayos X de polvos, en un rango de 4° a 60° 2θ por un tiempo total de la prueba de 20 minutos.

#### **2.4.1.5.5 SOLUBILIDAD DE HIGUCHI**

Se realizó una evaluación del incremento de la solubilidad del principio activo por acción de la ciclodextrina con un método que se conoce como Solubilidad de Fases o Método de Higuchi.<sup>17</sup> Para esta prueba, se colocó en tubos de ensayo con aproximadamente 5 mL de agua, cantidades ascendentes de ciclodextrina en concentraciones desde  $1 \times 10^{-1}$  M hasta  $1 \times 10^{-5}$  M, en todos los casos se agregó aproximadamente 10 mg de hidroclorotiazida y se dejó en agitación horizontal a temperatura ambiente (25°C) durante 24 horas hasta alcanzar el equilibrio, evidenciado por la presencia de un precipitado del fármaco al final de la prueba. Después, se filtró con una membrana Millipore de 0.22 μm de poro y se efectuó una determinación por medio de espectroscopía de UV realizando las diluciones pertinentes. Para calcular la concentración en cada caso, se utilizó una curva patrón de hidroclorotiazida; y se graficaron estos resultados de concentración con lo que es posible determinar la solubilidad que se puede obtener del complejo inclusión formado y la relación molar más óptima para llevar a cabo la complejación.

#### **2.4.1.6 EVALUACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN FINAL**

Los complejos formados con la relación molar final (5:1) se evaluaron mediante espectrometría UV utilizando las metodologías ya descritas y posteriormente también fueron sometidos a las pruebas de Infrarrojo, DSC y Difracción de Rayos X con la metodología y condiciones mencionadas anteriormente.

#### **2.4.1.7 COMPATIBILIDAD DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON EXCIPIENTES**

Se evaluó la compatibilidad del complejo de inclusión formado con el resto de componentes empleados en la formulación. Para este propósito se pesó cada excipiente y se colocó en un frasco ámbar donde se agregó 10 mL de agua y a

esta solución se agregó el complejo de inclusión; se evaluó su apariencia, pH y una CCF al inicio y a los 7 días de la prueba con el medio de elución establecido.

#### 2.4.2 MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN

Posterior a la evaluación del complejo, se propuso un método de preparación de la solución (Fig 13). El proceso se llevó a cabo a temperatura ambiente y en condiciones asépticas en campana de extracción.

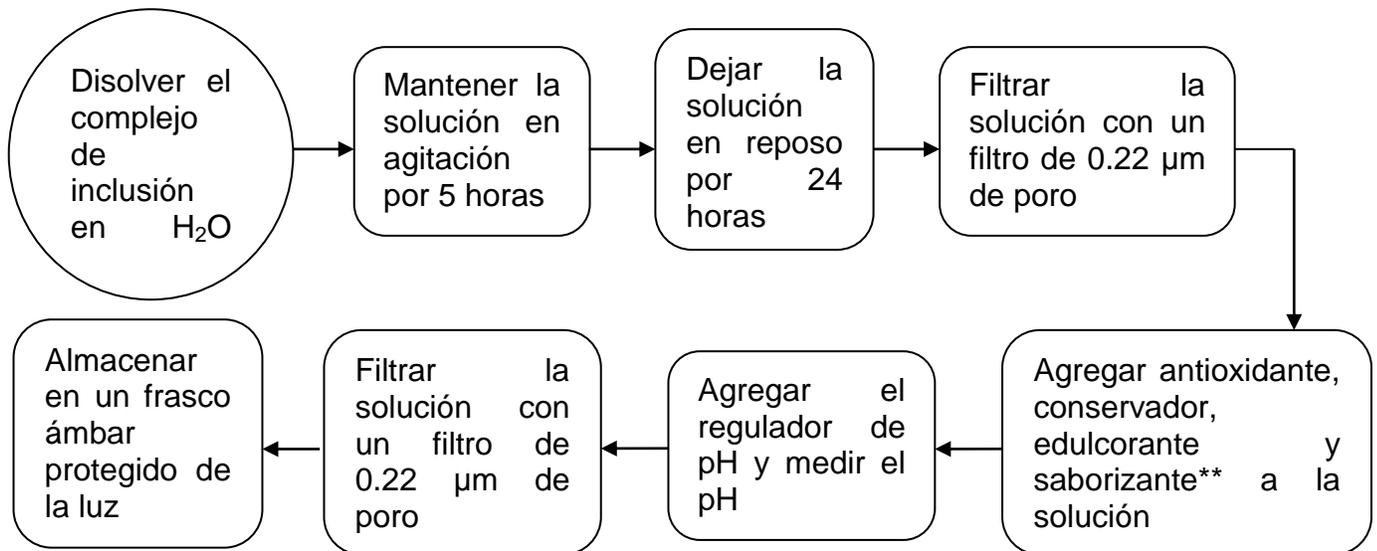


Fig 13. Método final de preparación de la formulación.

\*\* : Excipiente agregado tras el diseño de experimentos.

La formulación se dejó en reposo por 1 semana para evaluar su comportamiento durante este periodo; se evaluó pH, apariencia y CCF al día 0 y al día 7 con la metodología mencionada en las pruebas de degradación (2.3.3).

#### 2.4.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Previo al diseño de experimentos, se fijaron los valores de conservador y antioxidante (0.2% y 0.05% respectivamente).

La metodología empleada para realizar el diseño de experimentos (D.E.) fue Simplex Lattice. Se propuso un diseño de experimentos de 3 componentes (q) y 3 variables de respuesta (n). Se fijaron los niveles altos y bajos para cada uno de los componentes tomando en cuenta el porcentaje de uso de cada excipiente. Para determinar el porcentaje de uso de la ciclodextrina, se utilizó un rango de  $\pm 0.05\%$

a la relación 5:1 (ciclodextrina-principio activo) para evaluar si un pequeño cambio en ésta afecta significativamente la solubilidad del principio activo.

Tabla 20. Componentes del D.E.

<b>Componente</b>	<b>X</b>	<b>Nivel bajo (0)</b>	<b>Nivel alto (1)</b>	<b>Variable respuesta</b>	<b>Prueba control</b>
Buffer	$X_1$	0.1%	2%	pH	Tiras reactivas de pH
HP- $\beta$ -CD	$X_2$	4.9%	5.45%	Solubilidad	Apariencia
Edulcorante	$X_3$	0.005%	0.1%	Sabor	Sensorial

El diseño de experimentos con 10 mezclas de prueba se presenta en la Tabla 21 para un modelo cúbico con sus respectivas proporciones obtenidas de manera aleatorizada; éstas se prepararon en un volumen de 10 mL siguiendo el método de preparación de la solución establecido (2.4.2) y se guardaron en frascos ámbar.

Tabla 21. Diseño de experimentos.

<b>Mezcla</b>	<b><math>X_1</math></b>	<b><math>X_2</math></b>	<b><math>X_3</math></b>	<b><math>Y_{1(resp)}</math></b>	<b><math>Y_{2(resp)}</math></b>	<b><math>Y_{3(resp)}</math></b>
1	1	0	0	pH	Solubilidad	Sabor
2	0	1	0	“	“	“
3	0	0	1	“	“	“
4	1/2	1/2	0	“	“	“
5	1/2	0	1/2	“	“	“
6	0	1/2	1/2	“	“	“
7	1/3	1/3	1/3	“	“	“
8	2/3	1/6	1/6	“	“	“
9	1/6	2/3	1/6	“	“	“
10	1/6	1/6	2/3	“	“	“

Se evaluó la variable respuesta en cada caso con la prueba control especificada al día 0 y una semana después; además se evaluó el principio activo utilizando cromatografía de capa fina con la metodología descrita anteriormente (2.3.2.3). Para llevar a cabo la prueba sensorial, se evaluó la palatabilidad o el sabor de cada una de las mezclas tomando una pequeña porción de la solución y probando su sabor, desechándola y tomando un sorbo de agua para enjuagar la boca entre cada determinación y para evaluar los resultados de sabor se utilizó una escala categórica.

Los resultados obtenidos se analizaron con el software Statgraphics™ para poder obtener la estadística del diseño de experimentos, las superficies de respuesta así como la ecuación en cada caso para poder determinar la formulación con las mejores características y la cual a su vez mejorar de manera más sencilla con la adición de un excipiente extra a la fórmula final.

#### **2.4.4 PRUEBAS DE PALATABILIDAD**

La palatabilidad de la solución se mejoró con el empleo de un saborizante. Como el sabor natural del principio activo es amargo, intensificado por el conservador utilizado, se evaluaron tres saborizantes utilizados específicamente para enmascarar sabores amargos como son: cereza, durazno y naranja con las 3 mezclas del diseño de experimentos que presentaron mejores características. Se evaluó el sabor de la formulación agregando 1 gota del saborizante con la metodología empleada en la prueba sensorial del diseño de experimentos y se evaluó su apariencia.

Se eligieron las dos mezclas con las mejores características y se siguió añadiendo el saborizante para evaluar si un incremento en la concentración de éste, mejoraba el sabor. Para complementar estas pruebas y elegir el saborizante final, se realizaron dos más, por una parte una dilución del saborizante concentrado de cereza para atenuar el picor del concentrado y además se intercambió el primer saborizante de durazno usado por uno sin colorante para evitar riesgo de alergias del paciente al colorante.

#### **2.5 CICLADO TÉRMICO**

Para evaluar la estabilidad preliminar se llevó a cabo la metodología del ciclado térmico. La formulación final se sometió a una temperatura de aproximadamente 4°C durante 24 horas y posteriormente se cambió a una temperatura de 40°C durante 24 horas y así consecutivamente hasta cumplir 15 días.<sup>22</sup>

Se evaluaron dos lotes; el primero con dos envases primarios diferentes (gotero de polietileno y frasco de vidrio ámbar) para determinar si alguno de éstos influye en las características de la formulación. El segundo lote se utilizó únicamente el frasco de vidrio. La temperatura baja se mantuvo en un rango entre 3.5 y 5°C.

En ambos casos se evaluaron las mismas respuestas que en el diseño de experimentos con las pruebas de control establecidas (2.4.3). Para determinar la estabilidad del principio activo en sí, se realizaron cromatografías de capa fina y se siguió la metodología descrita en el apartado de CCF (2.3.2.3) y se usó como blanco hidroclorotiazida en metanol en concentración de 2 mg/mL.

Para determinar la ausencia de partículas microbiológicas o de otra naturaleza; se evaluó la densidad de las formulaciones utilizando un picnómetro. Para esto, se pesó el picnómetro totalmente seco en una balanza analítica y se llenó hasta la mitad del esmerilado con la solución; se le colocó la tapa dejando que la solución llenara totalmente el capilar y se limpió el exceso de la solución para pesarlo. Se calculó la diferencia de masas (Ecuación 7) y se obtuvo la densidad, tomando en cuenta que la capacidad del picnómetro es de 25 mL (Ecuación 8).

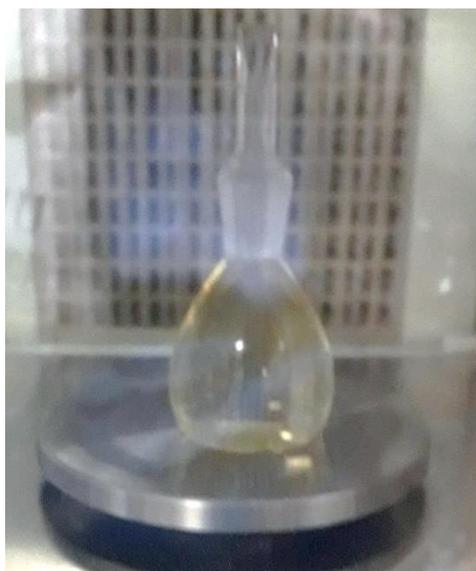


Fig 14. Uso del picnómetro.

$$\text{Masa de la muestra} = \text{picnómetro lleno (g)} - \text{picnómetro vacío (g)}$$

Ecuación 7. Masa de la muestra.

$$\rho = \text{masa de la muestra (g)} / \text{volumen picnómetro (cm}^3\text{)}$$

Ecuación 8. Fórmula de la densidad ( $\rho$ ).

Las pruebas se llevaron a cabo el día 0, el día 8 y el día 15 tras la preparación.

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 JUSTIFICACIÓN DEL DESARROLLO DE UNA SOLUCIÓN ORAL PEDIÁTRICA CON ACTIVIDAD DIURÉTICA

A partir de los datos capturados, fue posible encontrar los grupos terapéuticos con mayor frecuencia de dosificación por el servicio de Farmacia Hospitalaria y Farmacotécnica de un Hospital de Tercer Nivel de Atención. En la Tabla 22 se presentan todos los grupos terapéuticos más dosificados y que se encuentran dentro del 80% acumulado del total de dosis preparadas, así mismo, se presentan en el Gráfico 1 los 5 grupos terapéuticos de mayor frecuencia en la dosificación.

Tabla 22. Grupos terapéuticos más dosificados correspondientes al 80% acumulado.

Grupo terapéutico	No. Dosis	Porcentaje relativo (%)	Porcentaje Acumulado (%)
Antifímico	39112	23.61	23.61
Diurético	26746	16.14	39.75
Antihipertensivo	22263	13.44	53.19
Antiulceroso	9310	5.62	58.81
Tratamiento Hipomagneemia	8242	4.98	63.79
Antibiótico	7236	4.37	68.15
Antiviral	5047	3.05	71.20
Broncodilatador	4778	2.88	74.09
Antiepiléptico	4331	2.61	76.70
Antiácido	4075	2.46	79.16
Requerimiento de sodio	2814	1.70	80.86

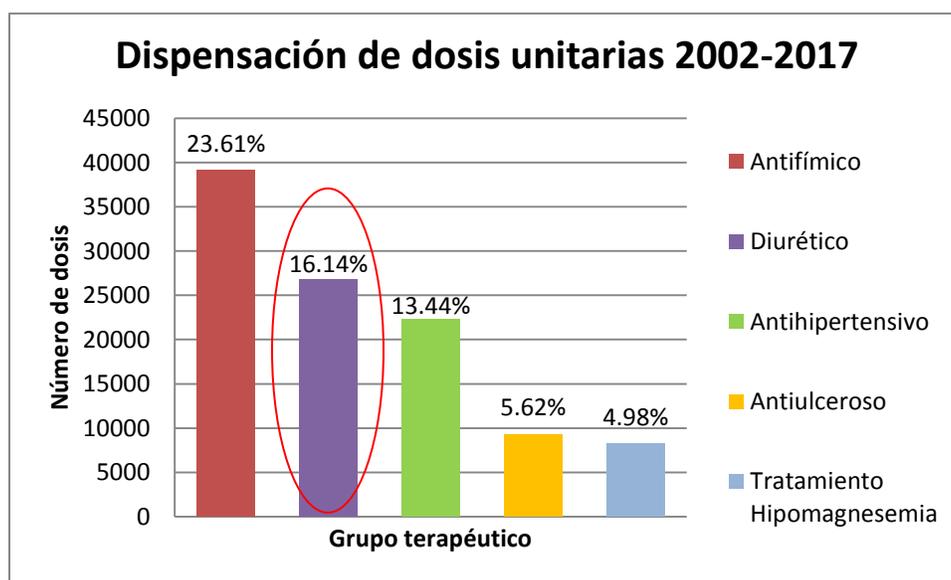


Gráfico 1. Grupos terapéuticos más dispensados en el periodo 2002-2017.

Se encontró que los diuréticos se encuentran en el segundo lugar en frecuencia en la dispensación de dosis unitarias en el periodo de 2002-2017 con un total de 26746 dosis preparadas, lo que equivale al 16.14% del total de las dosis dispensadas por estos servicios; lo que demuestra la alta demanda que tienen los diuréticos en la población infantil y que al requerir el fraccionamiento de medicamentos en presentación para adultos en esta magnitud, existe una gran necesidad del desarrollo de presentaciones específicamente diseñadas para el paciente pediátrico.

Dentro del grupo terapéutico de los diuréticos se analizaron los fármacos con mayor frecuencia de dosificación (Tabla 23).

Tabla 23. Frecuencia de dosificación de los diuréticos.

<b>Fármaco</b>	<b>No. de dosis</b>	<b>Porcentaje relativo (%)</b>
<b>Furosemida</b>	13213	49.40
<b>Espironolactona</b>	10755	40.21
<b>Hidroclorotiazida</b>	2353	8.80
<b>Acetazolamida</b>	295	1.10
<b>Bumetanida</b>	130	0.49
<b>Total</b>	26746	100.00

En vista de que ya se han propuesto formulaciones con los primeros dos principios activos (Espironolactona y Furosemida); se propuso utilizar la hidroclorotiazida como principio activo de la formulación, debido a que se encuentra como el tercer lugar con mayor frecuencia de dosificación; además de que la hidroclorotiazida se utiliza como fármaco de primera elección en enfermedades como la hipercalciuria idiopática y como fármaco de soporte combinado con otros diuréticos.

El total de dosis dispensadas de hidroclorotiazida en el periodo 2002-2017 se presenta en la Gráfica 2.

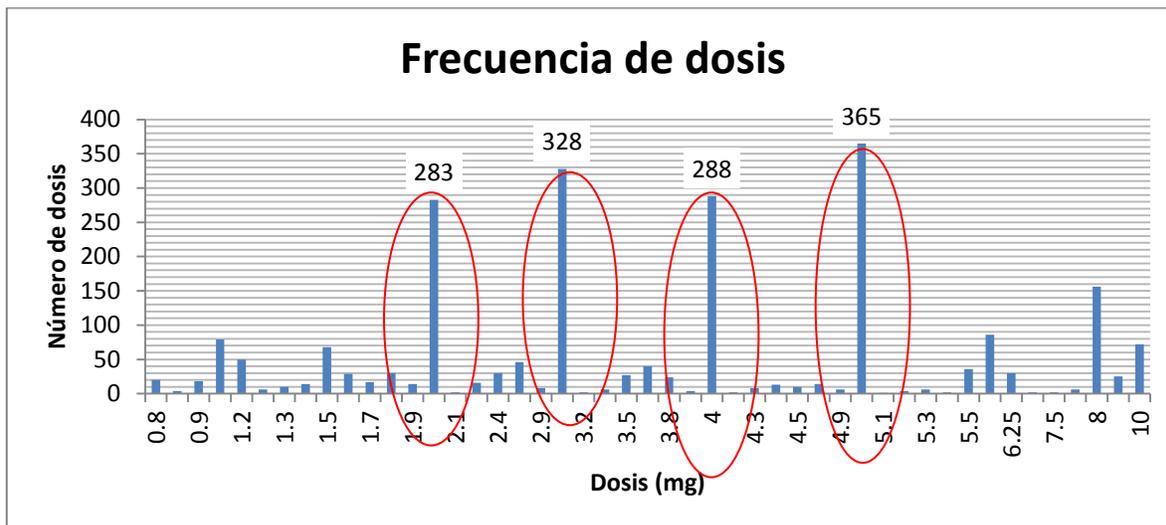


Gráfico 2. Total de dosis dispensadas de hidroclorotiazida en el periodo 2002-2017.

Se encontró que dosis como 2, 3, 4 y 5 mg presentaron un mayor consumo, sin embargo, el rango de dosificación abarca desde 0.8 mg y hasta 10 mg. Con esta información, es posible determinar la mejor dosis para la formulación; así pues, al elegir una dosis de 2 mg/mL de HCTZ se podría cubrir todo el rango de dosis, desde las más pequeñas, administrando con jeringas de 1 mL o goteros hasta las más grandes con ayuda de jeringas de mayor capacidad; además al ser una de las dosis con mayor consumo (283 dosis), se simplifica su dosificación.

### 3.2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A partir de la bibliografía consultada se encontró información esencial del principio activo que guió el desarrollo de la formulación y así mismo permitió determinar aquellas características básicas deseadas para la misma.

Se encontró que la hidroclorotiazida corresponde al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica tipo IV, es decir, que tiene baja solubilidad y baja permeabilidad, por lo tanto fue necesario investigar métodos para aumentar la solubilidad del fármaco y mantenerla a lo largo de todo el proceso de fabricación, almacenamiento y dosificación. A partir de esta información, también se buscaron posibles excipientes adecuados para la formulación, sus características básicas y su porcentaje de uso recomendado, todo esto tomando en cuenta que se utilizarían para una formulación dirigida a la población pediátrica y considerando las limitaciones y precauciones especiales que puedan llegar a tener. Posteriormente, para corroborar las propiedades físicas y químicas del fármaco

reportadas en la literatura, se llevaron a cabo los estudios de pre-formulación pertinentes.

### 3.3 ESTUDIOS DE PRE-FORMULACIÓN

La finalidad de los estudios de pre-formulación fue caracterizar al principio activo de manera adecuada y con esto poder determinar el procedimiento a seguir a lo largo del desarrollo de la formulación pediátrica.

#### 3.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO

##### 3.3.1.1 DESCRIPCIÓN

Tabla 24. Resultados de la prueba de descripción del principio activo.

<b>Característica</b>	<b>Especificación</b>	<b>Dictamen</b>
<b>Apariencia</b>	Polvo blanco cristalino, sin objetos ni partículas extrañas	Cumple

El resultado experimental de la apariencia confirmó que la materia prima utilizada no tenía ningún contaminante macroscópico o la presencia de otras partículas extrañas, así mismo el color observado concuerda con lo reportado en la literatura y no presenta tonalidades amarillentas o de otro color que puedan indicar degradación del principio activo; por lo tanto cumple con su especificación farmacopéica y puede ser utilizado en las pruebas de pre-formulación.

##### 3.3.1.2 SOLUBILIDAD

Se compararon los resultados de solubilidad obtenidos con lo reportado en la FEUM 11<sup>a</sup> Ed. (Tabla 25) con lo cual se determinó si cumplen o no con la especificación reportada en la monografía de la hidroclorotiazida.

Tabla 25. Resultados de las pruebas de solubilidad.

<b>Disolvente</b>	<b>Solubilidad</b>	<b>Dictamen</b>
Metanol	Ligeramente soluble	Cumple
Etanol	Ligeramente soluble	Cumple
Acetonitrilo	Ligeramente soluble	Cumple
Agua	Muy poco soluble	Cumple
Cloroformo	Casi insoluble	Cumple

En todos los casos, las pruebas de solubilidad cumplieron con su especificación. Se puede observar que el principio activo es más soluble en disolventes como metanol o etanol, sin embargo, estos no pueden utilizarse en soluciones orales pediátricas debido a su toxicidad. Lo más recomendable es utilizar agua como vehículo debido a que de esta forma se disminuyen los riesgos a presentar reacciones adversas y es más sencillo poder solubilizar el resto de los excipientes de la fórmula; sin embargo, el principio activo se clasifica como muy poco soluble en agua; por lo tanto, también se realizaron estudios de solubilidad empleando algunos excipientes que son utilizados comúnmente como agentes solubilizantes en las formulaciones orales como una alternativa del vehículo de la solución; descartando de antemano aquellos que no eran adecuados para su uso en pacientes pediátricos (Tabla 26).

Tabla 26. Excipientes propuestos como solubilizantes.

<b>Excipiente</b>	<b>Volumen utilizado (mL)</b>	<b>Resultado</b>
Polietilenglicol	25 mL	No disolvió
Glicerina	25 mL	No disolvió
Tween 20	22 mL	Disolvió el fármaco pero 24 hrs después del almacenamiento se observó precipitado

Los experimentos realizados con estos excipientes no mostraron resultados favorables para ser empleados como vehículo de la formulación por lo que se descartó su uso y se prosiguió con el empleo de agua como vehículo y consideraron otras alternativas para aumentar la solubilidad del principio activo.

### 3.3.1.4 TAMAÑO DE PARTÍCULA

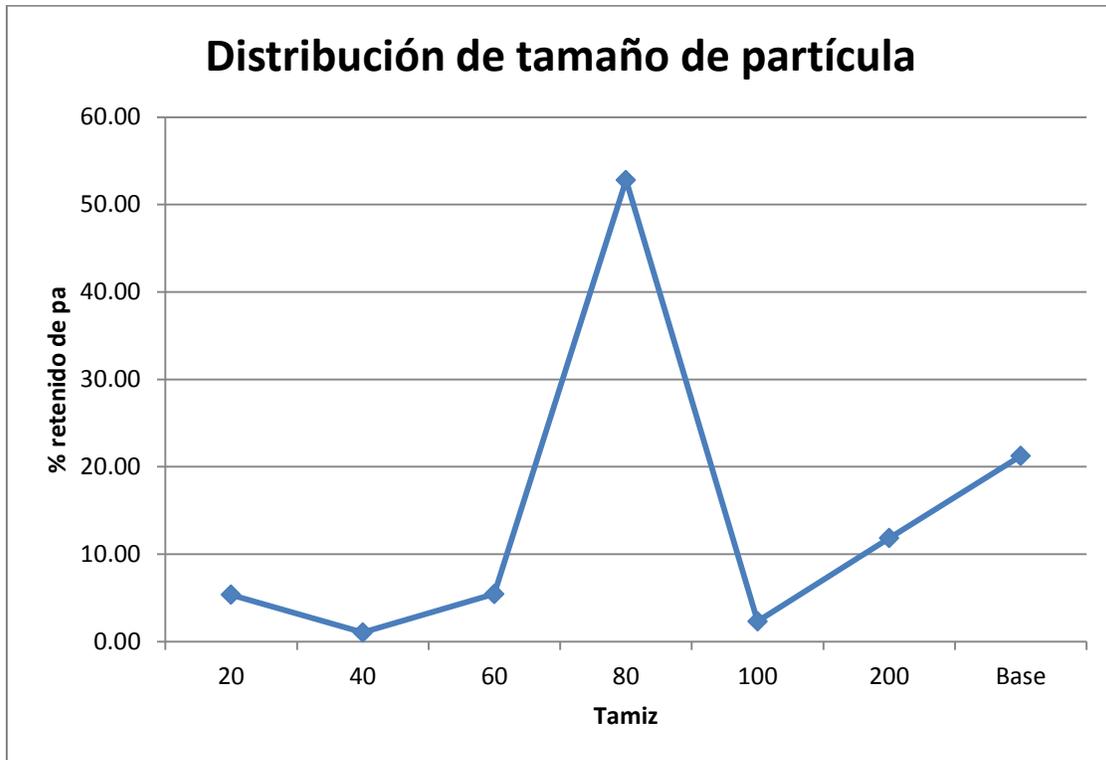


Gráfico 3. Distribución del tamaño de partícula.

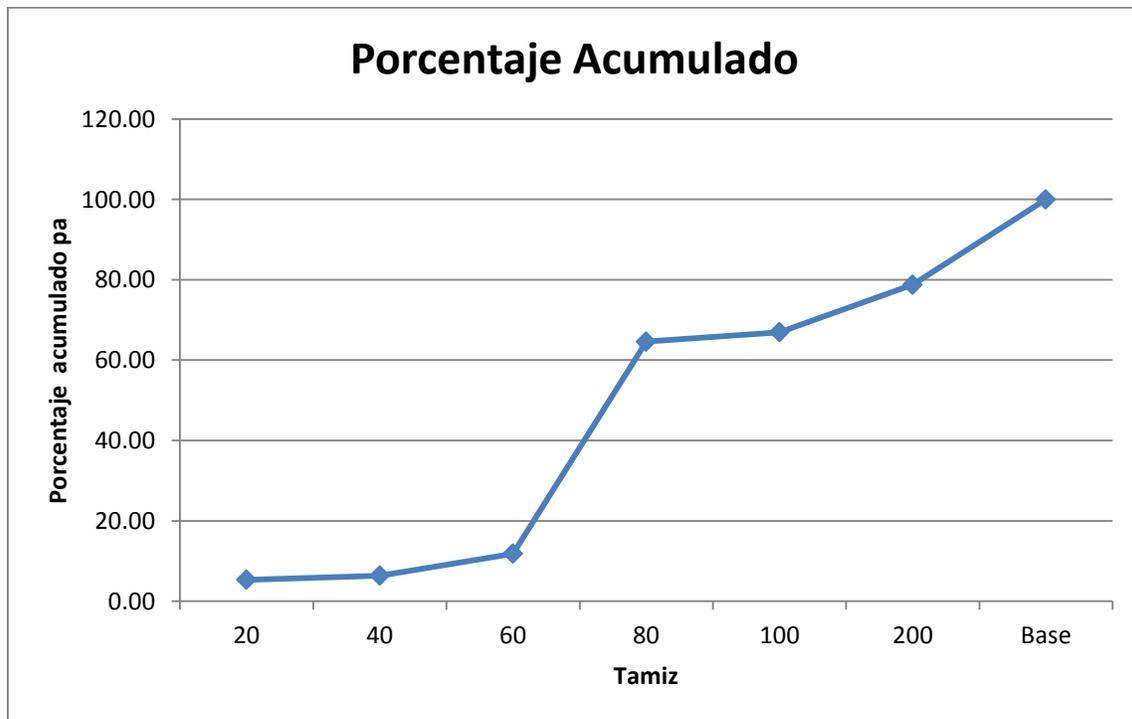


Gráfico 4. % Acumulado de la muestra.

Tabla 27. Resultados promedio de la determinación de tamaño de partícula.

<b>Malla</b>	<b>Tamiz</b>	<b>Porcentaje retenido promedio (%)</b>	<b>Porcentaje acumulado (%)</b>
B	20	5.34	5.34
C	40	1.04	6.38
D	60	5.43	11.82
E	80	52.80	64.62
E'	100	2.31	66.93
G	200	11.83	78.77
	Base	21.23	100.00

En la gráfica de distribución de tamaño de partícula (Gráfica 3) se observa que la mayor proporción del polvo farmacéutico se retuvo en el tamiz 80 lo que quiere decir que el tamaño de partícula mayoritario en la materia prima utilizada se encuentra entre 177 y 250  $\mu\text{m}$  y corresponde a la clasificación de polvo fino.

Se puede observar en la Tabla 27 y la Gráfica 4, que el porcentaje acumulado aumenta drásticamente a partir del tamiz 80, siendo este porcentaje mayor al 80% del total del polvo farmacéutico, lo que significa que más del 80% del principio activo es un polvo fino; lo cual es favorable para la formulación ya que a mayor área superficial en contacto con el disolvente, la disolución será más rápida; así como su posterior absorción en las células epiteliales del tracto gastrointestinal.

### **3.3.2 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Con las pruebas de identificación del principio activo fue posible comprobar la identidad de éste y al mismo tiempo asegurar que no existan impurezas que alteren la formulación final o alguna de las características deseadas de ésta.

#### **3.3.2.1 BARRIDO ESPECTROSCÓPICO DE ABSORCIÓN UV**

Se obtuvo el espectro de absorción de la hidroclorotiazida en una solución en metanol de 10  $\mu\text{g/mL}$ ; así como sus picos máximos con sus respectivas absorbancias.

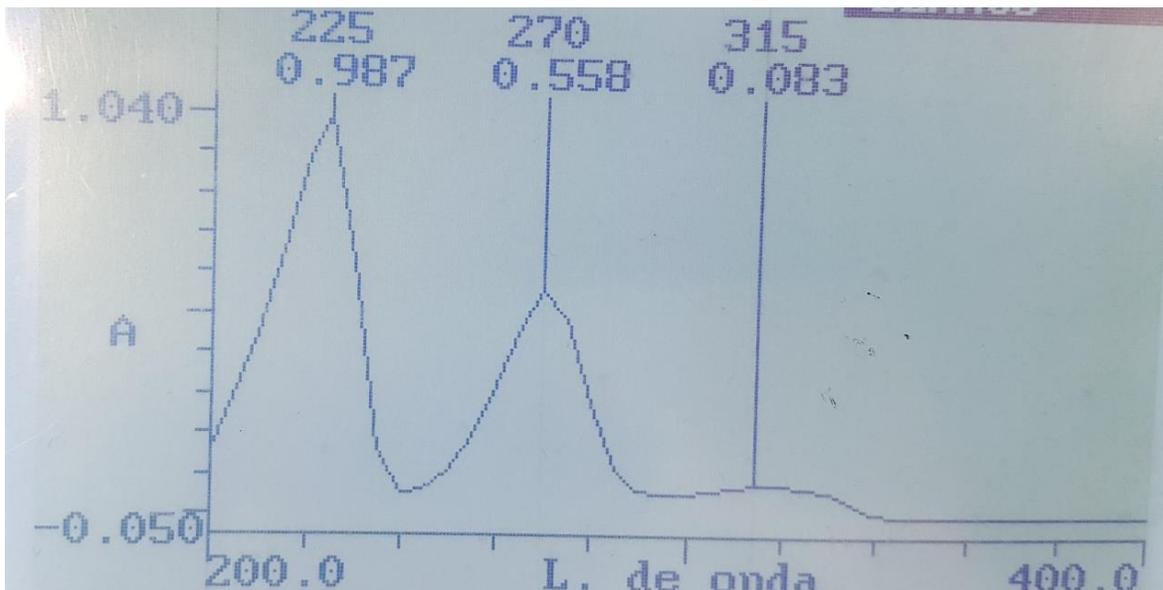


Fig 15. Espectro de absorción para la muestra de hidroclorotiazida (Corrida 3)

Tabla 28. Picos de absorción máxima obtenidos en el barrido espectroscópico de HCTZ

Corrida	Longitud de onda máxima (λ)	Absorbancia
1	225	0.990
	270	0.559
	315	0.083
2	225	0.991
	270	0.560
	315	0.082
3	225	0.987
	270	0.558
	315	0.083

Como se puede observar, los picos máximos del espectro de absorción coinciden con lo reportado en la literatura, así mismo, las absorbancias obtenidas experimentalmente coinciden con las absorbancias teóricas; por lo que puede verificarse que la materia prima es efectivamente hidroclorotiazida.

### 3.3.2.2 PUNTO DE FUSIÓN

El punto de fusión experimental obtenido fue de 260°C el cual a pesar de que es un poco más bajo que los puntos de fusión teóricos, es bastante cercano a la especificación y debido a que fue un valor fijo, es decir no un rango; la posibilidad de que la muestra tenga impurezas es muy baja.



Fig 16. Tipo de aparato de punto de fusión utilizado.  
Fuente: Barnstead Thermolyne.



Fig 17. Capilares utilizados en la prueba de punto de fusión.

### 3.3.2.3 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Los medios de elución 1-4 evaluados no dieron los resultados deseados; ya que se cómo se indica en la tabla 29, la muestra se mantenía en el punto de aplicación o bien era demasiado polar; posteriormente se evaluó un 5to medio de elución el cual dio los resultados deseados obteniendo un Rf de alrededor de 0.7, por lo que fue el que se consideró para realizar las siguientes determinaciones.

Tabla 29. Medios de elución propuestos para la prueba de CCF.

	<b>Fase Móvil</b>	<b>Resultado</b>
1	Etil acetato	Muy polar
2	Etil acetato – Cloroformo (1:1)	Muy poco polar
3	Etil acetato – Hexano (7:3)	Muy polar
4	Cloroformo – Metanol (9:1)	No corrió la muestra
5	Etil acetato – Metanol – Ácido acético glacial (28:1:0.5)	Medio elegido

$$R_f = \frac{4.5 \text{ cm}}{6.4 \text{ cm}} = 0.703$$

Cálculo del factor de retención.

Tabla 30. Resultados experimentales CCF.

<b>Prueba</b>	<b>Rf</b>
Teórico	0.73
Experimental	0.703



Fig 18. Cromatoplaaca revelada en luz UV.

Los resultados obtenidos con la prueba de CCF, en el medio de elución elegido (5) correspondieron con lo encontrado en la literatura (Tabla 30). El punto de aplicación en la Fig 18 no se observó barrido, desplazado ni tenue; esto sumado a los resultados de la espectroscopía UV y punto de fusión, es posible asegurar que la materia prima empleada es la hidroclorotiazida.

### 3.3.3 ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

En la Tabla 31 se pueden observar los resultados obtenidos de las pruebas de degradación del principio activo. No se observaron diferencias significativas entre las soluciones expuestas a la luz y las no expuestas, con estos resultados y por cuestiones precautorias se prefiere mantener la formulación protegida de la luz.

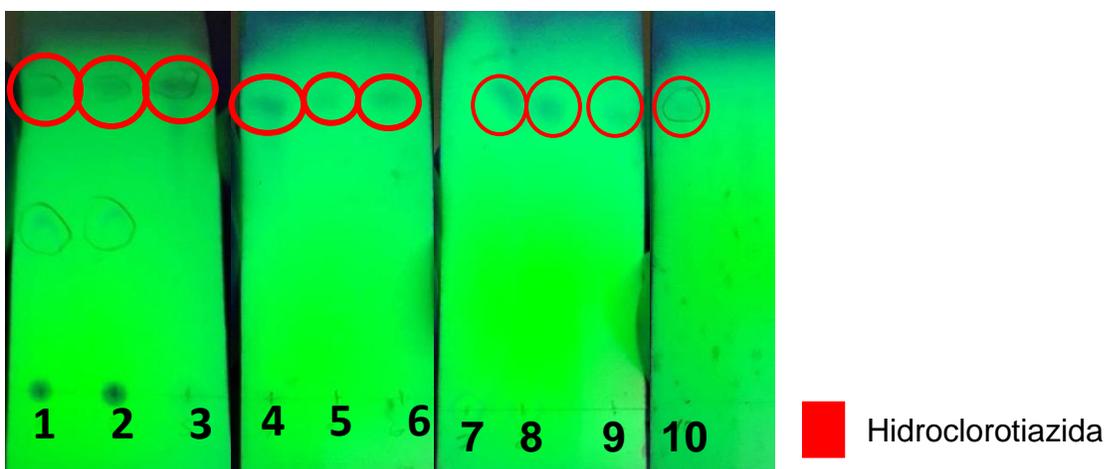


Fig 19. CCF degradación del principio activo. Día 0. 1. HCl 0.1 N c/luz, 2. HCl 0.1 N s/luz, 3. NaOH 0.1 N c/luz, 4. NaOH 0.1 N s/luz, 5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3% c/luz, 6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3% s/luz..

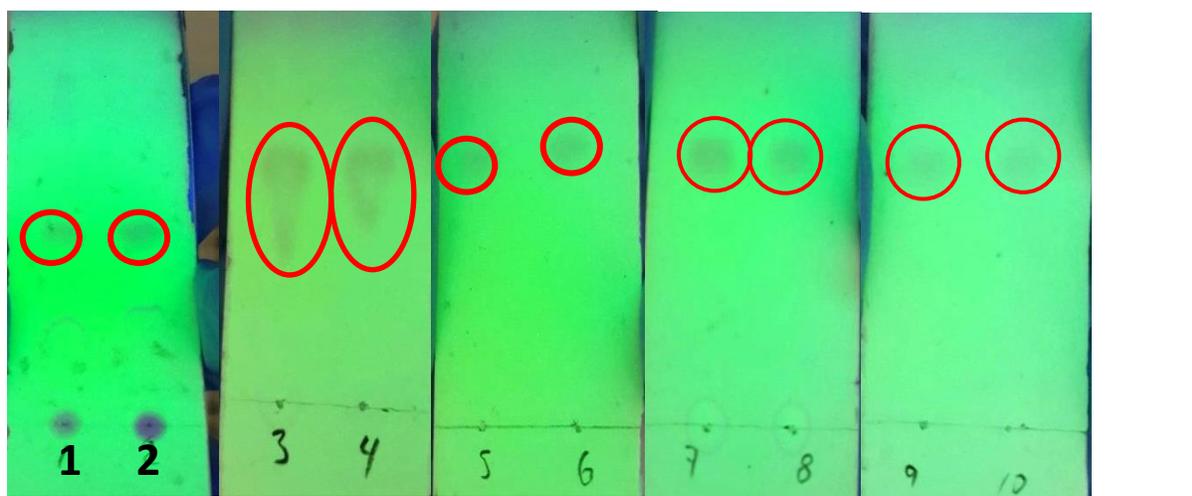


Fig 20. CCF degradación del principio activo. Día 7. 1. HCl 0.1 N c/luz, 2. HCl 0.1 N s/luz, 3. NaOH 0.1 N c/luz, 4. NaOH 0.1 N s/luz, 5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3% c/luz, 6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3% s/luz..

Tabla 31. Resultados de las pruebas de degradación del principio activo.

Medio	Condición	pH inicial	pH final	Rf inicial [Fig 19]	Rf final [Fig 20]	Apariencia inicial	Apariencia final
HCl 0.1 N	c/luz	1	1	0, 0.35, 0.71	0, 0.2, 0.5	API insoluble	API insoluble
	s/luz	1	1	0, 0.35, 0.71	0, 0.23, 0.5	API insoluble	API insoluble
NaOH 0.1 N	c/luz	13	13	0.71	0.6	API soluble	API soluble
	s/luz	13	13	0.7	0.6	API soluble	API soluble
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	c/luz	4	4	0.7	0.7	API insoluble	API insoluble
	s/luz	4	4	0.7	0.7	API insoluble	API insoluble
H <sub>2</sub> O	c/luz	5	5	0.67	0.71	API soluble	Ligero precipitado
	s/luz	5	5	0.68	0.71	API soluble	Ligero precipitado
MeOH	c/luz	-	-	0.7	0.71	API soluble	API soluble
	s/luz	-	-	0.7	0.71	API soluble	API soluble

\*c/luz: expuesto a la luz solar; s/ luz: en frascos ámbar protegido de la luz solar.

En las Fig 19 y 20, el Rf de 0.7 corresponde a la hidroclorotiazida; se puede observar que los Rf de inicio y final presentaron una diferencia en medio básico, pues se ve un barrido de las manchas, que representa la degradación del principio activo, así como en medio ácido donde el Rf final fue menor que el inicial estando en 0.5 y el Rf de 0.35 que corresponde a un producto de degradación por acción del ácido también disminuyó a 0.2; indicando inestabilidad de la HCTZ en pH extremos ácidos y básicos.

Los pH de inicio y final de la prueba se mantuvieron constantes. En cuanto a la apariencia, se observó que la HCTZ es soluble únicamente en medio básico y en metanol como lo indica su monografía, esta información es útil para la formulación debido a que este resultado muestra que a pH más básico su solubilidad aumenta mientras que a pH más ácidos, disminuye. Así mismo, se comprobó la baja solubilidad del principio activo en medio acuoso hacia el final de la semana a pesar de que al inicio se solubilizó totalmente.

### 3.3.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

Para efectuar estas pruebas se utilizó el porcentaje de uso máximo de cada excipiente (Tabla 32).

Tabla 32. Resultados de las pruebas de compatibilidad con excipientes.

Excipiente	% de uso	pH inicial	pH final	Rf inicial	Rf final	Apariencia inicial	Apariencia final
Regulador de pH	2.0%	2	2	0, 0.73	0, 0.69	API soluble	Ligero precipitado
Antioxidante	0.1%	5	5	0, 0.73	0, 0.69	API soluble	API soluble
Conservador 1	0.5%	7	7	0.73	0.69	API soluble	Partículas suspendidas
Conservador 2	2.0%	7	7	0.73,0.83	0.69, 0.8	API soluble	Partículas suspendidas
Edulcorante 1	0.3%	5	5	0.73	0.69	API soluble	Partículas suspendidas
Edulcorante 2	0.2%	5	5	0.73	0.69	API soluble	API soluble

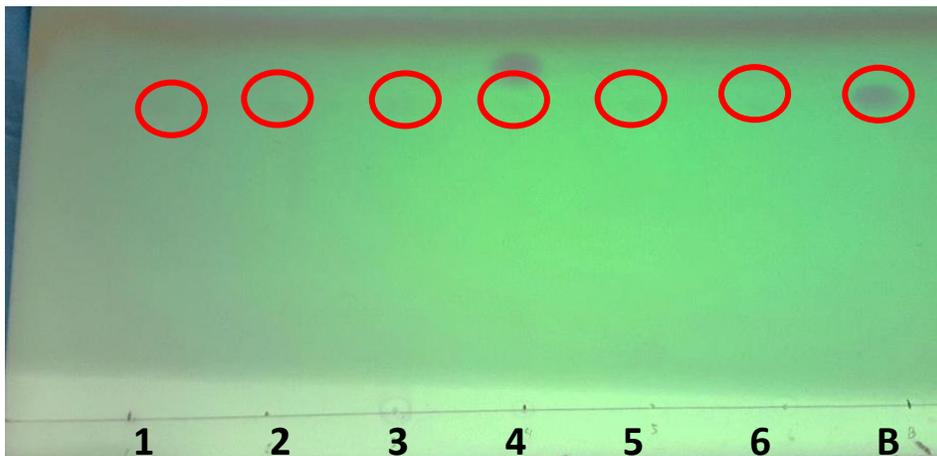


Fig 21. CCF de prueba de compatibilidad con excipientes. Día 0  
 1: Regulador de pH  
 2: Antioxidante  
 3: Conservador 1  
 4: Conservador 2  
 5: Edulcorante 1  
 6: Edulcorante 2  
 B: Blanco

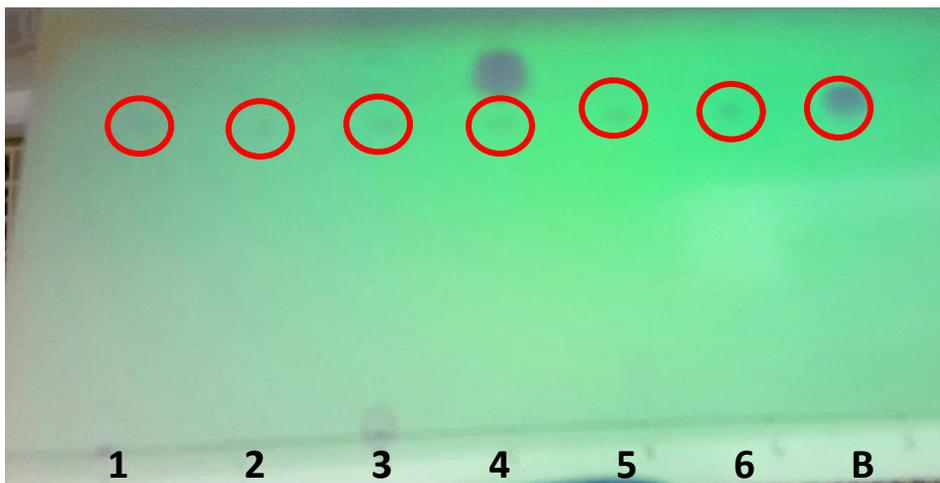


Fig 22. CCF de prueba de compatibilidad con excipientes. Día 7.  
 1: Regulador de pH  
 2: Antioxidante  
 3: Conservador 1  
 4: Conservador 2  
 5: Edulcorante 1  
 6: Edulcorante 2  
 B: Blanco

Como se puede observar, no hay diferencias en el pH de las soluciones entre el inicio y el final de la prueba, por lo cual ninguno de los excipientes utilizados altera este valor. En las cromatografías realizadas, el Rf de ~0.7 corresponde a la hidroclorotiazida, como ya se había especificado. En la prueba número 4 correspondiente al conservador 2, el Rf de ~0.8 corresponde al mismo conservador; estos tampoco presentaron diferencias importantes entre el día 0 y 7 por lo cual ninguno de los excipientes degrada al fármaco y pueden ser utilizados de manera segura en la formulación final. Por sus características y ventajas encontradas en la literatura, se eligieron cuatro de estos seis excipientes iniciales para conformar la formulación final.

Sin embargo, se observó en todos los casos, un ligero precipitado al final de la prueba, esto comprueba que el principio activo es muy poco soluble en agua, por lo cual se reitera la necesidad del uso de un agente que incremente su solubilidad acuosa.

### 3.4 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS

#### 3.4.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Con los resultados obtenidos de los experimentos anteriores, se optó por formar complejos de inclusión para mejorar las características de solubilidad del fármaco en la formulación y se eligieron las ciclodextrinas para este fin.

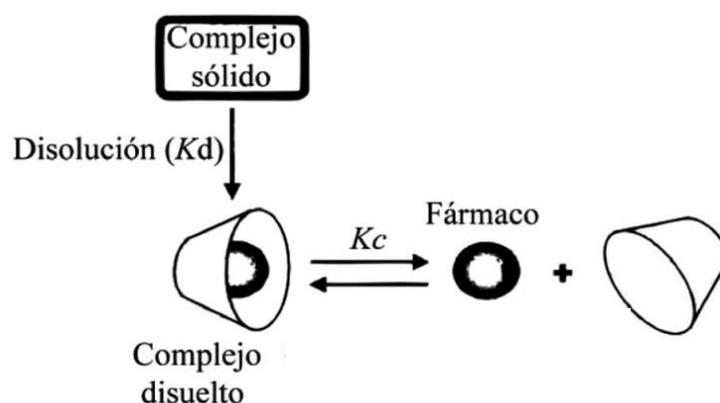


Fig 23. Complejos de inclusión en solución<sup>40</sup>

En solución, los complejos de inclusión se encuentran en equilibrio con la molécula huésped y la hospedadora por separado. Por lo que, una vez formado el complejo de inclusión sólido y al hacer una solución acuosa de éste, el fármaco

complejado se encontrará en equilibrio con el fármaco libre como se observa en la Fig 23.<sup>40</sup>

Por lo tanto, es importante recalcar que en solución, el empleo de ciclodextrinas no se utiliza tal cual para incrementar la solubilidad del principio activo, si no para aumentar de manera considerable la velocidad a la cual se realiza esta disolución en el vehículo.

#### 3.4.1.1 ELECCIÓN DE CICLODEXTRINA

En la literatura se reporta ampliamente el uso de la  $\beta$ -ciclodextrina para formar complejos de inclusión con la hidroclorotiazida con buenos resultados debido a que el tamaño de su cavidad es el más adecuado para complejar este principio activo, sin embargo, esta ciclodextrina en particular presenta varias desventajas como solubilidad muy baja en agua, además de que en altas concentraciones puede presentar toxicidad en el paciente; por lo que se debe tener especial cuidado al estar desarrollando una formulación pediátrica.

Una opción mucho más adecuada es la Hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, la cual presenta una solubilidad en agua considerablemente mayor, además de que conserva sus características de tamaño y diámetro de la cavidad.<sup>17</sup>

#### 3.4.1.2 COMPATIBILIDAD DE CICLODEXTRINAS CON EXCIPIENTES

Se prepararon las 10 mezclas de la ciclodextrina con los excipientes y se dejaron almacenados en reposo durante 7 días en frascos ámbar a temperatura ambiente, se observó su apariencia al día 0 y al día 7 (Tabla 33).

Tabla 33. Apariencia de las mezclas de ciclodextrinas con excipientes.

<b>Mezcla</b>	<b>Apariencia de la solución (Inicio)</b>	<b>Apariencia de la solución. (Final)</b>
1	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
2	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
3	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.

<b>Mezcla</b>	<b>Apariencia de la solución. (Inicio)</b>	<b>Apariencia de la solución. (Final)</b>
4	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
5	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
6	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
7	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
8	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
9	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.
10	Solución totalmente homogénea sin partículas ni precipitados.	Solución homogénea, sin partículas ni precipitados. No se observan cambios.

En todos los casos, la apariencia de las soluciones fue invariable a lo largo de toda la prueba, por lo tanto se comprueba que las ciclodextrinas son físicamente compatibles con todos los excipientes de la formulación y pueden ser empleados en conjunto.

### **3.4.1.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN**

Para discernir entre los métodos de preparación de los complejos de inclusión, se tomó en cuenta principalmente el rendimiento del complejo obtenido, buscando el más alto posible; además se tomó en cuenta las características de cada proceso de preparación, así como puntos críticos de la metodología como tiempo de preparación, equipo, materiales, etc.

Tabla 34. Comparativa entre los métodos de preparación de complejos de inclusión

<b>Método de preparación</b>	<b>Rendimiento</b>	<b>Observaciones respecto al método</b>
Co-precipitación	4.37%	Es un método que requiere mucho tiempo en la agitación y no se observó una disolución total del principio activo, lo cual influyó en el proceso de filtración; por otro lado se observó que el tiempo de secado no fue suficiente y se tuvo que aumentar al doble.
Amasado	81.16%	Tiene muchas variables en las condiciones de preparación, sin embargo es un método muy noble; ya que no requiere equipo ni material especializado; además los complejos obtenidos presentaron buenas características físicas. La desventaja es el largo tiempo de secado.
Evaporación	6.37%	Es el método más complejo de todos, debido a que la cristalización puede llegar a ser difícil de realizar; además requiere equipo especial para llevar a cabo la filtración y secado al vacío y este procedimiento puede alargarse. El complejo obtenido se observó como un polvo fino y cristalino, cuyas características no son las más óptimas.

Como puede observarse en la Tabla 34, el rendimiento obtenido con el método de amasado es mayor que los obtenidos con los métodos de co-precipitación y evaporación, esto puede deberse a las condiciones particulares del método, siendo estos dos últimos más complicados y dependientes de un equipo especializado además de que extienden significativamente el tiempo de proceso. Así pues, el método de amasado es el que presenta más ventajas para la preparación de complejos de inclusión. Cabe mencionar que el rendimiento puede mejorarse variando las condiciones de preparación.

#### 3.4.1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN

Tabla 35. Rendimiento obtenido de los CI prueba.

<b>Solvente empleado</b>	<b>Rendimiento</b>
MeOH-H <sub>2</sub> O (1:1)	75.23%
H <sub>2</sub> O	70.92%
EtOH-H <sub>2</sub> O (1:1)	88.58%

Se prepararon los 3 complejos de inclusión, obteniendo sus rendimientos, los cuales fueron muy semejantes. Sin embargo, destaca ligeramente el rendimiento del preparado con el solvente Etanol-Agua.

El método de amasado se divide en dos procesos: en primer lugar el amasado, donde el tiempo, la fuerza de torque y los solventes empleados (tipo y cantidad) determinan la viscosidad de la masa cuyo aumento es una señal de que se está llevando a cabo la complejación; en este punto es posible que la fricción o interacción dada por el solvente etanol-agua durante el amasado promoviera la fuerza de torque más adecuada para la complejación. Posteriormente durante el secado continuo para eliminar las moléculas de agua desplazadas en la complejación, al tener un disolvente con un punto de ebullición bajo pudo contribuir a que este proceso ocurriera de manera más eficiente.

Cabe mencionar que después del secado mientras se colecta el complejo de inclusión del contenedor empleado; se debe tener precaución con el desprendimiento de polvos muy finos que representa otra posibilidad de pérdidas del complejo. La variación en todos estos puntos influye directamente en el complejo de inclusión formado; así como en el rendimiento.

### 3.4.1.5 EVALUACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

#### 3.4.1.5.1 ESPECTROSCOPIA UV

Se realizó la curva patrón de hidroclorotiazida en metanol para obtener las concentraciones de las muestras, ya que la hidroclorotiazida presenta 2 picos de absorción principales, se graficó la curva patrón para ambas longitudes de onda.

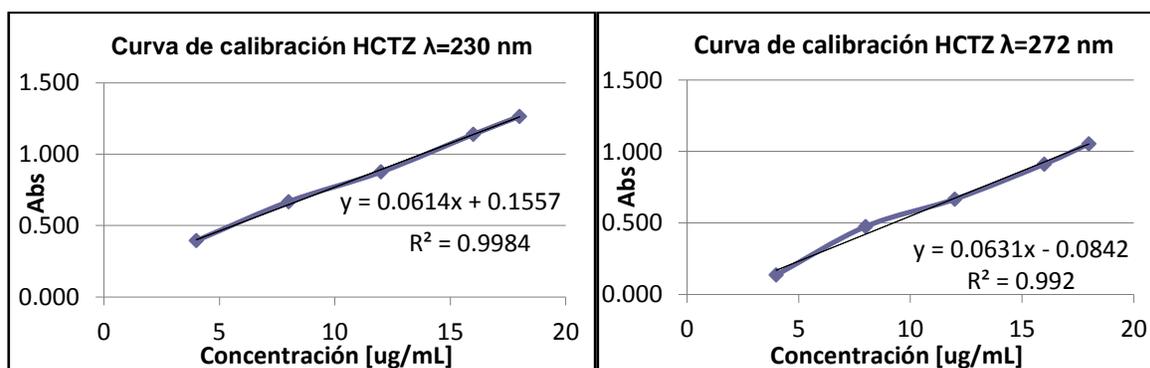


Gráfico 5. Curvas patrón de hidroclorotiazida

Para realizar todas las determinaciones de concentración, se eligió la curva de calibración de la longitud de onda de ~230 nm debido a que tiene un coeficiente de correlación más alto de 0.9984 contra el de 0.992 de la curva de ~272 nm.

Para obtener la concentración de cada muestra a partir de la absorbancia medida, se utilizó la ecuación de la recta (Ecuación 9) donde “y” corresponde al valor de la absorbancia y “x” a la concentración y posteriormente se multiplicó por el factor de dilución que en los casos de la muestra Metanol-Agua y Mezcla Física fue de 10 y para las muestras de Agua y Etanol-Agua fue de 20.

$$y = mx + b$$

$$x = (y - b / m)$$

Ecuación 9. Ecuación de la recta y su despeje

Tabla 36. Resultados de concentración de las muestras de Cl.

<b>Muestra</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (µg/mL)</b>	<b>Promedio (µg/mL)</b>
<b>Metanol-Agua (1:1)</b>	0.637	78.39	69.70
	0.602	72.69	
	0.512	58.03	
<b>Agua</b>	0.904	243.75	281.53
	1.060	294.56	
	1.096	306.29	
<b>Etanol-Agua (1:1)</b>	1.145	322.25	321.60
	1.097	306.61	
	1.186	335.93	
<b>Mezcla Física</b>	0.222	10.80	34.47
	0.336	29.36	
	0.544	63.24	

La concentración de hidroclorotiazida que se pretende alcanzar en la formulación es de 2 mg/mL o bien 2000 µg/mL. Como se puede ver en los resultados de la Tabla 36, el valor más alto de concentración obtenido corresponde a los complejos de inclusión con etanol-agua; aun así no es suficiente para llegar a la dosis deseada.

### 3.4.1.5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo para las 3 muestras evaluadas, así como la hidroclorotiazida, la HP-β-Ciclodextrina y la mezcla física de éstas dos últimas.

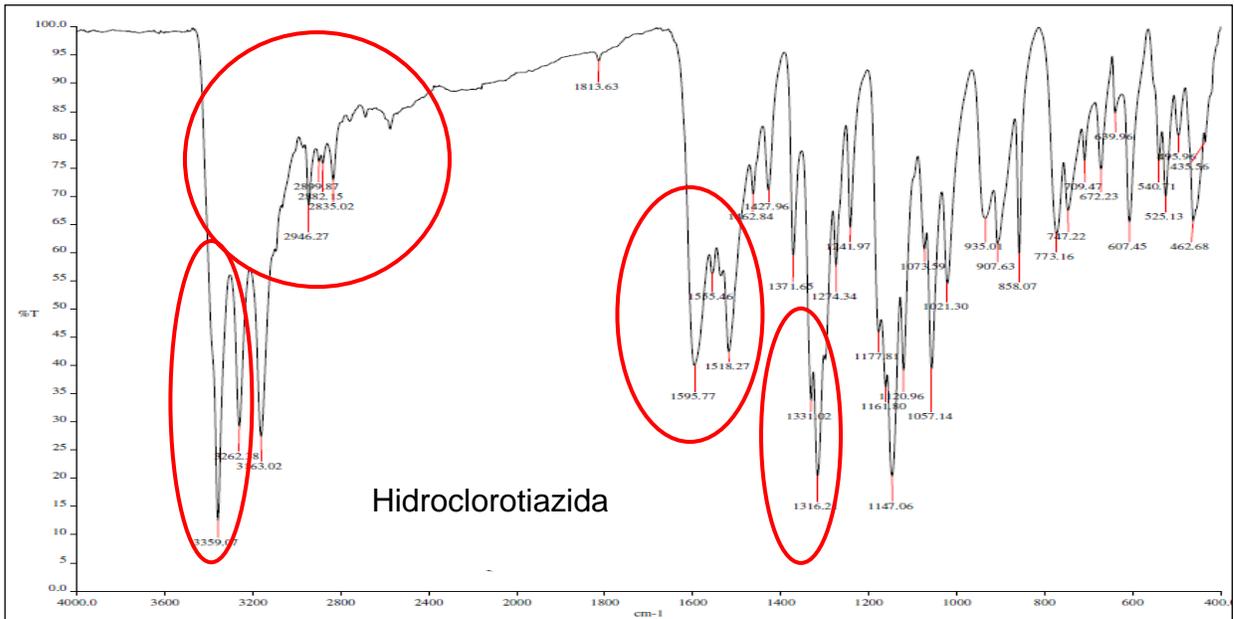


Fig 24. Espectro IR Hidroclorotiazida.

En el espectro IR de la hidroclorotiazida (Fig 24) se pueden observar las bandas en 3359 cm<sup>-1</sup> correspondientes a las aminas secundarias de la molécula, así como el doblete en 1518 y 1595 cm<sup>-1</sup> para la amina primaria; en ambos casos se comprueba esta presencia en 773 cm<sup>-1</sup>. La banda de anillos aromáticos se deforma por la presencia de las aminas, sin embargo se puede ver el ensanchamiento en los 3000 cm<sup>-1</sup>, además de los sobretonos característicos de la sustitución del anillo entre los 1800 y los 2200 cm<sup>-1</sup> y la banda de los 1174 cm<sup>-1</sup>; finalmente se observa una banda intensa en 1316 cm<sup>-1</sup> que corresponde al SO<sub>2</sub>.

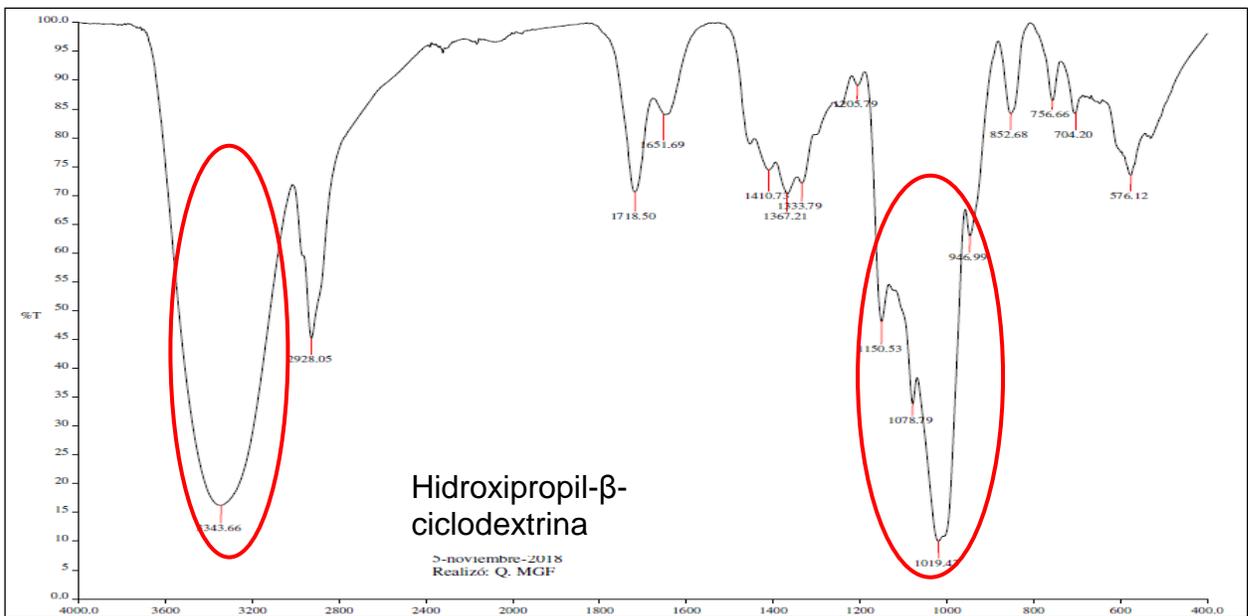


Fig 25. Espectro IR HP-β-Ciclodextrina.

En el espectro IR de la HP- $\beta$ -Ciclodextrina (Fig 25) se pueden observar menos bandas características de la molécula. En primer lugar se observa una banda ancha e intensa en  $3343\text{ cm}^{-1}$  junto con otras bandas más pequeñas en  $1718$  y  $1651\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a un OH polimérico; también se observan bandas más pequeñas en  $2928\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  en la molécula. Finalmente se puede observar otra banda ancha e intensa en  $1019\text{ cm}^{-1}$  la cual indica la presencia de un enlace C-O-C; todo lo anterior correspondiente con la estructura de la molécula.

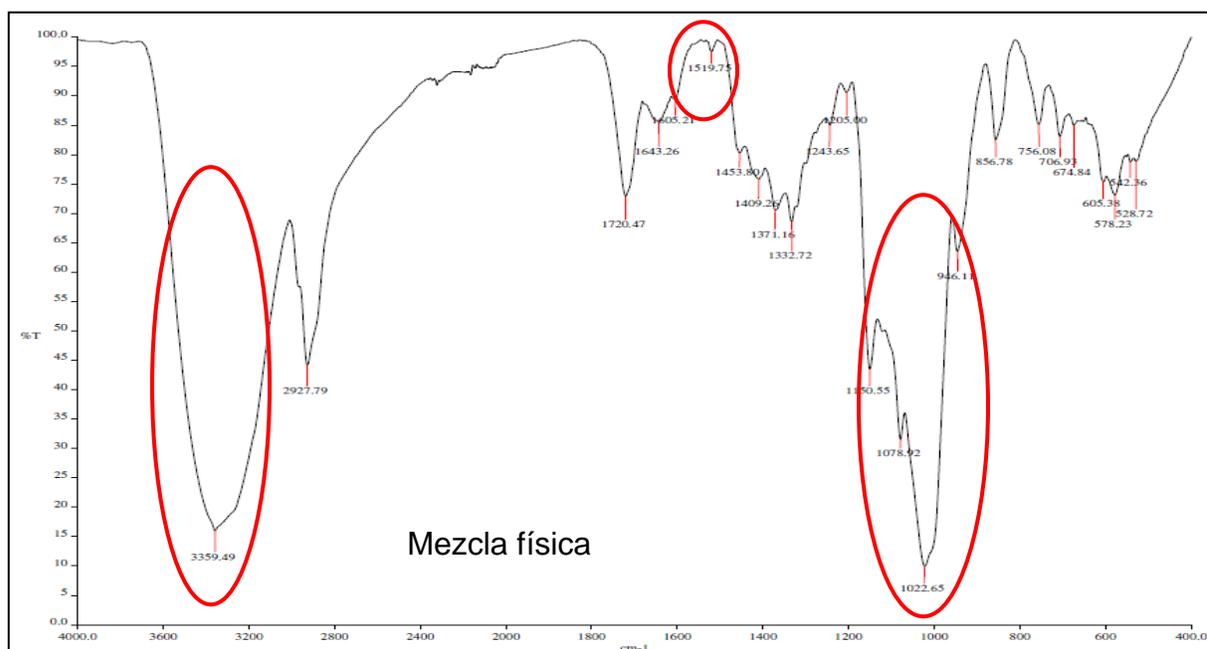


Fig 26. Espectro IR Mezcla Física.

El espectro IR de la Mezcla Física (Fig 26) entre la hidrocortizida y la HP- $\beta$ -Ciclodextrina se observa muy similar al de la HP- $\beta$ -Ciclodextrina sola; la banda ancha del OH polimérico, las bandas de  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  y las de los enlaces C-O-C; la única diferencia perceptible es una pequeña banda en  $1519\text{ cm}^{-1}$  que puede corresponder a aminas de la molécula de HCTZ; este resultado puede deberse a que la muestra tomada de la mezcla física no fue homogénea y por tanto se pudo haber tomado una parte mayor considerable de la ciclodextrina y muy poca HCTZ.

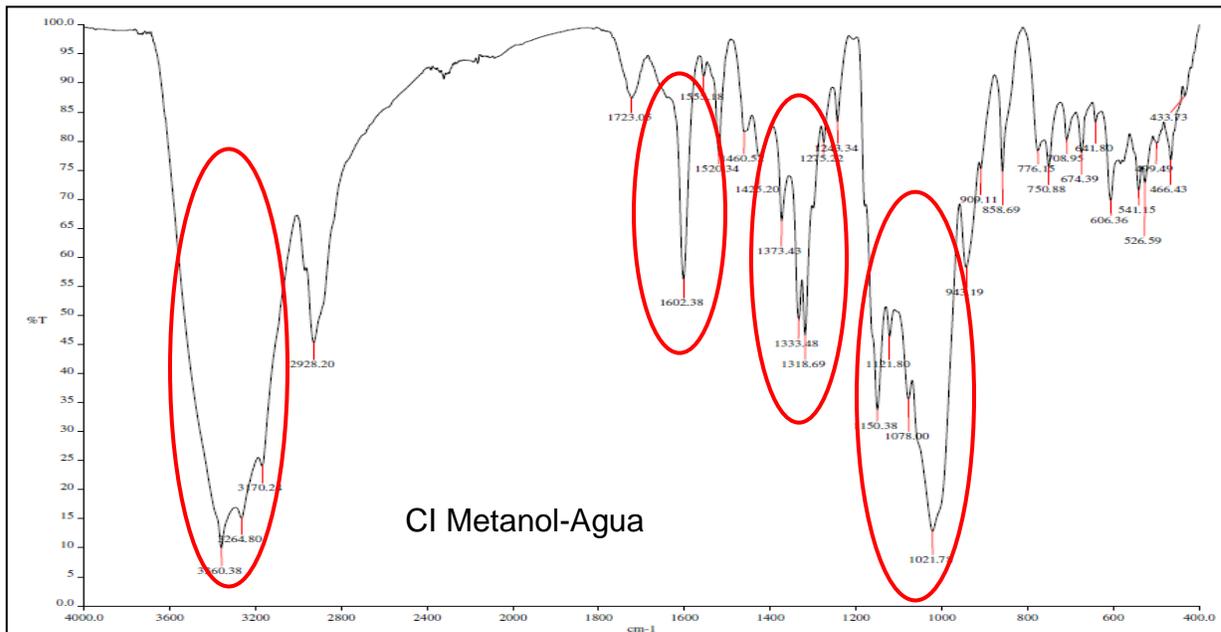


Fig 27. Espectro IR CI Metanol-Agua.

En cuanto al espectro IR del CI preparado con Metanol-Agua (Fig 27), se puede ver algunos cambios respecto a los espectros IR anteriores; las bandas entre 3100 y 3300  $\text{cm}^{-1}$  no se notan con tanta resolución para ser completamente relacionables con un OH, así que es de suponerse que se ven transformadas por la presencia de las aminas que se observaron en el espectro IR de la hidrocortizida sola, lo cual indicaría que el complejo de inclusión no está bien formado; esto se respalda al observar las bandas de  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  en 2928  $\text{cm}^{-1}$ , la banda en 1602  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al OH polimérico y la de 1021  $\text{cm}^{-1}$  del enlace C-O-C todos de la ciclodextrina; pero al mismo tiempo la banda del  $\text{SO}_2$  en aproximadamente los 1300  $\text{cm}^{-1}$  de la HCTZ. Todo lo anterior indicando que el complejo de inclusión pudo no haberse formado totalmente.

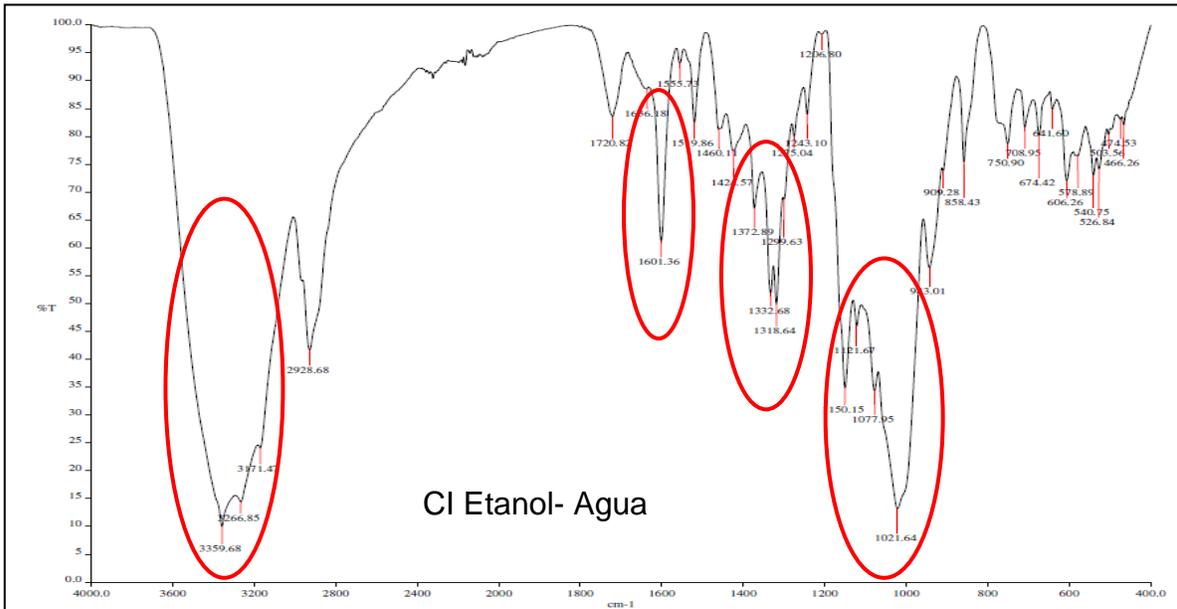


Fig 28. Espectro IR del CI Etanol-Agua.

Para el espectro IR del CI formado con Etanol-Agua (Fig 28), se observa el mismo caso que en el complejo de inclusión anterior, la banda deformada de los 3100 a 3300 cm<sup>-1</sup>, así como bandas correspondientes a la estructura de la ciclodextrina (CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> en 2928 cm<sup>-1</sup>; 1601 cm<sup>-1</sup> del OH polimérico, y en 1021 cm<sup>-1</sup> del enlace C-O-C) y también del SO<sub>2</sub> de la hidroclorotiazida en los 1300 cm<sup>-1</sup>, por lo que en este caso también se sospecha que el complejo de inclusión no se haya formado en su totalidad de la manera adecuada.

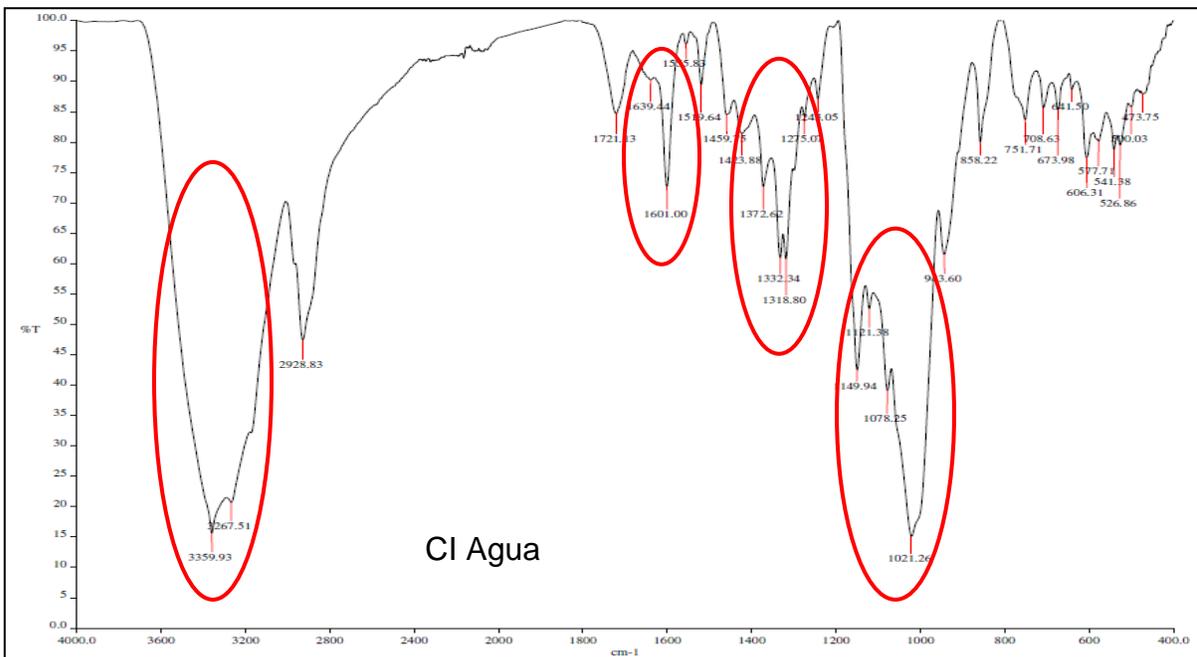


Fig 29. Espectro IR del CI Agua.

Por último, el espectro IR del CI preparado con Agua (Fig 29) presentó el mismo comportamiento que en los dos casos anteriores, se observó la banda deformada en los  $3200-3300\text{ cm}^{-1}$ ; además de las bandas de la estructura de la ciclodextrina en  $2980\text{ cm}^{-1}$  para el  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ ,  $1601\text{ cm}^{-1}$  del OH polimérico y en  $1021\text{ cm}^{-1}$  del enlace C-O-C, así como la banda del  $\text{SO}_2$  de la HCTZ en los  $1300\text{ cm}^{-1}$ , aunque con una intensidad un poco menor que en los casos anteriores; de cualquier forma, también es de sospecharse que en este caso el complejo de inclusión tampoco se haya formado como es debido. Esta posibilidad se debe corroborar con los resultados de las siguientes pruebas.

### 3.4.1.5.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

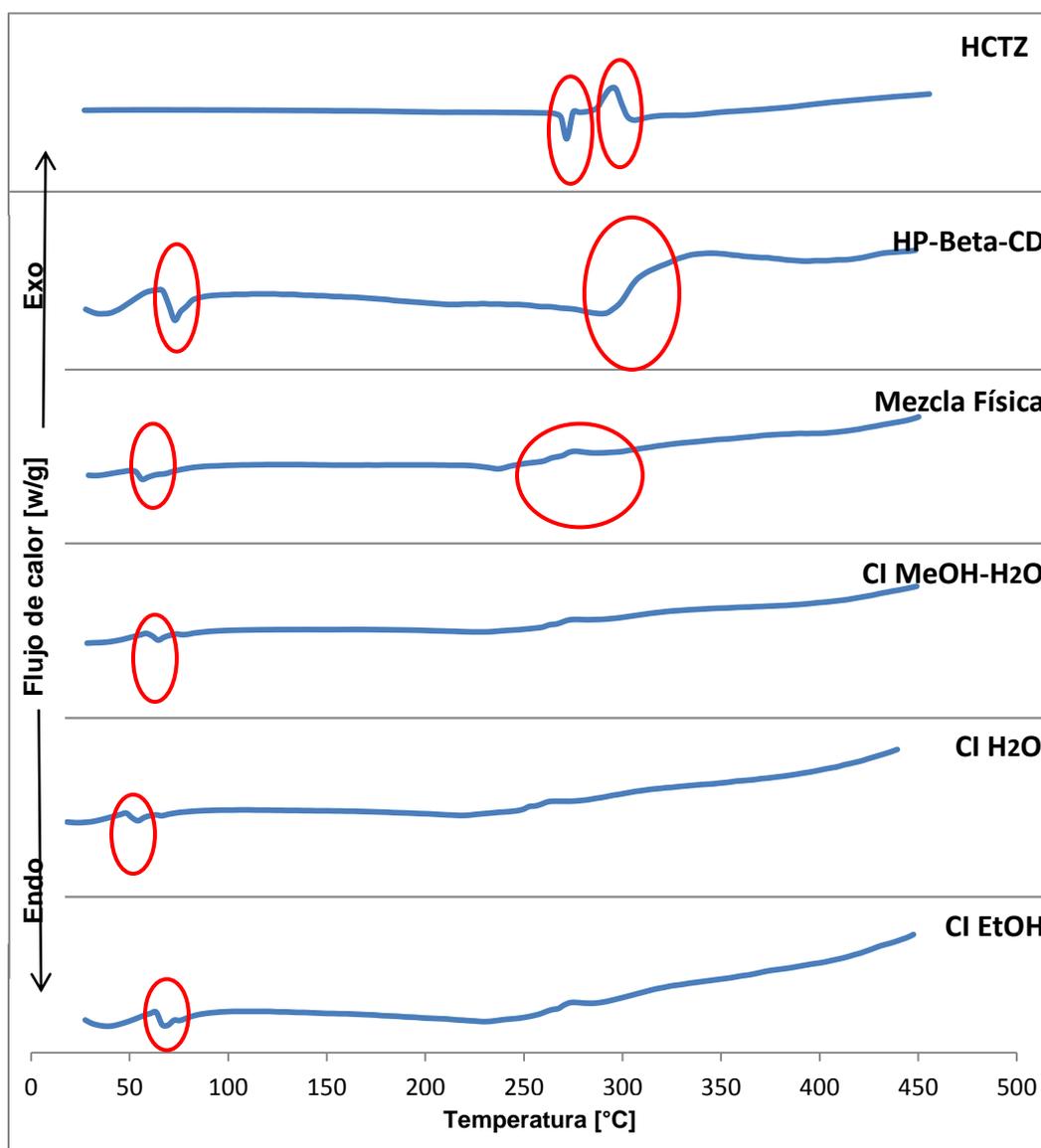


Gráfico 6. Curvas de DSC

En las curvas de DSC (Gráfico 6) se pueden observar los eventos térmicos de cada muestra. En primer lugar está la de HCTZ, en donde se observan dos eventos térmicos, uno en  $\sim 270^{\circ}\text{C}$  y otro en  $\sim 340^{\circ}\text{C}$ , el primero corresponde al punto de fusión y el segundo al punto de descomposición. Posteriormente se encuentra la curva de la HP- $\beta$ -Ciclodextrina, la cual tiene un evento endotérmico en  $\sim 90^{\circ}\text{C}$  que puede representar la pérdida de moléculas de agua por la temperatura aplicada y otro punto alrededor de  $300^{\circ}\text{C}$  que corresponde al punto de fusión y descomposición simultáneamente.

En cuanto a la mezcla física y los tres complejos de inclusión, se puede seguir apreciando la pérdida de moléculas de agua desplazada en  $70-80^{\circ}\text{C}$  lo cual indica que aún tienen moléculas de agua que no fueron eliminadas en la preparación del complejo por lo cual éste no se formó adecuadamente; sin embargo al no tener los puntos de fusión ni descomposición de la hidroclorotiazida en ninguno de los complejos de inclusión más que de manera muy ligera en la mezcla física, se puede concluir que sí existe una interacción molécula huésped - hospedadora por lo que el método es correcto más no las condiciones de preparación.

#### 3.4.1.5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS

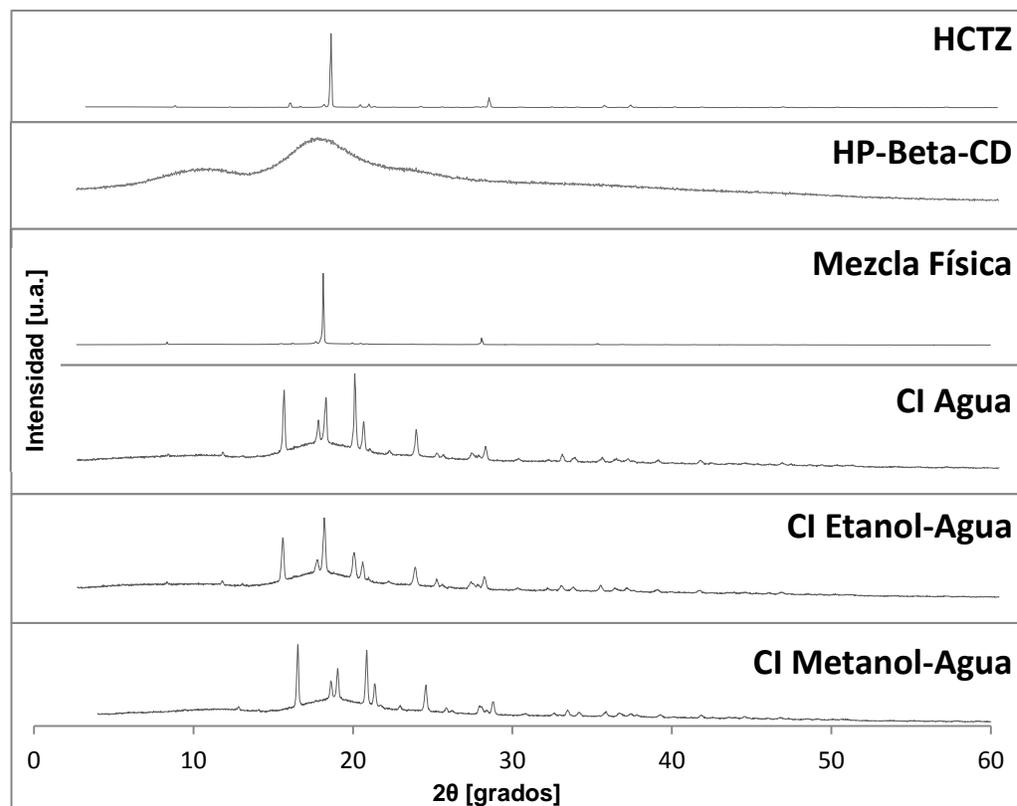


Gráfico 7. Difractogramas de XRD de HCTZ, HP- $\beta$ -CD y CI.

Como se puede observar en el gráfico 7, se obtuvieron los difractogramas para cada muestra, donde se aprecian claramente las diferencias de la estructura sólida de cada muestra y como éstas influyen en la solubilidad del principio activo.

En primer lugar se encuentra la hidroclorotiazida y se ve que tiene una estructura altamente cristalina representada por un pico delgado y bien definido, lo cual se traduce en una baja solubilidad. Por otro lado se ve que la HP- $\beta$ -CD tiene una estructura completamente amorfa y sin pico alguno definido que se ve reflejado en su alta solubilidad en agua. Ahora bien, en cuanto a la mezcla física se observa prácticamente igual a la HCTZ, es decir, con estructura cristalina y por lo tanto muy baja solubilidad acuosa; en cuanto a los complejos de inclusión, la estructura que se refleja en los difractogramas obtenidos es de un sólido semi-cristalino que si bien tiene mejor solubilidad que uno cristalino, podría no alcanzar el grado de solubilidad deseado.

#### 3.4.1.5.5 SOLUBILIDAD DE HIGUCHI

Para comprobar la teoría de que la proporción molar del principio activo con la ciclodextrina debe ser mayor a 1:1 se llevó a cabo la prueba de solubilidad de Higuchi. Para obtener la concentración de HCTZ se utilizó la ecuación de la recta (Ec. 8) y se multiplicó por el factor de dilución que fue de 100 excepto en el último punto en el que se utilizó una dilución de 200 para que entrara dentro de la curva.

Las concentraciones obtenidas mediante la curva de calibración se pasaron a molaridad utilizando el valor de la masa molar de la hidroclorotiazida (297.74 g/mol) y con este valor se graficó la curva de solubilidad respecto a la molaridad de ciclodextrina utilizada en cada tubo.

Tabla 37. Resultados prueba de Higuchi.

<b>Molaridad HP-<math>\beta</math>-CD (M)</b>	<b>Absorbancia HCTZ</b>	<b>Concentración HCTZ (<math>\mu</math>g/mL)</b>	<b>Molaridad HCTZ (M)</b>
1.00E-05	0.327	278.99	9.37E-04
1.00E-04	0.392	384.85	1.29E-03
1.00E-03	0.404	404.40	1.36E-03
1.00E-02	0.659	819.71	2.75E-03
1.00E-01	0.995	2733.88	9.18E-03

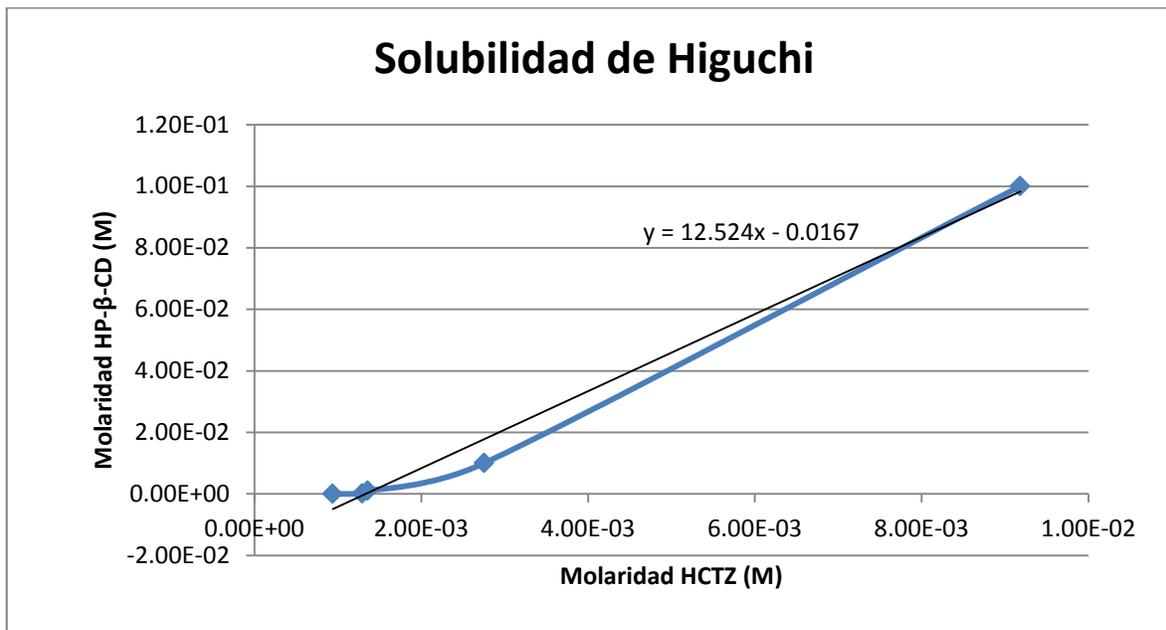


Gráfico 8. Solubilidad de Higuchi.

Se puede observar en el gráfico 8 que se obtuvo una pendiente de 12.524, según Higuchi cuando la pendiente es mayor a 1, la proporción molar entre la ciclodextrina y el principio activo debe ser mayor a 1:1 por lo tanto se confirma la necesidad de aumentar esta proporción.<sup>17</sup>

### 3.4.1.6 EVALUACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN FINAL

Se eligió como solvente Etanol-Agua (1:1) debido a que fue el que presentó mayor concentración de HCTZ en las pruebas de UV y tuvo un buen rendimiento en el resto de las pruebas. Debido a que la concentración de HCTZ obtenida fue de aproximadamente 300 µg/mL (0.3 mg/mL) y se quiere llegar a una concentración de 2 mg/mL, se probaron complejos en proporciones molares de 5:1 y de 10:1. Se obtuvo la concentración de cada uno a partir de la absorbancia, con la curva patrón la ecuación de la recta, multiplicando por el factor de dilución de 250.

Muestra	Rendimiento	Absorbancia	Concentración (µg/mL)	Promedio (µg/mL)
Proporción 5:1	93.61%	0.946	3217.83	3155.40
		0.871	2912.46	
		0.975	3335.91	
Proporción 10:1	93.73%	1.004	3453.99	4005.02
		1.164	4105.46	
		1.250	4455.62	

Tabla 38. Resultados de concentración del CI Final.

En ambos casos se observa que el máximo de HCTZ disuelta es mayor a los 2 mg/mL que se requieren para la formulación por lo cual, pueden usarse cualquiera de las dos proporciones molares probadas, sin embargo, para disminuir el uso de reactivos y por seguridad del paciente pediátrico, se optó por elegir la proporción molar de 5:1 para el resto de las evaluaciones y para la formulación final.

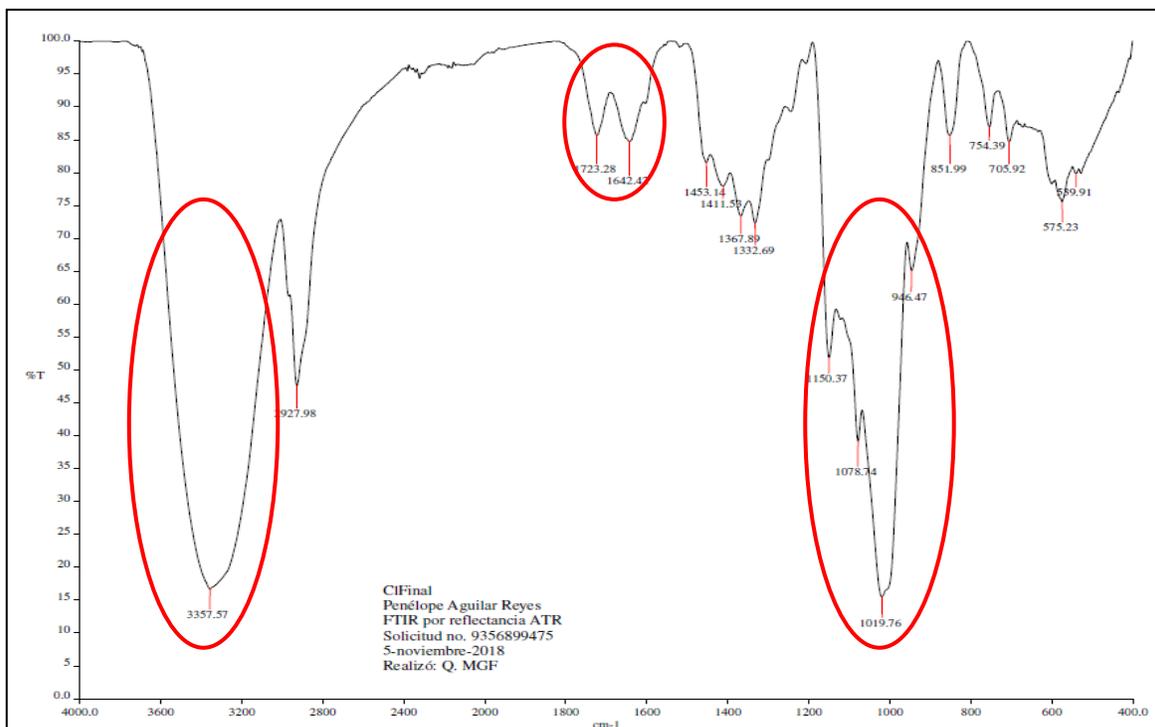


Fig 30. Espectro IR CI Final.

Se obtuvo el espectro IR para el complejo de inclusión final proporción 5:1 mostrado en la Fig 30, en el que se observan diferencias con los espectros de inclusión de proporción molar 1:1; en primer lugar la banda de 3357 cm<sup>-1</sup> del OH polimérico de la ciclodextrina se observa mucho más limpia que en los casos anteriores, indicando la pureza de un solo compuesto, es decir, sin mezcla con la HCTZ libre. Así mismo los picos en 1700-1600 cm<sup>-1</sup> que confirman la presencia del OH polimérico tienen menor intensidad lo cual puede deberse a pérdida de moléculas de agua por la complejación, finalmente se observa la banda de 1019 cm<sup>-1</sup> del C-O-C de la ciclodextrina. Además es de notarse que en este espectro IR ya no se observa la banda del SO<sub>2</sub> de la molécula de HCTZ en la región de los 1300 cm<sup>-1</sup>, lo que es indicativo de una complejación adecuada del principio activo.

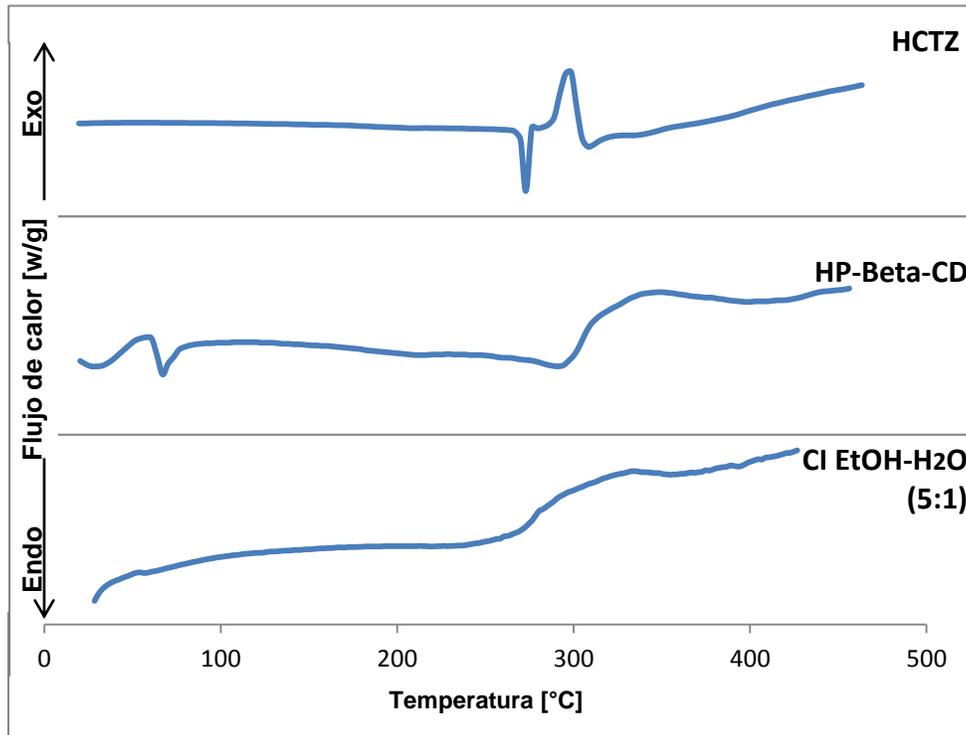


Gráfico 9. Curvas DSC CI Final.

Se obtuvieron las curvas de DSC (Gráfico 9) y al compararla con aquella de la HCTZ y la HP- $\beta$ -CD se puede ver que desaparecen por completo los picos de punto de fusión y descomposición de la HCTZ, así como la pérdida de moléculas de agua a  $\sim 100^\circ\text{C}$  por lo que se puede comprobar, por un lado la interacción molécula huésped - hospedadora; así como la ausencia de moléculas de agua en el complejo de inclusión por una adecuada formación de éste.

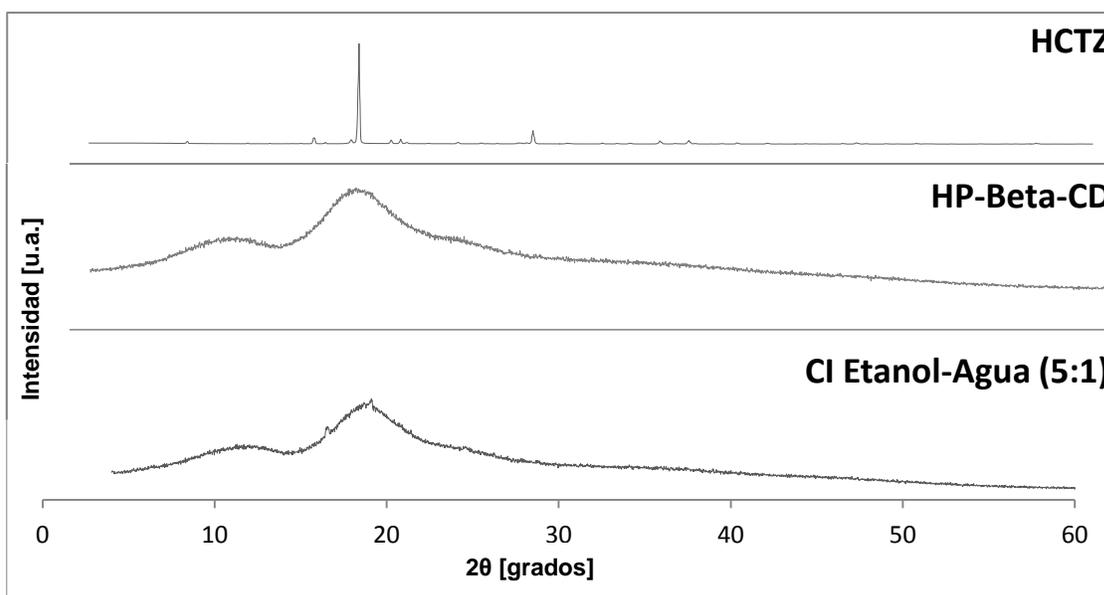


Gráfico 10. Difractograma CI Final.

Finalmente se obtuvo el difractograma del complejo de inclusión final (Gráfico 10) y se colocó en comparación con los difractogramas obtenidos de HCTZ y HP- $\beta$ -CD y como se puede observar se muestra una estructura sólida, más bien amorfa con pequeños picos muy poco prominentes, lo cual indica que este complejo tiene características de solubilidad óptimas que son las que se buscan para la formulación.

### 3.4.1.7 COMPATIBILIDAD DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON EXCIPIENTES

Los resultados del primer método arrojaron una mala apariencia y baja disolución en todos los casos, debido a que el tener un excipiente ya disuelto en el agua antes de agregar el complejo de inclusión, puede afectar directamente la solubilidad de éste último, por lo tanto se propuso realizar otra metodología donde se optó por disolver primero el complejo de inclusión en agua y posteriormente agregar el excipiente a esta solución. Los resultados del segundo método se muestran en la Tabla 39.

Tabla 39. Compatibilidad de CI y excipientes.

<b>Excipiente</b>	<b>Apariencia inicial</b>	<b>Apariencia final</b>	<b>pH inicial</b>	<b>pH final</b>	<b>Rf inicial</b>	<b>Rf final</b>
Antioxidante	Solución ligeramente opaca	Solución traslúcida sin precipitados	6	6	0.69	0.69
Regulador de pH	Solución ligeramente opaca	Solución traslúcida sin precipitados	3	3	0.69	0.69
Conservador	Solución ligeramente opaca	Solución traslúcida sin precipitados	7	7	0.69, 0.79	0.69, 0.8
Edulcorante	Solución ligeramente opaca	Solución traslúcida sin precipitados	4	4	0.69	0.69
Blanco	Solución ligeramente opaca	Solución traslúcida sin precipitados	5	5	0.69	0.69

En todos los casos, el pH y los Rf obtenidos, donde el Rf de 0.69 corresponde a la HCTZ y el de 0.79 al conservador, fueron semejantes al inicio y al final de la prueba, con lo que se demuestra la estabilidad del complejo de inclusión en contacto con los excipientes y pueden usarse juntos adecuadamente en la formulación.

El motivo de que la apariencia inicial sea ligeramente opaca, es debido a que, como se explicó con anterioridad, cuando el complejo de inclusión está en solución hay un equilibrio entre éste y el fármaco libre y por lo tanto al momento de disolverlo, la disolución total no ocurrirá inmediatamente, experimentalmente se observó que un tiempo adecuado para que esto ocurra es agitar entre 5 y 6 horas y posteriormente dejarse 24 horas en reposo, finalmente se recomienda filtrar la solución para eliminar cualquier residuo que no se haya solubilizado.

### 3.4.2 MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN

Tabla 40. Resultados de la solución preparada.

<b>Apariencia inicial</b>	Solución traslúcida sin partículas extrañas ni precipitados
<b>Apariencia final</b>	Solución traslúcida sin partículas extrañas ni precipitados
<b>pH inicial</b>	4
<b>pH final</b>	4
<b>Rf inicial</b>	0.69, 0.8
<b>Rf final</b>	0.69, 0.8

Los resultados de apariencia, pH y los Rf de 0.69 y 0.8 de la HCTZ y el conservador respectivamente, no se alteran durante la prueba por lo que la solución propuesta mantiene su estabilidad el método de preparación empleado es adecuado.

### 3.4.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Las 10 mezclas preparadas fueron evaluadas al día 0 y al día 7. La evaluación de la apariencia y el sabor se realizó de manera categórica\*. Los resultados se muestran en la Tabla 41.

Tabla 41. Resultados de los diseños de experimentos.

Mezcla	pH inicial	Apariencia inicial	Sabor inicial	Rf inicial	pH final	Apariencia final	Sabor final	Rf final
1	4	+++++	+ Muy amargo	0.7, 0.83	4	+++++	+ Muy amargo	0.7, 0.83
2	4	+++++	+ Muy amargo	0.7, 0.83	4	+++++	+ Muy amargo	0.7, 0.83
3	4	+++++	+++ Ligera sensación amarga	0.7, 0.83	4	+++++	+++ Ligero sobretono amargo	0.7, 0.83
4	4	+++++	+ Muy amargo	0.7, 0.83	4	++++ Peluzas	+ Muy amargo	0.7, 0.83
5	4	+++++	+++ Ligero sobretono amargo	0.7, 0.83	4	++++ Peluzas	+++ Ligero sobretono amargo	0.7, 0.83
6	4	+++++	+++ Ligero sobretono amargo	0.7, 0.83	4	+++++	+++ Ligero sobretono amargo	0.7, 0.83
7	4	+++++	++ Ligeramente amargo	0.7, 0.83	4	+++++	++ Amargo	0.7, 0.83
8	4	+++++	+ Amargo	0.7, 0.83	4	++++ Peluzas	+ Amargo	0.7, 0.83
9	4	+++++	+ Amargo	0.7, 0.83	4	++++ Peluzas	+ Amargo	0.7, 0.83
10	4	+++++	+ Amargo	0.7, 0.83	4	++++ Peluzas	+ Amargo	0.7, 0.83

\*-Sabor: Agradable, dulce sin ser muy intenso. +: muy mal sabor, ++: mal sabor, +++: sabor regular, ++++: buen sabor, +++++: excelente sabor

-Apariencia: Solución traslúcida sin partículas extrañas ni precipitados. +: apariencia pobre, ++: apariencia mala, +++: apariencia regular, ++++: buena apariencia, +++++: apariencia óptima.

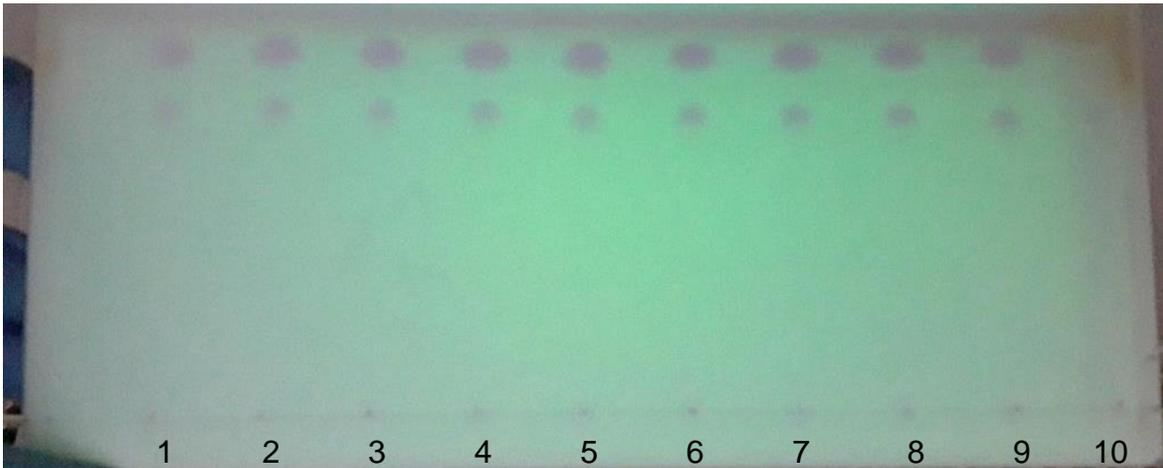


Fig 31. CCF Diseño de experimentos inicial.

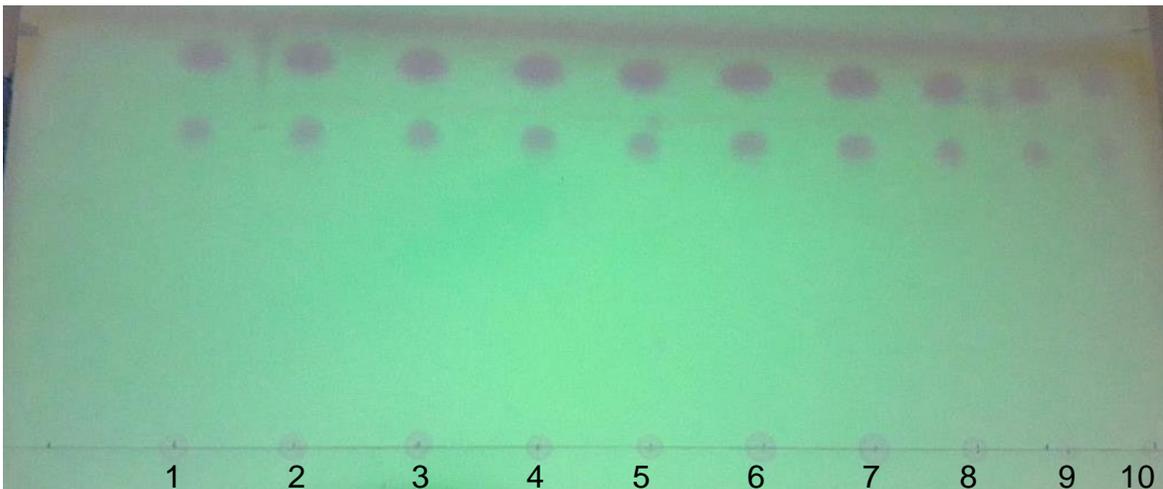


Fig 32. CCF Diseño de experimentos final.

La estabilidad se evaluó mediante CCF y se encontró que los  $R_f$  de todas las mezclas no se alteraron durante la prueba por lo que se concluye que las muestras son estables.

A partir de estos resultados se realizó la estadística correspondiente; se eligió el modelo cúbico para el diseño de experimentos y se analizaron las respuestas de pH, apariencia y sabor por separado para evaluar si con éste o cualquiera de los otros modelos más sencillos se podían explicar los resultados de cada una de éstas así como obtener la ecuación correspondiente y finalmente los contornos de las superficies de respuesta.

La variable de pH no pudo ser analizada; ya que en todos los casos se obtuvo un pH de 4 por acción del buffer pH 4 empleado; esto debido a que en la literatura se encontró que en este valor la ciclodextrina mantiene en mayor grado su estabilidad

y además el conservador puede ejercer su acción ( $\text{pH} < 6$ ), aunque la concentración en que se utilice no afecta el pH de la solución, por seguridad del paciente es mejor usar la menor concentración posible de cualquier excipiente.

Para las variables de respuesta de apariencia y sabor fue posible obtener por medio de análisis ANOVA la significancia de cada modelo donde el obtener una P con valor  $< 0.05$  indica el modelo adecuado para analizar la variable, así mismo, se evaluó la significancia de la respuesta respecto a los componentes de la fórmula de la misma manera ( $\text{p} < 0.05 =$  significancia estadística).

### Apariencia

**Tabla 42. Efectos estimados de Apariencia**

Modelo	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrada	Radio F	Valor de P
Media	202.5	1	202.5		
Lineal	0.11111	2	0.0555551	0.16	0.8529
Cuadrático	1.2357	3	0.411899	1.43	0.3586
Cúbico especial	0.131806	1	0.131806	0.39	0.5779
Error	1.02139	3	0.340462		
Total	205.0	10			

**Tabla 43. Resultados del Modelo**

Modelo	Error estándar	R-Cuadrada	R-Cuadrada ajustada
Lineal	0.584183	4.44	0.00
Cuadrático	0.536934	53.87	0.00
Cúbico especial	0.583492	59.14	0.00

**Tabla 44. ANOVA Apariencia**

Modelo	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrada	Radio F	Valor de P
Cúbico especial	1.47859	6	0.246432	0.72	0.6641
Total error	1.02141	3	0.340469		
Total (corr.)	2.5	9			

R-cuadrada = 59.1438%

R-cuadrada (ajustada a g.l.) = 0.0%

Error estándar. = 0.583497

Error absolute de la media = 0.24706

Estadístico de Durbin-Watson = 0.964975 (P=0.0515)

Residual = 0.393787

La Tabla 42 muestra los resultados de adecuación de los datos obtenidos de la apariencia en cada uno de los modelos posibles; en cada caso se incluye el valor de P que determina la significancia estadística comparada con la media; como se observa, todos los valores de P son mayores de 0.05 y por lo tanto ninguno de los modelos se adecua a los datos obtenidos por lo que no es posible establecer una ecuación que prediga la variable de respuesta adecuada.

La Tabla 43 presenta los resultados completos de cada modelo y los valores de  $R^2$  y  $R^2$  ajustada que sirve para corroborar el modelo que más se ajusta a los valores prefiriendo aquel con valor de  $R^2$  ajustada mayor, sin embargo en todos los casos el valor es de 0 con lo que ninguno de los modelos se ajusta a los resultados.

En la Tabla 44 se presenta la ANOVA para el modelo seleccionado (cúbico), debido a que el valor de P es mayor a 0.05 no hay una relación estadísticamente significativa entre la apariencia y los componentes del diseño de experimentos a un nivel de 95% de confianza. Además la  $R^2$  presentada indica que el modelo utilizado explica el 59.1438% de la variabilidad en la apariencia; como ya se explicó anteriormente la  $R^2$  ajustada es de 0%. El error estándar muestra la desviación estándar de los residuales en 0.583497 y además el error absoluto de la media de 0.24706 es el valor promedio de los residuales. Finalmente el estadístico de Durbin Watson compara estos residuales para determinar si existe una correlación significativa con base en la seriación indicando algún sesgo; como el valor de P es mayor a 0.05 no hay evidencia de que exista esta correlación.

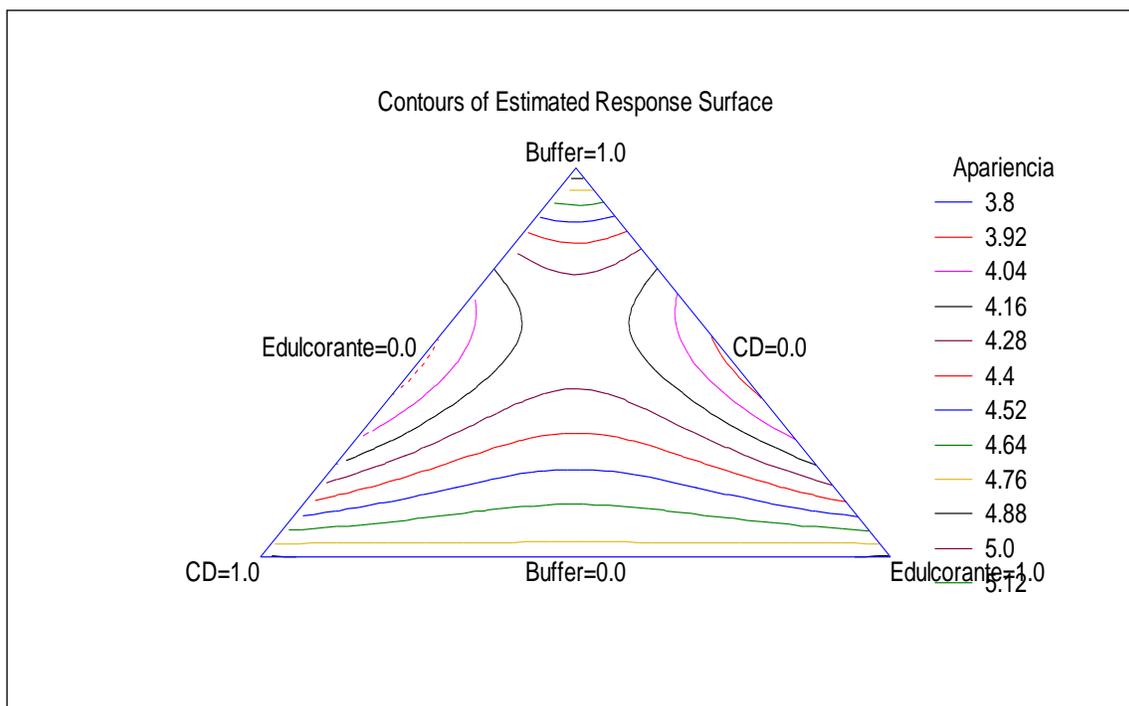


Fig 33. Superficies de respuesta Apariencia.

Finalmente se obtuvieron los contornos de superficies de respuesta para la Apariencia, sin embargo no es una herramienta que puede utilizarse debido a los resultados obtenidos de significancia estadística.

## Sabor

**Tabla 45. Efectos estimados de Sabor**

Modelo	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrada	Radio F	Valor de P
Media	28.9	1	28.9	-	-
Lineal	4.0	2	2.0	3.41	0.0923
Cuadrático	0.380302	3	0.126767	0.14	0.9333
Cúbico especial	0.9804	1	0.9804	1.07	0.3763
Error	2.7393	3	0.9131		
Total	37.0	10			

**Tabla 46. Resultados del Modelo**

Modelo	Error estándar	R-Cuadrada	R-Cuadrada ajustada
Lineal	0.76532	49.38	34.92
Cuadrático	0.964326	54.08	0.00
Cúbico especial	0.955563	66.18	0.00

**Tabla 47. ANOVA Sabor**

Modelo	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrada	Radio F	Valor de P
Cúbico especial	5.36069	6	0.893449	0.98	0.5534
Total error	2.73931	3	0.913102		
Total (corr.)	8.1	9			

R-cuadrada= 66.1814%

R-cuadrada (ajustada a g.l.) = 0.0%

Error estándar. = 0.955564

Error absolute de la media = 0.357754

Estadístico de Durbin-Watson = 1.07971 (P=0.0772)

Residual = 0.158093

Al igual que en el caso de la apariencia, se adecuaron los resultados de sabor para cada uno de los modelos como se muestra en la Tabla 45; igualmente se incluye el valor de P que determina la significancia estadística comparada con la media, se observa que de nuevo todos los valores de P son mayores de 0.05 y por lo tanto ninguno de los modelos se adecua a los datos obtenidos y no es posible establecer una ecuación que prediga la variable respuesta.

La Tabla 46 presenta los resultados completos de cada modelo y los valores de  $R^2$  y  $R^2$  ajustada buscando el valor mayor de  $R^2$  ajustada; se puede observar que para el modelo lineal se encontró un valor de  $R^2$  ajustada diferente a cero que podría indicar que este modelo se ajustaría a los datos debido a que el valor de P de éste es el más cercano a 0.05, sin embargo, no es suficiente para determinar significancia estadística.

Finalmente, se presenta la ANOVA para el modelo seleccionado (cúbico) en la Tabla 47; una vez más se observa un valor de P mayor a 0.05 y por lo tanto, no hay una relación estadísticamente significativa entre el sabor y los componentes del diseño de experimentos a un nivel de 95% de confianza. Además la  $R^2$  presentada indica que el modelo utilizado explica el 66.1814% de la variabilidad en el sabor; se tiene nuevamente la  $R^2$  ajustada de 0%. El error estándar muestra la desviación estándar de los residuales en 0.955564 y el error absoluto de la media de 0.357754 que es el valor promedio de los residuales. Finalmente con el estadístico de Durbin Watson se obtuvo un valor de P mayor a 0.05 y por lo tanto no hay evidencia de que exista esta correlación.

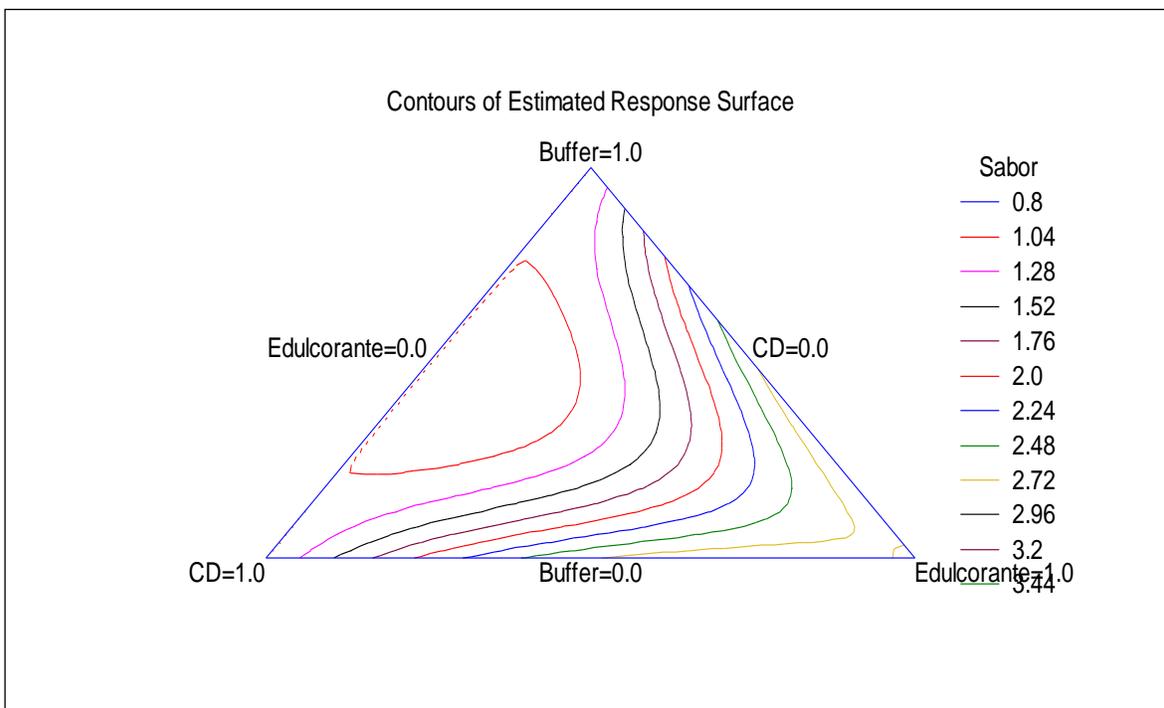


Fig 34. Contornos de superficie de respuesta para Sabor.

En la Fig 34 se presentan los contornos de superficies de respuesta para el Sabor, sin embargo esta herramienta no puede utilizarse debido a los resultados obtenidos de significancia estadística.

Conforme a los resultados del diseño de experimentos se concluye que a pesar de que no fue posible obtener un modelo adecuado para determinar la ecuación que explicara los datos; se puede hacer una selección de las mezclas que presentaron las mejores características para continuarlas evaluando, las cuales fueron: mezcla 3, mezcla 5 y mezcla 6.

A pesar de los resultados obtenidos, en ninguno de los casos el sabor fue el óptimo sobre todo hablando de pacientes pediátricos; por lo cual se propone la adición de un saborizante para mejorar la palatabilidad y aceptación de la fórmula.

### 3.4.4 PRUEBAS DE PALATABILIDAD

Se evaluaron sensorialmente los saborizantes propuestos para enmascarar el sabor amargo de la solución (Tabla 48) en las tres mezclas elegidas; se tomó en cuenta el sabor, olor y color en todos los casos así como su apariencia general para determinar la presencia de precipitados, turbidez, etc. (Tabla 49).

Tabla 48. Saborizantes propuestos para la formulación.

Saborizante	Tipo	Dosis máxima recomendada
Cereza	Concentrado	< 1g / 10 kg
Durazno	Concentrado	< 1 g / 2 kg
Naranja	Esencia	< 1 g/ 2 kg

Tabla 49. Pruebas de palatabilidad.

Saborizante	Mezcla 3	Mezcla 5	Mezcla 6	Apariencia
Cereza	+ Tono amargo y picor en la boca	+ Amargo, intenso, picor en la boca	++ Intenso, ligero picor en la boca	Solución traslúcida, incolora, olor muy intenso a cereza
Durazno	+++ Aún se percibe el sabor amargo	+++ Persiste el sabor amargo	++ Muy leve sabor durazno, amargo	Solución traslúcida color naranja-rojo intenso, sin olor
Naranja	++++ Ligero tono amargo	++++ Ligero tono amargo	+++ Sobresale el sabor amargo	Solución turbia incolora, ligero olor a naranja

-Sabor: Agradable, dulce sin ser muy intenso. +: muy mal sabor, ++: mal sabor, +++: sabor regular, ++++: buen sabor, +++++: excelente sabor.

Entre los saborizantes probados ninguno arrojó los resultados óptimos deseados; la mezcla número 6 mostró resultados indeseados por lo que se descartó. Se evaluó si un incremento en el saborizante mejoraría el sabor de la solución para lo cual se fue agregando gota a gota evaluando el cambio de sabor a excepción del de cereza que ya era muy intenso (Tabla 50).

Tabla 50. Pruebas de palatabilidad 2.

Mezcla/saborizante	+ 1 gota	+ 2 gotas	+ 3 gotas
M3 – Durazno	+++	+++	++++
M5 – Durazno	++	+++	+++
M3 – Naranja	++++	+++	/
M5 – Naranja	++++	+++	/

En cuanto al saborizante de durazno, se encontró que fue mejorando el sabor conforme se agregaban más gotas de éste a la mezcla, sin embargo, se detuvo la experimentación en +3 gotas debido a que como se utilizó el concentrado que también incluía colorante, éste puede representar un riesgo para el paciente debido a la posibilidad de alergias. Se propuso probar con la esencia en vez del concentrado que tiene la ventaja de no tener colorante (Tabla 51). Por el contrario con el saborizante de naranja se observó que al ir agregando más gotas de éste, la mezcla obtenía un sabor demasiado intenso ocasionando picor en la boca, además de una apariencia no óptima por lo que se descartó.

Se continuó con las últimas pruebas de saborizantes agregando una gota de éste a cada mezcla y evaluando nuevamente su sabor, olor y apariencia general; además de una dilución 10:1 del saborizante de cereza.

Tabla 51. Pruebas de palatabilidad 3.

Saborizante	Mezcla 3	Mezcla 5	Apariencia
Durazno	+++++ Agradable sin picor	+++ Ligeramente amargo	Solución traslúcida ligeramente amarilla, ligero olor durazno
Cereza (dil 10:1)	++ Predomina sabor amargo	++ Predomina sabor amargo	Solución traslúcida, incolora, olor intenso a cereza

-Sabor: Agradable, dulce sin ser muy intenso. +: muy mal sabor, ++: mal sabor, +++: sabor regular, ++++: buen sabor, +++++: excelente sabor.

El sabor durazno dio muy buenos resultados para la mezcla 3 y al agregar únicamente una gota del saborizante, además de que la apariencia es agradable y el color tenue de la solución concuerda con su sabor, sin embargo, se decidió probar con un incremento del saborizante de cereza agregándolo gota a gota en las soluciones para ver si se obtenían aún mejores resultados con este último.

Tabla 52. Pruebas de palatabilidad 4.

Mezcla/saborizante	+ 1 gota	+ 2 gotas	+ 3 gotas
M3 – Cereza (10:1)	+++	++++	++++
M5 – Cereza (10:1)	++	++	/

Los resultados muestran que en el caso de la mezcla 3, el sabor mejora ligeramente, sin embargo, no se obtuvo un resultado mejor que con el saborizante de durazno; en el caso de la mezcla 5, el sabor no se optimizó al agregar hasta 2 gotas extra de saborizante por lo que se decidió detener ahí las pruebas con éste.

Tomando en cuenta todos los resultados de palatabilidad obtenidos, se decidió elegir como la fórmula final la mezcla 3 utilizando saborizante de durazno tipo esencia. Esta es la fórmula que se evaluará en el ciclado térmico.

### 3.5 CICLADO TÉRMICO

Se preparó la solución final de acuerdo a la fórmula de la mezcla 3 agregando el saborizante elegido en las pruebas de palatabilidad, quedando la primera propuesta de la fórmula final para una solución oral pediátrica de 2 mg/mL de hidroclorotiazida de la siguiente manera:

Tabla 53. Propuesta de fórmula final.

Componente	% de uso
HP- $\beta$ -CD	0.49%
Conservador	0.2%
Antioxidante	0.05%
Regulador pH	0.1%
Edulcorante	0.2%
Saborizante	1 gota/5 mL

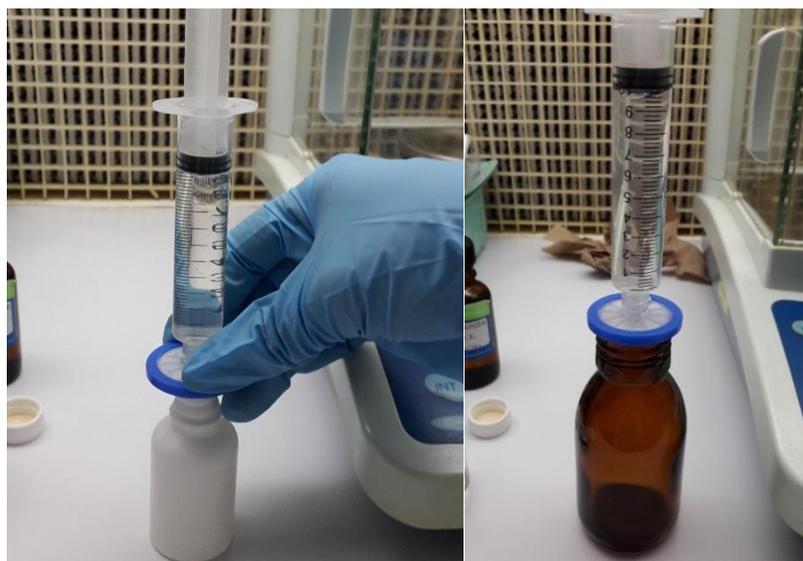


Fig 35. Llenado de los envases primarios.

La preparación de la solución se llevó a cabo en condiciones asépticas en una campana de flujo laminar así como el llenado de los envases primarios, la utilización del filtro de 0.22  $\mu$ m también disminuye el riesgo de contaminación, ya que por este tamaño de poro se evita el paso de la mayoría de contaminantes microbiológicos. Se realizaron las mediciones especificadas en la metodología a los días 0 y 7 de la prueba como se observa en la Tabla 54.

Tabla 54. Ciclado térmico. Prueba 1.

Atributo	Día 0		Día 8		Día 15	
	Gotero	Frasco	Gotero	Frasco	Gotero	Frasco
Envase primario	Gotero	Frasco	Gotero	Frasco	Gotero	Frasco
Apariencia	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
Solubilidad	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
pH	4	4	4	4	4	4
Sabor	+++++	+++++	++++ (se intensificó el sabor)	++++ (se intensificó el sabor)	++++ (picor en la boca)	++++ (picor en la boca)
Rf <sub>CCF</sub>	0.73, 0.85	0.73, 0.85	0.73, 0.86	0.73, 0.86	0.73, 0.87	0.73, 0.87
Densidad (g/mL)	1.0137	1.0145	1.0146	1.0138	1.0162	1.0172

-Apariencia: Solución traslúcida con tenue color amarillo. +: apariencia pobre, ++: apariencia mala, +++: apariencia regular, ++++: buena apariencia, +++++: apariencia óptima  
 -Solubilidad: Principio activo totalmente soluble, sin precipitados. +: insoluble, ++: ligeramente soluble, +++: medianamente soluble, ++++: altamente soluble, +++++: totalmente soluble  
 -Sabor: Durazno agradable y dulce sin ser muy intenso. +: muy mal sabor, ++: mal sabor, +++: sabor regular, ++++: buen sabor, +++++: excelente sabor.

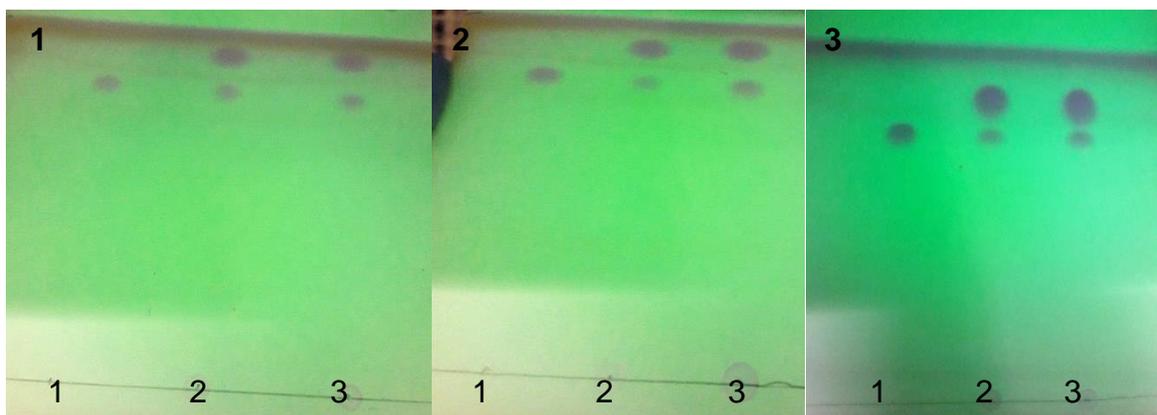


Fig 36. CCF Ciclado térmico. Prueba 1.

- 1) Día 0: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Gotero; 3. Frasco de vidrio.
- 2) Día 8: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Gotero; 3. Frasco de vidrio.
- 3) Día 15: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Gotero; 3. Frasco de vidrio.

Durante esta primera prueba hubo un problema durante uno de los ciclos de enfriamiento; ya que el sistema de refrigeración se descompuso y la temperatura descendió hasta  $-16^{\circ}\text{C}$ ; se decidió proseguir con la experimentación para evaluar si este cambio radical de temperatura afectaba a la formulación, observando que no hubo un cambio en los resultados de apariencia, solubilidad del principio activo ni pH y que la formulación se mantuvo estable durante los ciclos, sin embargo se decidió realizar una segunda prueba para comprobar y reafirmar estos resultados. Los resultados de la densidad se analizarán más adelante.

En la Fig 36 se presentan las CCF obtenidas para la primera prueba; se pueden observar dos puntos donde el Rf de 0.73 corresponde a la hidroclorotiazida y el de

~0.86 del conservador; se observa que no hay cambios en los Rf en ninguno de los casos y por lo tanto la estabilidad del principio activo se mantiene durante el periodo de prueba.

Se encontró que no existe alguna diferencia entre los envases primarios por lo cual puede utilizarse cualquiera de los dos; para llevar a cabo la prueba #2 se eligió continuar con el envase de frasco de vidrio por su practicidad y mejor adecuación para la toma de la dosis por parte del paciente.

Finalmente se notó que el saborizante empleado presentó un sabor más intenso en la evaluación de los días 8 y 15 por lo que se decidió disminuir a la mitad su concentración en la fórmula final quedando de la siguiente manera.

Tabla 55. Fórmula final.

Componente	% de uso
HP-β-CD	0.49%
Conservador	0.2%
Antioxidante	0.05%
Regulador pH	0.1%
Edulcorante	0.2%
Saborizante	1 gota/10 mL

Las evaluaciones para la prueba 2 se realizaron al día 0, 8 y 15 de la prueba evaluando los mismos parámetros que en la primera prueba.

Tabla 56. Ciclado térmico. Prueba 2.

Atributo	Día 0	Día 8	Día 15
Envase 1°	Frasco	Frasco	Frasco
Apariencia	+++++	+++++	+++++
Solubilidad	+++++	+++++	+++++
pH	4	4	4
Sabor	+++++	+++++	+++++
Rf <sub>CCF</sub>	0.73, 0.86	0.73, 0.87	0.73, 0.86
Densidad (g/mL)	1.0143	1.0147	1.0154

-Apariencia: Solución traslúcida con tenue color amarillo. +: apariencia pobre, ++: apariencia mala, +++: apariencia regular, ++++: buena apariencia, +++++: apariencia óptima  
 -Solubilidad: Principio activo totalmente soluble, sin precipitados. +: insoluble, ++: ligeramente soluble, +++: medianamente soluble, ++++: altamente soluble, +++++: totalmente soluble  
 -Sabor: Durazno agradable y dulce sin ser muy intenso. +: muy mal sabor, ++: mal sabor, +++: sabor regular, ++++: buen sabor, +++++: excelente sabor.

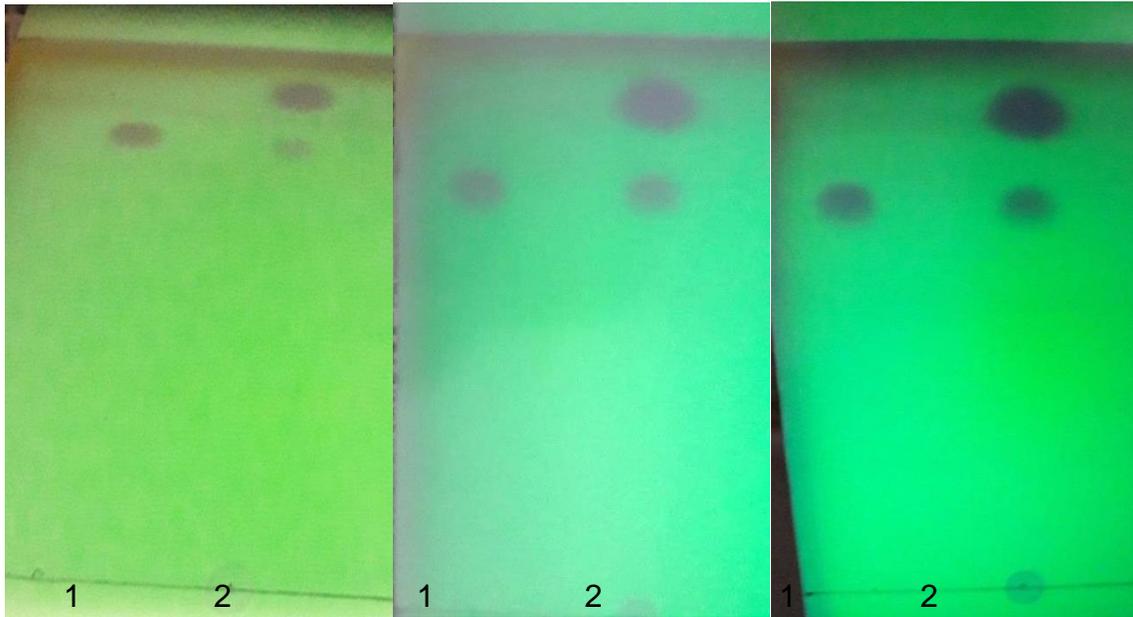


Fig 37. CCF Ciclado térmico. Prueba 2.

- 1) Día 0: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Frasco de vidrio.
- 2) Día 8: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Frasco de vidrio.
- 3) Día 15: 1. Blanco (HCTZ en MeOH 2 mg/mL); 2. Frasco de vidrio.

En la segunda prueba se observó que una vez más no hubo cambios en la apariencia ni solubilidad de la formulación lo que es un indicativo de la buena estabilidad de ésta. El mantenimiento del pH a lo largo de todo el periodo de prueba indica que el buffer empleado está desempeñando su función de manera adecuada al mantener el pH deseado para la mayor estabilidad de los complejos de inclusión.

En la segunda prueba, el sabor de la solución se mantuvo con menor intensidad que en la primera siendo más agradable en la boca, sin picor y sin dejar residuos de sabor ya que éste desaparece inmediatamente después de tomarla; presentando una buena palatabilidad general; además de que como ya se mencionó con anterioridad, entre menor cantidad de excipientes tenga la formulación, es mejor para la seguridad de los pacientes.

En cuanto a la densidad se observó un ligero aumento de ésta en ambas pruebas. Para evaluar si estas diferencias en los resultados son estadísticamente significativas se empleó una prueba T pareada con el software IBM SPSS™ comparando los resultados del día 0 con el día 8 y 15 y los días 8 y 15 entre sí.

**Tabla 57. Estadísticas de muestras emparejadas**

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	DENSIDAD0	1.014233	3	.0003055	.0001764
	DENSIDAD8	1.014367	3	.0004933	.0002848
Par 2	DENSIDAD0	1.014233	3	.0003055	.0001764
	DENSIDAD15	1.016267	3	.0009018	.0005207
Par 3	DENSIDAD8	1.014367	3	.0004933	.0002848
	DENSIDAD15	1.016267	3	.0009018	.0005207

**Tabla 58. Correlaciones de muestras emparejadas**

		N	Correlación	Sig.
Par 1	DENSIDAD0 & DENSIDAD8	3	-.686	.519
Par 2	DENSIDAD0 & DENSIDAD15	3	.387	.747
Par 3	DENSIDAD8 & DENSIDAD15	3	-.937	.228

**Tabla 59. Prueba de muestras emparejadas**

		Diferencias emparejadas				t	gl	Sig. (bilateral)	
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior				Superior
Par 1	DENSIDAD0 - DENSIDAD8	-.0001333	.0007371	.0004256	-.0019644	.0016978	-.313	2	.784
Par 2	DENSIDAD0 - DENSIDAD15	-.0020333	.0008327	.0004807	-.0041018	.0000351	-4.230	2	.052
Par 3	DENSIDAD8 - DENSIDAD15	-.0019000	.0013748	.0007937	-.0053151	.0015151	-2.394	2	.139

Al observar las tablas de la estadística correspondiente a la prueba de T pareada se puede observar que ninguno de los pares comparados entre sí presentan una P (significancia bilateral) menor a 0.05 por lo tanto no existe diferencia significativa entre ninguna de las mediciones de densidad y este parámetro también se encuentra bajo los criterios establecidos.

Finalmente para corroborar que ninguno de los excipientes empleados presentara un Rf igual al del principio activo y que se pueda confundir con éste último, se

realizó una CCF con cada excipiente por separado y se comparó con una muestra de HCTZ.



Fig 38. CCF Excipientes.  
1. HCTZ; 2. Conservador; 3. Antioxidante; 4. Edulcorante; 5. Buffer; 6. Saborizante.

Tabla 60. Rf prueba de excipientes.

Prueba	Rf
Hidroclorotiazida	0.74
Conservador	0.83
Antioxidante	0
Edulcorante	/
Buffer	0
Saborizante	~0.8

Como se puede observar en la Fig 38 ninguno de los Rf de los excipientes empleados coincide con el del principio activo, por lo tanto, se puede asegurar que en todas las pruebas el Rf de la HCTZ es específico de ésta y así se garantiza la confiabilidad de las pruebas de ciclado térmico.

## CONCLUSIONES

Se llevó a cabo un análisis de la dispensación de dosis unitarias en un Hospital de Tercer Nivel de Atención, gracias al cual fue posible evidenciar las necesidades farmacológicas de la población pediátrica y se demostró la demanda que presenta el grupo terapéutico de diuréticos y las ventajas que podría representar la creación de una forma farmacéutica especial para la población pediátrica de un fármaco diurético como es la hidroclorotiazida. Se determinó cuáles son las dosis con mayor frecuencia de consumo para este fármaco y con ello fue posible establecer la dosis de la forma farmacéutica a desarrollar.

Se analizaron las ventajas de las formas farmacéuticas líquidas y se optó por desarrollar una solución oral para lo cual se hizo uso de estudios de pre-formulación como una herramienta para determinar las características del principio activo más importantes y críticas para el desarrollo de la formulación misma. La baja solubilidad del principio activo fue la más importante, ya que la necesidad de aumentar ésta guió buena parte de los estudios de formulación. Además se evaluó sus condiciones de degradación y se probó su compatibilidad con posibles excipientes de la formulación para poder elegir los más adecuados.

La estrategia empleada para mejorar la solubilidad acuosa del principio activo fue el uso de ciclodextrinas para formar complejos de inclusión. Se evaluaron diferentes métodos y condiciones de preparación para elegir aquellos con mejores características y propiedades.

El uso de diseño de experimentos fue necesario para determinar una formulación final que cumpliera con las mejores características, a pesar de que no fue posible obtener un modelo matemático para explicar los resultados obtenidos, se pudo elegir una formulación con características óptimas, que posteriormente fue mejorada en cuanto a su palatabilidad con la adición de un saborizante adecuado.

Finalmente, los resultados del ciclado térmico de la solución final fueron favorables; por lo que se concluye que fue posible desarrollar una solución oral pediátrica de hidroclorotiazida de 2 mg/mL con características adecuadas para el uso y administración en la población a la que va dirigida.

## PERSPECTIVAS

La formulación desarrollada cumplió las características de calidad deseadas, sin embargo, para comprobar su seguridad y eficacia es necesario realizar pruebas pre-clínicas en animales de laboratorio y posteriormente pruebas clínicas en voluntarios y pacientes así como los estudios analíticos pertinentes.

Para sustentar los estudios de estabilidad, es necesario realizar las pruebas de estabilidad acelerada con base en la Norma de Estabilidad de Medicamentos NOM-073-SSA1-2015 para un medicamento nuevo de fármaco conocido en envase impermeable (frasco de vidrio).<sup>41</sup>

Tabla 61. Estudios de estabilidad NOM 073

<b>Tipo de estudio</b>	<b>Condiciones de almacenamiento</b>	<b>Periodo mínimo</b>	<b>Frecuencia de análisis</b>
Estabilidad acelerada	40°C ± 2°C / humedad ambiente ó 75% ± 5% HR	6 meses	0, 3 y 6 meses
Estabilidad a condición intermedia	30°C ± 2°C / humedad ambiente ó 65% ± 5% HR	6 meses	0, 3 y 6 meses
Estabilidad a largo plazo	25°C ± 2°C / humedad ambiente ó 60% ± 5% HR ó 30°C ± 2°C / humedad ambiente ó 65% ± 5% HR	12 meses	0, 3, 6, 9 y 12 meses

# ANEXO

RDC-DOC-23 V.01  
PNO-NEO-DOC-001

## CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE MATERIA PRIMA

NOMBRE:	HIDROCLOROTIAZIDA	LOTE INTERNO:	MPA-005160417
FABRICANTE:	AUROBINDO PHARMA LIMITED	FECHA DE ENTRADA:	28-Abr-17
PROVEEDOR:	BASELUX S.A.	REANÁLISIS:	28-Abr-19
LOTE DE FABRICANTE:	1608101580	CADUCIDAD:	N/A
CANTIDAD:	100.000 kg	PAGINA:	1 de 1
CÓDIGO:	201000670		

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo cristalino blanco o casi blanco e inodoro. Presenta polimorfismo. Libre de partículas extrañas. (1,2,3)	Cumple
Solubilidad	Ligeramente soluble en metanol, acetonitrilo, alcohol; muy poco soluble en agua; casi insoluble en éter dietílico, soluble cloroformo y ácidos minerales diluidos. Fácilmente soluble en solución de hidróxido de sodio, en n-butilamina y en dimetilformamida. (1,3)	Cumple
Identificación	A. El espectro de absorción IR de la muestra presenta máximos solo a las mismas longitudes de onda que el de la sustancia de referencia de hidroclorotiazida. (1,2)	Cumple
Identificación	B. Comparar los tiempos de retención del pico principal en los cromatogramas obtenidos en la valoración. El tiempo de retención obtenido con la solución muestra, corresponde al tiempo de retención obtenido con la solución de referencia. (1,2)	Cumple
Identificación	C. El espectro de absorción UV de la solución muestra debe presentar máximos a las mismas longitudes de onda que la sustancia de referencia. (2)	Cumple
Sustancias relacionadas.	Compuesto relacionado A de la benzotiadiazina: No más de 1.0 %. (1,2,4)	0.16 %
Sustancias relacionadas.	Clorotiazida: No más de 0.5 %. (2,4)	0 %
Sustancias relacionadas.	5-Clorohidroclorotiazida: No más de 0.5 %. (2,4)	0.10 %
Sustancias relacionadas.	Dímero de hidroclorotiazida: No más de 0.5 %. (2,4)	0 %
Sustancias relacionadas.	Cualquier otra impureza individual: No más de 0.5 %. (1,2,4)	0 %
Sustancias relacionadas.	Impurezas totales: No más de 0.9 %. Excluyendo al compuesto relacionado A de benzotiadiazina. (1,2,4)	0.10 %
Disolventes residuales	Metanol: No más de 3000 ppm. (1,3)	78.00 ppm
Cloruros.	No más de 0.035 %. (1,2)	<0.035%
Selenio	No más de 30 ppm.(1,2)	< 30 ppm
Perdida por secado	No más de 0.5 %. (1,2)	0.13 %
Residuo de la ignición	No más de 0.1 %. (1,2)	0.08 %
Metales pesados	No más de 10 ppm. (1,2)	< 10 ppm
Tamaño de partícula**	d10: 5 µm - 15 µm. (3)	48.790 µm
Tamaño de partícula**	d50: 50 µm - 80 µm. (3)	181.750 µm
Tamaño de partícula**	d90: 250 µm - 350 µm.(3)	399.500 µm
Densidad **	Aparente: Aproximadamente 0.5 g/mL. (3)	0.5350 g/mL
Densidad **	Compactada: Aproximadamente 0.9 g/mL. (3)	0.8950 g/mL
Valoración	Contiene no menos de 98.0 % y no más de 102.0 % de Hidroclorotiazida, calculado con referencia a la sustancia seca. (1,2,4)	100.58 %
Conservación	En envases bien cerrados. (1,2)	Cumple

Esta Materia prima cumple con:

(1)FEUM 11a Ed.2014 (2)USP 40 NF 35 (3)Especificación Interna del laboratorio (4)Validación del método analítico VMM-120

\*\* Prueba de carácter informativo.

DICTAMEN:

AUTORIZÓ:

QFB. Juan Manuel Uriás  
CEDULA PROFESIONAL 4207522

Responsable Sanitario

Fecha de Autorización: 18-May-17

## REFERENCIAS

1. Herrera CJ. Características de la terapéutica farmacológica en pediatría. En: Atención Farmacéutica en Pediatría. Madrid: Elsevier España; 2007.
2. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Suplemento para establecimientos dedicados a la venta y suministro de medicamentos y demás insumos para la salud. 5a Ed. México: Secretaría de Salud; 2014.
3. National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention [Internet]. United States: NCCMERP; 2018 [cited 2018 May 26]. <http://www.nccmerp.org/about-medication-errors>
4. Roman FD. Innovación y desarrollo farmacéutico. México: Asociación Farmacéutica Mexicana; 1990.
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Internet]. México: INEGI. c2016 – [citado 27 May 2018]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx>
6. Ferrando MS, Amat MA, Lucas SE: Uso de diuréticos en niños hospitalizados. Sociedad Española de Pediatría Hospitalaria [Internet] 2014 [Consultado May 27 2018]. Disponible en: [http://sepho.es/wp-content/uploads/2016/10/Uso\\_de\\_Diureticos\\_12\\_sept\\_14.pdf](http://sepho.es/wp-content/uploads/2016/10/Uso_de_Diureticos_12_sept_14.pdf)
7. Norma Oficial Mexicana, NOM-008-SSA2-1993 “Control de la nutrición, crecimiento y desarrollo del niño y del adolescente. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio.” Secretaría de Salud. [28 de Julio de 1994].
8. Organización Mundial de la Salud. Algunos datos sobre los niños y los medicamentos de uso pediátrico. [Internet] c2005 – [Citado 30 May 2018] . Disponible en: <http://www.who.int/childmedicines/media/facts/es/#>
9. Organización Mundial de la Salud. Las muertes infantiles en el mundo se han reducido casi a la mitad desde 1990, dice la ONU. [Internet] c2013 – [Citado 31 May 2018]. Disponible en: [http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/child\\_mortality\\_causes\\_20130913/es/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/child_mortality_causes_20130913/es/)

10. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas a propósito del día de muertos. [Internet]. México: INEGI. c2017 – [citado 31 May 2018]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/muertos2017Nal.pdf>
11. Organización Mundial de la Salud. Formulario Modelo de la OMS.[Internet] c2004 – [Citado 04 Jun 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/medicinedocs/pdf/s5422s/s5422s.pdf>
12. DrugBank. Hydrochlorothiazide [Internet]. c2017 – [cited 2018 Jun 04]. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00999>
13. WHO Model List of Essential Medicines for Children (4th List). WHO. [Internet] c2013. – [cited 2019 Jan 18]. Disponible en: <https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>
14. Instituto Mexicano del Seguro Social. Cuadro Básico de Medicamentos. [18 Enero 2019].
15. Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Rang & Dale's Pharmacology 8th Ed. United Kingdom: Elsevier; 2016.
16. Swarbrick J. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 3rd Ed. United States: Informa Healthcare; 2007.
17. Aulton, ME. Farmacia. La Ciencia de diseño de las formas farmacéuticas. España: Elsevier; 2004.
18. Samuel, P., Ayoob, KT., Magnuson, BA., Wölwer-Rieck, U., Jeppsen, PB., Rowland, I., Mathews, R. Stevia Leaf to Stevia Sweetener: Exploring Its Science, Benefits and Future Potential. The Journal of Nutrition. Vol. 148; 2018.
19. Wacker Chemie AG. CAVAMAX® and CAVASOL® Cyclodextrins- The Innovator's Molecule. United States; 2012.
20. Arthur S, Burgess A: How to identify and manage 'problem' excipients in medicines for children. The Pharmaceutical Journal [Internet] 2017[Cited 2018 Jul 19]. <https://www.pharmaceutical-journal.com/learning/learning-article/how-to-identify-and-manage-problem-excipients-in-medicines-for-children/20203121.article?firstPass=false>
21. Chan, LW., Kurup TRR., Muthaiah, A., Thenmozhiyal, JC. Interaction of p-hydroxybenzoic esters with beta-cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics. Vol 195; 2000.

22. Montgomery, DC. Diseño Y Análisis de Experimentos. México: Grupo Editorial Iberoamérica; 1991.
23. Waterman, KC. & Adami, RC. Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. International Journal of Pharmaceutics. Vol 293, 2005.
24. Bajaj, S., Singla, D. & Sakhuja, N. Stability Testing of Pharmaceutical Products. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol. 02, 2012.
25. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 10ª ed. México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; 2013.
26. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11ª ed. México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; 2014.
27. Hemke, AT., Bhure, MV., Chouhan, KS., Gupta, KR. & Wadodkar SG. UV Spectrophotometric Determination of Hydrochlorothiazide and Olmesartan Medoxomil in Pharmaceutical Formulation. Journal of Chemistry. Vol 07, 2010.
28. Latha B, Srinivasan S, Gunasekaran S, Ramkumaar GR. Quantitative Analysis of Anti-Hypertensive drugs in Association (combination therapy) using IR and UV-Visible spectroscopy. International Journal of Materials Science. Vol. 12; 2017.
29. Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. Academic Press; 1981.
30. O'Neil, Maryadele J. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 15th Ed. Great Britain: Royal Society of Chemistry.
31. Connors KA, Amidon GL, Stella VJ. Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists. 2nd Ed. United States: John Wiley & Sons; 1986.
32. AK Scientific. Hydrochlorothiazide [Internet]. c2018 – [Cited 2018 Jul 29]. [https://aksci.com/item\\_detail.php?cat=C825](https://aksci.com/item_detail.php?cat=C825)
33. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia. London: The Stationery Office; vol I: 2012.
34. Clarke EGC. Clarke´s Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 3ra ed. Londres: Ed. The Pharmaceutical Press; 2004.

35. Naguib, IA., Abdelaleem, EA., Zaazaa, HE. & Draz, ME. Simultaneous Determination of Hydrochlorothiazide and Benazepril Hydrochloride or Amiloride Hydrochloride in Presence of Hydrochlorothiazide Impurities: Chlorothiazide and Salamide by HPTLC Method.
36. Rowe, RC., Sheskey, PJ., Quinn, ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th Ed; Great Britain: 2009.
37. Ghosh A., Biswas S. & Ghosh T. Preparation and Evaluation of Silymarin  $\beta$ -cyclodextrin Molecular Inclusion Complexes, Journal of Young Pharmacists. Vol 3; 2011.
38. ThermoFisher Scientific. Técnicas de muestreo de FTIR: Reflectancia total atenuada (ATR) [Internet]. c2018 – [Cited 2018 Oct 09].  
<https://www.thermofisher.com/es/es/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-sample-handling-techniques/ftir-sample-handling-techniques-attenuated-total-reflection-atr.html>
39. Silva, PM., Souza, RA. & Sinisterra, RD. Pharmaceutical Composition of Hydrochlorothiazide:  $\beta$ -Cyclodextrin: Preparation by Three Different Methods, Physico-Chemical Characterization and In Vivo Diuretic Activity Evaluation. Molecules Journal. Vol 16; 2011.
40. Santos, José F. Rosa Dos; Torres Labandeira, Juan J.; Alvarez Lorenzo, Carmen; Concheiro, Angel. Hidrogeles de ciclodextrinas para administración de fármacos. <https://digitalis-dsp.uc.pt/bitstream/10316.2/36922/1/Cap%C3%ADtulo%20%20Hidrogeles%20de%20ciclodextrinas%20para%20administraci%C3%B3n%20de%20f%C3%A1rmacos.pdf>
41. Norma Oficial Mexicana, NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios.” Secretaría de Salud. [07 de Junio de 2016].