

# Validación de un método por HPLC para los ensayos de contenido, disolución y uniformidad de unidades de dosificación de desloratadina en tabletas

## Validation of a method by HPLC for content, dissolution and uniformity of dosage units tests of desloratadine tablets

LUISAMÉRICA LÓPEZ<sup>A,\*</sup> Y MIRIAN REGNAULT<sup>A</sup>

### Resumen

La validación es un proceso que permite comprobar que una metodología de análisis propuesta cumple con los requerimientos preestablecidos y que se desempeña adecuadamente en conformidad con los resultados esperados. En este trabajo se llevó a cabo la validación de un método por cromatografía líquida de alta resolución para los ensayos de contenido, disolución y uniformidad de unidades de dosificación de desloratadina en comprimidos de 5 mg, utilizando una columna cromatográfica de tipo *Symmetry Shield* RP18 5  $\mu\text{m}$  (4,6 x 150 mm), una fase móvil compuesta por metanol y buffer fosfato en proporción (80:20), una longitud de onda de 254 nm y un volumen de inyección de 40  $\mu\text{L}$ . Para el ensayo de disolución se utilizó el aparato No. 2 (paleta) y ácido clorhídrico 0,1N como medio de disolución. La metodología de determinación de desloratadina propuesta fue validada exitosamente y permitió obtener resultados satisfactorios dentro de un rango de respuesta lineal entre las concentraciones de 0,035 mg/mL y 0,066 mg/mL para los ensayos de contenido y uniformidad, así como entre 0,0029 mg/mL y 0,0055 mg/mL para el ensayo de disolución. Los resultados obtenidos fueron precisos, en el ensayo de contenido se obtuvo un promedio de 96,32%; en el ensayo de disolución, el resultado promedio obtenido para la precisión del método fue de 96,46%; en el ensayo de uniformidad de unidades de dosificación se obtuvo un promedio de 101,02%. Se comprobó la robustez del método aplicando cambios en la longitud de onda de análisis de  $\lambda = 254$  nm hasta  $\lambda = 249$  nm y se demostró la estabilidad de las diferentes soluciones preparadas durante tres días de análisis manteniendo las condiciones cromatográficas establecidas. Los resultados obtenidos con esta metodología fueron exactos con un porcentaje de recuperación de desloratadina igual a 101,18% y mostrando en la curva de calibración correspondiente un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9997$ .

**Palabras Clave:** Desloratadina, HPLC, ensayo de contenido, ensayo de disolución, ensayo de uniformidad de unidades de dosificación.

### Abstract

The validation is a process that allows verifying that a proposed methodology of analysis meets the pre-established requirements and that it performs adequately in accordance with the expected results. In this work the validation of a high-performance liquid chromatography method was carried out for the content, dissolution and uniformity tests of desloratadine dosage units in 5 mg tablets using a *Symmetry Shield* RP18 5  $\mu\text{m}$  chromatographic column (4.6 x 150 mm), a mobile phase composed of methanol and phosphate buffer in proportion (80:20), a wavelength of 254 nm, using an injection volume of 40  $\mu\text{L}$ . For the dissolution test, apparatus No. 2 (paddle) and 0.1N hydrochloric acid were used as the dissolution medium. The proposed desloratadine determination methodology was successfully validated and allowed to obtain satisfactory results within a linear response range between 0.035 mg/mL and 0.066 mg/mL for content and uniformity assays, as well as between 0.0029 mg/mL and 0.0055 mg/mL for the dissolution assay. The results obtained were accurate, in the content test an average of 96.32% was obtained; in the dissolution test, the average result obtained for the precision of the method was 96.46%; in the uniformity test of dosage units an average of 101.02% was obtained. The robustness of the method was verified by applying changes in the analysis wavelength from  $\lambda = 254$  nm to  $\lambda = 249$  nm and the stability of the different solutions prepared during three days of analysis was demonstrated maintaining the established chromatographic conditions. The results obtained with this methodology were accurate with a recovery percentage of desloratadine equal to 101.18% and showing in the corresponding calibration curve a coefficient of determination  $R^2 = 0.9997$ .

**Key words:** Desloratadine, HPLC, content test, dissolution test, uniformity of dosage units test.

<sup>A</sup> Postgrado Aseguramiento de la Calidad, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

\* Correspondencia: lopezluna28@gmail.com; miriamregnault@gmail.com.

## Introducción

La validación es el establecimiento de pruebas documentales de un procedimiento llevado a cabo de manera adecuada y de acuerdo a especificaciones previamente establecidas. El objetivo principal de la validación analítica es el de asegurar que un procedimiento analítico dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto (OMS, 1992). Esto es fundamental en el caso de métodos de formas farmacéuticas que no han sido descritos en la farmacopea, ya que debe garantizarse que se obtendrán buenos resultados bajo las condiciones específicas planteadas en el laboratorio. De acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38, NF 33, 2015a), las características de desempeño que deben evaluarse en una validación de métodos analíticos y que deben estar descritas detalladamente en el protocolo de validación son exactitud, precisión, especificidad, linealidad e intervalo, límite de detección y límite de cuantificación.

El contenido es el análisis cuantitativo del producto para determinar la cantidad de uno o más principios activos. Una vez realizado el análisis se comprueba que el resultado obtenido cumple con las especificaciones establecidas para el producto (Romero, 2001). La disolución es una prueba de desempeño que indica como el principio activo es liberado del producto farmacéutico y da una aproximación del comportamiento que tendría el fármaco bajo condiciones fisiológicas al ser consumido (USP 38, NF 33, 2015b). La uniformidad de unidades de dosificación es el grado de uniformidad del contenido de desloratadina en las unidades de dosificación de un lote de producto y se basa en la valoración

individual del contenido del fármaco en un número de unidades de dosificación para determinar si el contenido individual se encuentra dentro de los límites fijados en la metodología (USP 38, NF 33, 2015c).

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en Inglés, *High-performance liquid chromatography*) es una técnica de análisis de análisis muy útil y versátil para determinar compuestos de uso farmacéutico; tal es el caso de la desloratadina, la cual es un fármaco antihistamínico eficaz en el control de los síntomas asociados a la rinitis alérgica, estacional y perenne, y a la urticaria crónica, que posee la ventaja de su capacidad descongestionante, además no produce efectos centrales y se puede administrar cada 24 h por su larga vida media (Unidad de Farmacología Clínica, 2003). Esto ha originado el interés por estudios que faciliten su separación y cuantificación, minimizando los tiempos de análisis. La validación de un método analítico por HPLC como el que se lleva a cabo en este trabajo es indispensable, ya que no se dispone de un método oficial en la Farmacopea que sirva como referencia al momento de llevar a cabo el análisis de esta especialidad farmacéutica.

Diferentes autores han estudiado la desloratadina, entre los cuales encontramos a Bondili y Ramya (2011) que llevaron a cabo el desarrollo y validación de un método de HPLC para la determinación de desloratadina en unidades de dosificación utilizando una columna del tipo C18 para fase reversa con una fase móvil compuesta por una mezcla de buffer fosfato monobásico de potasio a pH=3,00, acetonitrilo y metanol en proporción (50:40:10). El-Awady y

col. (2013) publicaron el desarrollo de un método para el análisis de loratadina y desloratadina por cromatografía electrocinética micelar en preparaciones farmacéuticas y fluidos biológicos y reportaron la validación del método según los lineamientos farmacopéicos. Abd El-Hay y col. (2016) determinaron espectrofotométricamente el fumarato ácido de clemastina, desloratadina, losartan potásico y moexepiril clorhidrato basados en la formación de un complejo binario con eosina. Los autores declararon la ventaja de la realización del método sin previa extracción de los fármacos. Patel y col. (2017) desarrollaron y validaron un método de determinación de desloratadina en tabletas por HPLC, empleando como fase móvil buffer fosfato/metanol en una proporción 70:30 y una columna Inertsil ODS-3V. Las muestras se sometieron a diferentes condiciones, como hidrólisis ácida, oxidación y degradación térmica y fotoquímica, obteniendo una separación cromatográfica con resultados precisos y sin interferencias de los productos de degradación del analito.

El método analítico validado en el presente trabajo fue desarrollado por el Departamento de Investigación y Desarrollo de una industria farmacéutica nacional productora de medicamentos genéricos. La validación desarrollada en el presente trabajo fue realizada para cumplir con los requerimientos de las buenas prácticas de manufactura y verificar su desempeño en términos de contenido, disolución y uniformidad en las unidades de dosificación. Todo ello, de acuerdo a las especificaciones preestablecidas para ser utilizadas como metodología de análisis rutinario en el control de calidad del producto tabletas recubiertas de desloratadina 5 mg.

## Materiales y métodos

### EQUIPOS

Balanza analítica marca Mettler, modelo AE 260 y pH-metro marca Metrohm, modelo 827 pH-Lab (Cenatec, Caracas, Venezuela); ultrasonido marca Elmasonic, modelo E60H (Didacta, Caracas, Venezuela); plancha de agitación y calentamiento marca Cinarec Barnstead Thermolyne (temperatura máxima 550°C) y bomba de succión para filtración al vacío GARTP101-EB (Corporación Científica Venezolana, Caracas, Venezuela); HPLC marca Waters, modelo Alliance 2695 con sistema de bomba cuaternaria, acoplado con un detector de longitud de onda UV marca Waters, modelo Dual  $\lambda$  2487; equipado con una computadora con el Software Empower System para procesamiento y cuantificación de los resultados cromatográficos (Cienvar, Caracas, Venezuela). Se empleó un Disolutor marca Erweka, modelo DT6 (Servifarma, Caracas, Venezuela) equipado con Aparato II (paletas); se utilizó agua purificada y destilada calidad 18,2 m $\Omega$ /cm, obtenida mediante equipo marca MilliQ, modelo Ultra Pure Water System MilliQ Plus (Merck, Caracas, Venezuela). Se utilizó material de vidrio Clase A.

### REACTIVOS

Metanol grado HPLC (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) ácido clorhídrico grado reactivo, fosfato monobásico de potasio y fosfato dibásico de potasio (Merck, Alemania).

### ESTÁNDAR Y MUESTRAS

Se utilizó un estándar de referencia de desloratadina, lote: 35216, pureza de 98,94% en base húmeda y con vigencia respecto a la fecha de vencimiento.

Se emplearon muestras de tabletas de desloratadina 5 mg, suministradas por el Departamento de Control de Calidad de la industria farmacéutica donde se llevó a cabo este trabajo, identificadas con el lote: 26436 y con vigencia respecto a la fecha de vencimiento. Para una muestra de 20 comprimidos se obtuvo un peso promedio (PP) = 112,12 mg con una desviación estándar relativa (DER) = 0,54%. Para el estudio de exactitud, el peso real de desloratadina fue determinado tomando en cuenta el contenido del principio activo utilizado (Lote: 41843. Contenido = 100,27% en base húmeda, con vigencia respecto a la fecha de vencimiento).

#### PLACEBO

El placebo fue suministrado por el laboratorio farmacéutico y contenía todos los excipientes en las mismas proporciones que establece la fórmula cuantitativa del producto desloratadina 5 mg en tabletas, a excepción del principio activo.

#### CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Se utilizó una columna cromatográfica Symmetry Shield RP-18, de 4,6 x 150 mm de longitud y tamaño de partícula 5 µm, marca Waters (CienVar, Caracas, Venezuela) identificada con el número de lote: 0176381831. La fase móvil fue una mezcla de buffer fosfato mono y dibásico de potasio a pH = 7,0 y metanol en proporción (20:80), longitud de onda = 254 nm, velocidad de flujo 1,0 mL/min y volumen de inyección 40 µL.

#### PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

En primer lugar, se preparó el buffer fosfato, para lo cual se pesó exactamente 1,2770 g de fosfato dibásico de potasio y 0,1360 g de fosfato monobásico de potasio,

se transfirieron cuantitativamente a un balón aforado de 500 mL, se disolvieron y se llevó a volumen con agua destilada, y se mezcló. Luego para preparar la fase móvil se midió separadamente los volúmenes de buffer fosfato y metanol necesarios (20:80), se mezclaron, se filtró al vacío a través de membrana de 0,45 µm x 47 mm y se desgasificó empleando ultrasonido. El pH de la fase móvil fue igual a 7,0.

#### VALIDACIÓN

##### *ENSAYO DE CONTENIDO*

La metodología desarrollada por el laboratorio farmacéutico describe el procedimiento para llevar a cabo la determinación del contenido en tabletas de desloratadina de 5 mg, tomando como criterio de aceptación un resultado de 95% - 105% de desloratadina declarado por tableta.

##### *PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR*

Se pesó alrededor de 25 mg de desloratadina estándar de referencia, se transfirió cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, añadió 30 mL de fase móvil y se llevó a baño ultrasónico durante quince (15) minutos. Al enfriar, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Una alícuota de 2,0 mL fue transferida a un balón aforado de 10 mL, llevando a volumen con fase móvil, se mezcló y filtró a través de membrana de 0,45 µm.

##### *PREPARACIÓN DE LA MUESTRA*

Se pesó y pulverizó no menos de 20 tabletas. Una porción exactamente pesada del polvo equivalente a alrededor de 5 mg de desloratadina fue transferida a un balón aforado de 50 mL, se añadió 20 mL de fase móvil y se llevó a baño ultrasónico

durante quince (15) minutos. Al enfriar, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Una alícuota de 5,0 mL fue transferida a un balón aforado de 10 mL, donde se llevó a volumen con fase móvil, se mezcló y filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . La concentración final de desloratadina en la muestra fue de 0,050 mg/mL.

#### *ESPECIFICIDAD*

Se preparó una solución de estándar siguiendo el procedimiento descrito, pesando 25,5 mg para obtener una concentración final de 0,0505 mg/mL. Se preparó una solución de la muestra de la manera indicada en el procedimiento de preparación de muestra, pesando 112,0 mg. Además, se preparó una solución de placebo. El peso de muestra fue el equivalente a 5 mg de desloratadina obtenido a partir de la determinación del peso promedio. Bajo las condiciones cromatográficas establecidas en la metodología, se inyectó en el cromatógrafo la fase móvil, la solución de placebo y la solución de muestra por triplicado, y la solución del estándar se inyectó seis (6) veces.

#### *LINEALIDAD E INTERVALO*

Las soluciones del estándar fueron preparadas a partir de una **solución madre (SM)** de la siguiente manera: 25,5 mg de desloratadina estándar de referencia se transfirieron cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, se agregó fase móvil, se colocó en un baño ultrasónico por quince (15) minutos y se llevó a volumen con el mismo solvente (concentración final: 0,2523 mg/mL). Para las diluciones desde una bureta de 10 mL se tomaron los siguientes volúmenes: 4,00; 4,50; 5,00; 5,50; y 6,00 mL de **SM** y cada uno se transfirió a un balón aforado de 25 mL

y se llevó a volumen con fase móvil; cada dilución fue mezclada y filtrada a través de una membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  para obtener las siguientes concentraciones: 0,0404; 0,0454; 0,0505; 0,0555 y 0,0606 mg/mL que representan soluciones al 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, respectivamente. Cada una de estas soluciones fueron inyectadas por triplicado en el cromatógrafo y se obtuvieron las áreas de los picos cromatográficos para cada nivel de concentración, realizándose una curva de calibración de área en función de la concentración final (mg/mL).

#### *PRECISIÓN DEL SISTEMA*

Se pesó 25,5 mg de desloratadina del estándar de referencia de la manera indicada en la Preparación del Estándar hasta obtener una concentración de 0,0505 mg/mL (correspondiente al 100%) y se inyectó en el cromatógrafo seis (6) veces. La aptitud del sistema fue determinada mediante el cálculo de los valores del factor de capacidad ( $k'$ ), el factor de cola ( $T$ ) y el número de platos teóricos ( $N$ ) para comprobar las condiciones cromatográficas.

#### *PRECISIÓN DEL MÉTODO*

Se preparó un estándar pesando 25,5 mg de desloratadina estándar de referencia para obtener una concentración de 0,0505 mg/mL, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente y tres (3) muestras al 80%, tres (3) muestras al 100% y tres (3) muestras al 120% de concentración. Para cada nivel de concentración se pesaron alrededor de 89,7 mg; 112,1 mg; y 134,5 mg de polvo de tableta, respectivamente, obteniéndose soluciones de aproximadamente las siguientes concentraciones 0,040; 0,050 y 0,060 mg/mL. Bajo las condiciones cromatográficas establecidas, se

inyectaron en el cromatógrafo cada muestra por triplicado y seis (6) veces la solución estándar de desloratadina. Se determinó el área de los picos cromatográficos correspondientes al analito y se cuantificó cada muestra para determinar el contenido de las tabletas de desloratadina.

#### *REPETIBILIDAD DEL MÉTODO*

Se preparó un estándar a la concentración de trabajo (100%) pesando 25,5 mg de desloratadina estándar de referencia para obtener una concentración de 0,0505 mg/mL y seis (6) muestras al 100% de la manera indicada en la preparación de la muestra. Se inyectó en el cromatógrafo seis (6) veces la solución de estándar de desloratadina y cada muestra por triplicado. Se determinó el área de los picos cromatográficos correspondientes al analito y el contenido de desloratadina en cada muestra.

#### *PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO*

Este análisis se realizó durante tres días consecutivos, empleándose las soluciones de estándar y muestras preparadas para evaluar la precisión del método, utilizando sólo las muestras de concentración al 100%. Para ello se inyectó en el cromatógrafo cada día las muestras por triplicado y la solución estándar seis (6) veces. Se determinó el resultado del contenido para cada muestra, el valor promedio y la DER correspondiente.

#### *ROBUSTEZ DEL MÉTODO*

Para la determinación se realizó un cambio aleatorio en las condiciones cromatográficas. Se utilizó la solución de estándar y las muestras al 100% de concentración preparadas en la precisión del método. Se inyectaron nuevamente en

el equipo de HPLC aplicando un cambio en la longitud de onda del detector. Las condiciones iniciales fueron: Longitud de onda:  $\lambda = 254$  nm. El cambio aplicado: Longitud de onda:  $\lambda = 249$  nm. Una vez obtenidos los cromatogramas correspondientes a cada muestra, se cuantificó y se obtuvo el contenido de cada muestra, el valor promedio y se comparó los resultados con los obtenidos bajo las condiciones iniciales establecidas en la metodología.

#### *EXACTITUD DEL MÉTODO*

Se preparó un estándar a la concentración de trabajo (100%) pesando 25,6 mg de desloratadina estándar de referencia para obtener una concentración de 0,0507 mg/mL siguiendo el procedimiento de preparación de estándar descrito. Así mismo, se prepararon tres (3) muestras al 50%, tres (3) muestras al 100% y tres (3) muestras al 150% de concentración, pesando placebo y principio activo; Las muestras fueron preparadas de la siguiente manera: **Muestras al 50%:** Se pesó alrededor de 10 mg de desloratadina y 214 mg de placebo, se transfirieron cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, se agregó fase móvil y se colocó en baño ultrasónico durante quince (15) minutos, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Se tomó una alícuota de 25,0 mL y se transfirió a un balón aforado de 100 mL, se llevó a volumen con fase móvil y se mezcló (concentración final: 0,025 mg/mL). **Muestras al 100%:** Se pesó alrededor de 10 mg de desloratadina y 214 mg de placebo, se transfirieron cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, se agregó fase móvil y se colocó en baño ultrasónico durante quince (15) minutos, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Se tomó una alícuota de 5,0 mL y se transfirió

a un balón aforado de 10 mL, se llevó a volumen con fase móvil y se mezcló (concentración final: 0,050 mg/mL). **Muestras al 150%:** Se pesó alrededor de 9,4 mg de desloratadina y 214,6 mg de placebo, se transfirió cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, se agregó fase móvil y se colocó en baño ultrasónico durante quince (15) minutos, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Se tomó una alícuota de 20,0 mL y se transfirió a un balón aforado de 25 mL, se llevó a volumen con fase móvil y se mezcló (concentración final: 0,075 mg/mL). Todas las muestras fueron filtradas a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Cada muestra se inyectó en el cromatógrafo por triplicado y la solución de estándar se inyectó seis (6) veces, se obtuvo los cromatogramas correspondientes y se determinó en cada caso el porcentaje de recuperación del analito.

Se realizó una curva de calibración graficando la concentración de desloratadina recuperada (mg/mL) en función de la concentración de desloratadina real (mg/mL), se determinó el valor de la pendiente de la curva, el intervalo de confianza y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

#### *LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN*

Se utilizaron los métodos propuestos por la Conferencia Internacional de Armonización (ICH, 2005) para estimar la mínima cantidad de muestra que puede ser detectable y la que puede ser cuantificable. Se emplearon los métodos basados en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente. Inicialmente, para el cálculo de la desviación estándar de la respuesta, se prepararon 10 soluciones de blanco, que incluyeron la matriz de la muestra (placebo) y se determinó sus

cromatogramas para determinar la señal promedio y su correspondiente desviación estándar. Posteriormente, se inyectaron soluciones de muestras de desloratadina de concentración conocida y se evaluó la calidad cromatográfica en términos del valor de la relación señal/ruido utilizando el placebo como referencia.

#### *ENSAYO DE DISOLUCIÓN*

##### *CONDICIONES*

Medio de Disolución: ácido clorhídrico 0,1 N; Volumen: 500 mL; Aparato: 2 (paletas); Velocidad: 50 r.p.m.; Tiempo de Disolución: 45 minutos.

##### *PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR*

Se pesó alrededor de 20 mg de desloratadina estándar de referencia, se transfirieron cuantitativamente a un balón aforado de 200 mL, se añadió 150 mL de medio de disolución y se llevó a baño ultrasónico durante diez (10) minutos. Se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Una alícuota de 5,0 mL de esta solución se transfirió a un balón aforado de 50 mL, llevando a volumen con medio de disolución y mezclando posteriormente. Una alícuota de 5,0 mL fue transferida a un balón aforado de 10 mL, se llevó a volumen con fase móvil, se mezcló y filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . La concentración final de desloratadina en el estándar fue de 0,005 mg/mL.

##### *PREPARACIÓN DE LA MUESTRA*

Una vez transcurrido el tiempo de disolución, se tomaron volúmenes de cada vaso del disolutor y se filtraron a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Una alícuota de 5,0 mL fue transferida a un balón aforado de 10 mL, se llevó a volumen con fase móvil, se mezcló y filtró a través de

membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . La concentración final de desloratadina en la muestra fue igual a 0,005 mg/mL.

#### *ESPECIFICIDAD*

Las muestras y estándar fueron preparadas en una solución de ácido clorhídrico 0,1 N y luego diluidas al 50% en fase móvil, por lo que se llevó a cabo el estudio del parámetro de especificidad tomando en cuenta este aspecto. La preparación del solvente y placebo se describe a continuación. Solvente: Se realizó una mezcla de fase móvil y ácido clorhídrico 0,1 N en proporción 1:1 y se filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Placebo: Se pesó 56,0 mg de la preparación de placebo y se transfirió cuantitativamente a un balón de 250 mL, se agregó 100 mL de HCl 0,1 N y se disolvió colocando en un baño ultrasónico por un tiempo de quince (15) minutos, se llevó a volumen con el mismo solvente. Se tomó una alícuota de 5,0 mL de esta solución, se transfirió a un balón de 10 mL y se completó hasta el aforo con fase móvil, se mezcló y filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Una vez preparadas las diferentes soluciones, se inyectó en el cromatógrafo la fase móvil, el solvente, la solución de placebo y la solución de muestra por triplicado, y la solución de estándar se inyectó seis (6) veces, para obtener las condiciones del aptitud del sistema, bajo las condiciones cromatográficas establecidas en la metodología.

#### *LINEALIDAD E INTERVALO*

Se llevó a cabo analizando soluciones de estándar a 5 niveles de concentración (Q-25%; Q-15%; Q+5%; Q+15%; Q+25% - Donde Q= 80%, que es la especificación para la cantidad de principio activo disuelto según la metodología analítica

establecida (USP 38, NF 33, 2015d). Se preparó una **solución madre (SM)** a una concentración final de 0,1044 mg/mL y para las diluciones se midieron desde una bureta de 10 mL los siguientes volúmenes: 2,75; 3,25; 4,25; 4,75 y 5,25 mL de la **SM** y cada uno se trasvasó a un balón aforado de 50 mL y se llevaron a volumen con HCL 0,1N. Una alícuota de 5,0 mL de cada una de las soluciones se llevó a volumen final de 10 mL con fase móvil, se mezclaron las soluciones para obtener las siguientes concentraciones: 0,00287; 0,00339; 0,00444; 0,00496 y 0,00548 mg/mL que representaron el 55%, 65%, 85%, 95% y 105% respectivamente. Todas las soluciones se filtraron a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Una vez preparadas las soluciones, se inyectaron cada una por triplicado en el cromatógrafo, se obtuvieron las áreas de los picos cromatográficos para cada nivel de concentración y se realizó una curva de calibración de área en función de la concentración final de desloratadina (mg/mL).

#### *PRECISIÓN DEL SISTEMA*

Se preparó una solución de estándar al 100%, siguiendo el procedimiento indicado anteriormente, pesando 20,8 mg de desloratadina estándar de referencia para obtener una concentración de 0,0051 mg/mL. Una vez preparada la solución, se inyectó en el cromatógrafo seis (6) veces.

#### *PRECISIÓN DEL MÉTODO*

Se preparó una solución de estándar al 100%, pesando 20,8 mg de estándar de referencia de desloratadina, para obtener una concentración de 0,0051 mg/mL. Las muestras fueron preparadas como se indicó en Preparación de la Muestra y una vez transcurrido el tiempo de disolución se inyectaron en el cromatógrafo por



triplicado y seis (6) veces la solución estándar para llevar a cabo la cuantificación del porcentaje de disolución.

#### *PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO*

Del mismo modo que en el ensayo de contenido, se evaluó la precisión intermedia del método de disolución, llevando a cabo el análisis de precisión del método con las muestras y el estándar preparados durante tres (3) días consecutivos, manteniendo las condiciones cromatográficas establecidas en la metodología. Para ello se inyectó en cromatógrafo cada día las muestras al 100% de concentración por triplicado y la solución estándar correspondiente se inyectó seis (6) veces. Las muestras fueron cuantificadas, durante los tres (3) días de análisis y se obtuvo un valor promedio y la desviación estándar relativa respectiva.

#### *ENSAYO DE UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN:*

La determinación de la uniformidad, según la metodología establecida, se llevó a cabo utilizando la misma solución estándar del ensayo de contenido.

#### *PREPARACIÓN DE LA MUESTRA*

Individualmente, se transfirieron las tabletas a cada uno de 10 balones aforados de 50 mL, se agregó 20 mL de fase móvil y se llevó a baño ultrasónico durante quince (15) minutos. Se dejó enfriar, se llevó a volumen con el mismo solvente y se mezcló. Una alícuota de 5,0 mL fue transferida a un balón aforado de 10 mL, se llevó a volumen con fase móvil, se mezcló y filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . La concentración final de desloratadina tanto en el estándar como en la muestra fue de 0,050 mg/mL.

#### *LINEALIDAD E INTERVALO*

Se prepararon soluciones de estándares a partir de una **solución madre (SM)** preparada de la siguiente manera: se pesó 25,5 mg de desloratadina estándar de referencia, se transfirió cuantitativamente a un balón aforado de 100 mL, se agregó fase móvil, se colocó en un baño ultrasónico por quince (15) minutos, se llevó a volumen con el mismo solvente (concentración final: 0,2523 mg/mL). Para las diluciones, desde una bureta de 10 mL se tomaron los siguientes volúmenes: 3,50; 4,25; 5,00; 5,75 y 6,50 de **SM** y cada uno se trasvasó a un balón aforado de 25 mL y se llevó a volumen con fase móvil y se filtró a través de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  para obtener las siguientes concentraciones: 0,0353; 0,0429; 0,0505; 0,0580 y 0,0656 mg/mL que representan soluciones al 70%, 85%, 100%, 115% y 130% respectivamente. Cada una de las soluciones preparadas se inyectó por triplicado en el cromatógrafo, se obtuvo las áreas de los picos cromatográficos para cada nivel de concentración y se realizó una curva de calibración de área en función de la concentración final (mg/mL).

#### *PRECISIÓN DEL MÉTODO*

La precisión del método se llevó a cabo evaluando diez (10) muestras al 100% de concentración preparadas cada una a partir de una tableta, siguiendo el procedimiento señalado anteriormente, utilizando para su cuantificación una solución de estándar preparada del modo indicado en la metodología del ensayo de contenido, pesando 25,1 mg de desloratadina estándar de referencia para obtener una concentración de 0,0497 mg/mL. Bajo las condiciones cromatográficas establecidas, se inyectó en el cromatógrafo cada muestra por

triplicado y seis (6) veces la solución de estándar de desloratadina. Se determinó el área de los picos cromatográficos correspondientes al analito y se cuantificó cada muestra para determinar la uniformidad de unidades de dosificación de desloratadina.

## Resultados y discusión

La validación del método de HPLC para los ensayos de contenido, disolución y uniformidad de unidades de dosificación de desloratadina en tabletas de 5 mg, fue llevada a cabo de acuerdo a lo establecido en la Farmacopea de Estados Unidos (USP 38, NF 33, 2015a) y siguiendo los procedimientos descritos por la ICH (2005).

### ENSAYO DE CONTENIDO

#### ESPECIFICIDAD

Se obtuvieron los cromatogramas de una solución de estándar de desloratadina y una muestra; se compararon los tiempos

de retención de los picos cromatográficos del analito y se determinó que en ambos casos el tiempo de retención fue de 3,7 minutos. Por otra parte, se realizaron las inyecciones de fase móvil y placebo para verificar la ausencia de interferencias con el pico cromatográfico de desloratadina. Se comprobó que no hay picos que interfieran en la determinación del analito en el ensayo de contenido. Los cromatogramas correspondientes a la evaluación de este parámetro se muestran en la **figura 1**. Con estos resultados se comprobó que el método de determinación de desloratadina en comprimidos no se vio afectado por los componentes de la fase móvil, ni por las sustancias presentes en la matriz de la muestra.

#### LINEALIDAD E INTERVALO

La linealidad fue evaluada mediante la elaboración de una curva de calibración (**Figura 2**) obtenida de la preparación de soluciones de estándar a 5 niveles de concentración, en un rango de 80% a 120% de la concentración establecida en

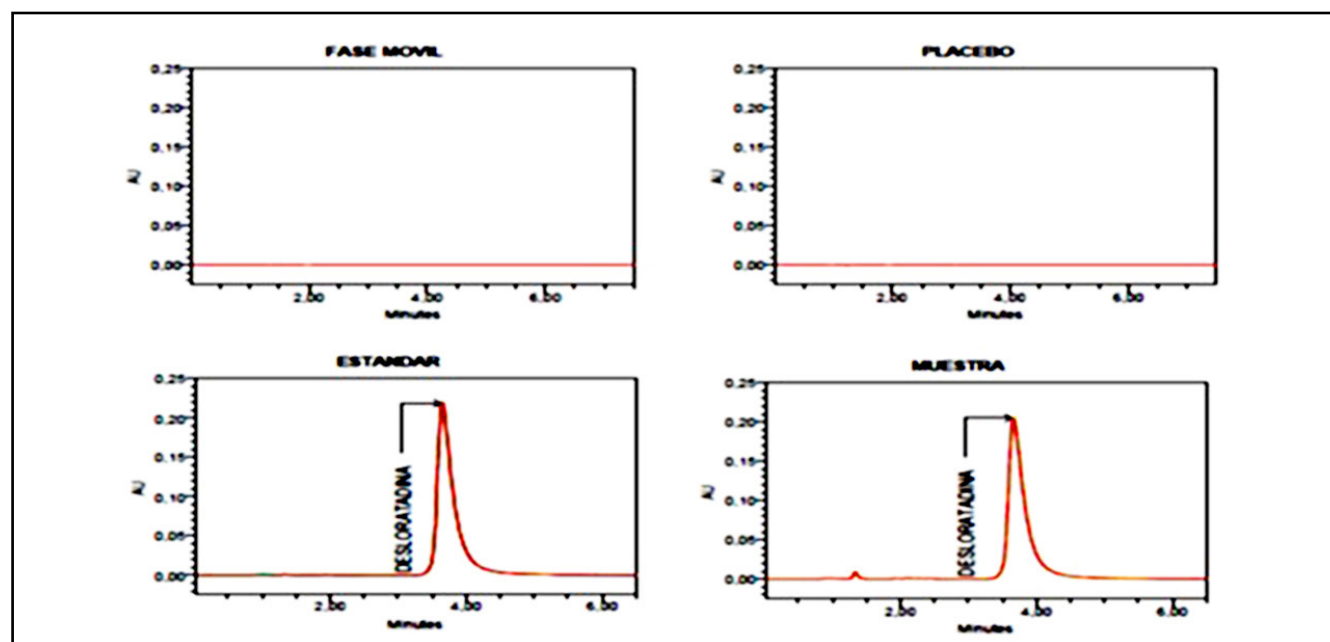


Figura 1. Cromatogramas de fase móvil, placebo, estándar y muestra para la evaluación de la especificidad del ensayo de contenido

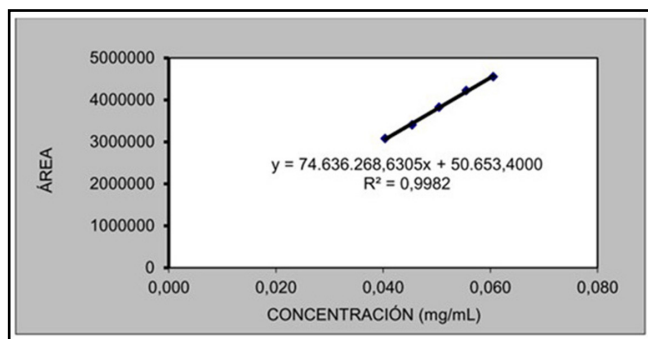


Figura 2. Curva de calibración de linealidad del ensayo de contenido

la metodología, que fue de 0,05 mg/mL. Se comprobó la linealidad del método en el rango de concentraciones entre 0,0404 mg/mL y 0,0606 mg/mL, ya que se obtuvo un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9982$  que se encontró dentro del límite definido en el criterio de aceptación de 0,99 (Miller y Miller, 2002).

#### PRECISIÓN DEL SISTEMA

En la **tabla I** se muestran los resultados asociados a la evaluación de la precisión del sistema. Se obtuvo una DER de 0,41%, cumpliendo con el criterio de aceptación establecido para este parámetro de valores menores al 2% (Ministerio de Costa Rica, 2014). Por otra parte, se determinaron los parámetros de aptitud del sistema y los resultados fueron de  $T = 1,97$ ;  $k' = 2,65$  y

Tabla I  
Evaluación de la precisión del sistema en el ensayo de contenido

Estándar	Área
1	3808244
2	3803446
3	3815689
4	3833210
5	3832617
6	3843160
Promedio	<b>3822728</b>
DER (%)	<b>0,41</b>

\*DER = desviación estándar relativa

$N = 1238$ . Los valores tanto de  $T$  como  $k'$  estuvieron dentro de límites aceptables, sin embargo, el valor de  $N$  se encontró por debajo de los mismos (Regnault, 2005).

#### PRECISIÓN DEL MÉTODO

La precisión del método fue evaluada preparando muestras a tres niveles de concentración, entre 80% y 120% de la concentración de trabajo. Los resultados de este ensayo se observan en la **tabla II**, las muestras fueron cuantificadas empleando la solución estándar utilizada en la precisión del sistema. Se encontraron resultados reproducibles en las variaciones de la concentración del analito estudiadas.

Tabla II  
Precisión del método para el ensayo de contenido

Muestra	Peso (mg)	Área	Promedio área	Contenido (%)
M1 (80%)	89,6	2906685	2912814	96,22
		2920216		
		2911540		
M2 (80%)	89,1	2864848	2862834	95,1
		2861427		
		2862226		
M3 (80%)	89,7	2880927	2886540	95,25
		2884096		
		2894598		
M1 (100%)	112	3640929	3640440	96,21
		3646230		
		3634161		
M2 (100%)	112,4	3731237	3720228	97,97
		3720036		
		3709411		
M3 (100%)	112,8	3666768	3652422	95,84
		3657423		
		3633076		
M1 (120%)	134,7	4335742	4328888	95,12
		4326996		
		4323926		
M2 (120%)	134,9	4458194	4465836	97,99
		4463589		
		4475724		
M3 (120%)	134,6	4423292	4417139	97,14
		4414776		
		4413350		
Contenido promedio (%)				<b>96,32</b>
DER (%)				<b>1,19</b>

\*DER= desviación estándar relativa

**REPETIBILIDAD DEL MÉTODO**

Para la evaluación de la repetibilidad del método se evaluó la precisión tomando en cuenta muestras preparadas a la concentración de trabajo establecida en la metodología. El ensayo de contenido mostró un resultado de repetibilidad dentro de los límites de aceptación establecidos menores al 2% (Ministerio de Costa Rica, 2014) (**Tabla III**).

**PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO**

Se realizó la determinación de la precisión intermedia durante tres días consecutivos, utilizando para ello las mismas muestras de precisión del método, las cuales fueron almacenadas en la nevera e inyectadas en el cromatógrafo conjuntamente con su solución estándar. En la **tabla IV** se presentan los resultados obtenidos para este parámetro. DER promedio de las

Tabla III  
**Repetibilidad del método del ensayo de contenido**

Muestra	Peso (mg)	Área	Promedio área	Contenido (%)
M1 (100%)	112	3640929 3646230 3634161	3640440	96,21
M2 (100%)	112,4	3731237 3720036 3709411	3720228	97,97
M3 (100%)	112,8	3666768 3657423 3633076	3652422	95,84
M4 (100%)	112,8	3632349 3633112 3636680	3634047	95,36
M5 (100%)	112,6	3749961 3681441 3707938	3713113	97,61
M6 (100%)	112,5	3637461 3633304 3651609	3640791	95,79
Contenido promedio (%)				96,46
DER (%)				1,11

\*DER= desviación estándar relativa

áreas de los picos cromatográficos de las soluciones estándar utilizadas fue de 0,67% para los tres días evaluados.

Con este ensayo también se pudo evaluar la estabilidad de las muestras preparadas ya que los resultados no presentaron variaciones significativas, durante los tres días de análisis, ya que el contenido de desloratadina disminuyó sólo 1,80% el día 3 respecto al contenido inicial. Bajo las mismas condiciones cromatográficas se obtuvieron los parámetros de aptitud del sistema, en los tres días de análisis y se observó un aumento en  $k'$  y  $T$ , así como una disminución de  $N$ . Esto indicó que al incrementar el tiempo de preparación de las muestras y el estándar, disminuye la eficiencia de la separación cromatográfica. El tiempo de retención de los picos cromatográficos, que inicialmente fue de 3,6 minutos en el tercer día de análisis alcanzó 4,1 minutos. Es importante resaltar que aunque se cumplió con los criterios de aceptación del parámetro de precisión intermedia, ya que la desviación estándar relativa fue menor de 2% (Ministerio de Costa Rica, 2014), la disminución de la eficiencia de la separación cromatográfica es un factor de peso en la metodología de análisis, por lo tanto las muestras deben analizarse el día de su preparación para obtener resultados óptimos.

**ROBUSTEZ DEL MÉTODO**

La capacidad del método de no ser afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en las condiciones analíticas fue evaluada aplicando un cambio aleatorio a la longitud de onda del detector del cromatógrafo y realizando nuevamente la corrida de las muestras del ensayo de precisión del método. La metodología de ensayo establece una longitud de onda de

Tabla IV  
Precisión intermedia del método para el ensayo de contenido

Muestra	Peso (mg)	Día 1		Día 2		Día 3	
		Área	Contenido (%)	Área	Contenido (%)	Área	Contenido (%)
1	112	3640929	96,22	3686376	94,1	3905237	95,2
		3646230	96,36	3675523	93,82	3914045	95,41
		3634161	96,04	3685156	94,07	3915888	95,46
2	112,4	3731237	98,26	3796655	96,57	3816244	92,7
		3720036	97,96	3801302	96,68	3817269	92,72
		3709411	97,68	3810843	96,93	3832416	93,09
3	112,8	3666768	96,22	3833945	97,17	3979195	96,31
		3657423	95,97	3849864	97,57	3984685	96,44
		3633076	95,33	3850494	97,59	4000237	96,82
Promedio			<b>96,67</b>		<b>96,05</b>		<b>94,9</b>
DER (%)			<b>1,06</b>		<b>1,65</b>		<b>1,73</b>
Contenido promedio - 3 Días (%)							<b>95,88</b>
DER (%)							<b>0,94</b>

\*DER= desviación estándar relativa

254 nm y en la evaluación de robustez se cambió a 249 nm. Los resultados de este cambio en comparación con los iniciales se encuentran en la **tabla V**.

Al observar los resultados de la **tabla V**, se pudo determinar que existió una diferencia entre los promedios de

contenido igual de solo 0,88% bajo las nuevas condiciones de análisis. Por otra parte, también se mantuvo la precisión del método ya que los resultados de contenido promedio a la nueva longitud de onda mantuvieron una DER menor del 2%, tal como en las condiciones iniciales.

Tabla V  
Robustez del método para el ensayo de contenido

Muestra	Peso (mg)	$\lambda = 254 \text{ nm}$		$\lambda = 249 \text{ nm}$	
		Área	Contenido (%)	Área	Contenido (%)
1	112,0	3640929	96,22	3712170	94,67
		3646230	96,36	3735480	95,27
		3634161	96,04	3717294	94,8
2	112,4	3731237	98,26	3874085	98,45
		3720036	97,96	3838438	97,55
		3709411	97,68	3839660	97,58
3	112,8	3666768	96,22	3756821	95,13
		3657423	95,97	3747067	94,89
		3633076	95,33	3704074	93,8
Promedio			<b>96,67</b>		<b>95,79</b>
DER (%)			<b>1,06</b>		<b>1,69</b>

\*DER= desviación estándar relativa

**EXACTITUD DEL MÉTODO**

La exactitud del método de determinación de desloratadina fue realizada tomando en cuenta el porcentaje de recuperación del analito en la matriz de una muestra de composición similar a los comprimidos. Se comprobó en un intervalo de concentraciones entre 0,025 mg/mL y 0,075 mg/mL de desloratadina, y una vez obtenidos los cromatogramas, se realizaron los cálculos correspondientes y se obtuvo los resultados que se resumen en la **tabla VI**.

El porcentaje de recuperación obtenido fue de 101,18% con una DER menor a 2,0% y por tanto se cumplió con el criterio de aceptación que lo ubica entre 98,0% y 102,0% (Ministerio de Costa Rica, 2014). Se elaboró una curva de calibración, la cual se muestra en la **figura 3** y a partir de los datos que la componen se determinó el intervalo de confianza de la pendiente de la curva, el cual se encontró entre 1,00049 – 1,03192, cumpliendo con otro de los criterios de aceptación de este parámetro, que indica que debe estar alrededor de 1 (Ministerio de Costa Rica, 2014). Se observa que la concentración

Tabla VI  
**Exactitud del método para el ensayo de contenido**

Muestra	Peso de placebo (mg)	Peso real de desloratadina (mg)	Concentración real (mg/mL)	Área	Promedio de áreas	Concentración recuperada (mg/mL)	Recuperación (%)
M1 (50%)	214,0	10,13	0,0253	1883714 1888087 1897074	1889625	0,0258	102,03
M2 (50%)	214,3	10,13	0,0253	1863065 1859566 1850064	1857565	0,0254	100,3
M3 (50%)	214,9	10,83	0,0271	1996156 1992481 1995745	1994794	0,0273	100,73
M1 (100%)	214,5	10,73	0,0536	3977700 3982621 3976219	3978847	0,0544	101,4
M2 (100%)	214,1	10,43	0,0521	3874489 3870805 3883457	3876250	0,053	101,63
M3 (100%)	214,3	10,43	0,0521	3820605 3822669 3828281	3823852	0,0523	100,26
M1 (150%)	214,1	9,73	0,0778	5746440 5751964 5761042	5753149	0,0787	101,08
M2 (150%)	214,0	9,43	0,0754	5637418 5644425 5655157	5645667	0,0772	102,36
M3 (150%)	214,3	9,43	0,0754	5568921 5550223 5570971	5563372	0,0761	100,87
Promedio							<b>101,18</b>
DER (%)							<b>0,72</b>

\*DER= desviación estándar relativa

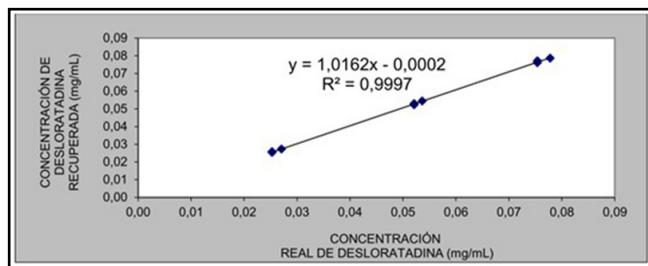


Figura 3. Curva de calibración de exactitud del método para el ensayo de contenido

de desloratadina recuperada en la metodología es directamente proporcional a la concentración real del analito.

#### LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El equipo de HPLC no mostró resultado alguno de área al tiempo de retención del analito para las 10 soluciones del blanco preparadas, que incluyeron la matriz de la muestra (placebo) es decir no se encontró ningún pico cromatográfico. Tomando en cuenta esto, se llevó a cabo el segundo procedimiento para la determinación experimental de los límites que consistió en realizar inyecciones en el cromatógrafo de soluciones de concentraciones conocidas de desloratadina hasta encontrar una concentración cuya señal correspondiera a 3 veces la señal del ruido del equipo para el límite de detección, y de 10 veces la señal del ruido instrumental para el límite de cuantificación. En la **figura 4** se muestra la comparación del cromatograma de la solución de desloratadina a una concentración de

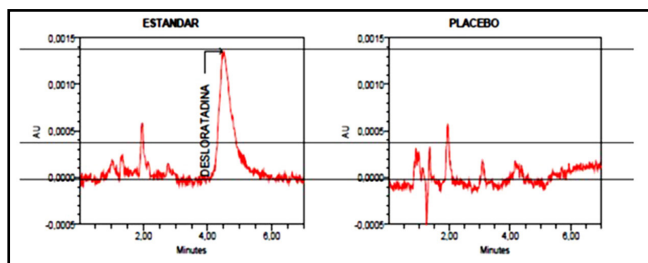


Figura 4. Cromatogramas de determinación del límite de detección

0,00051 mg/mL, y se observa que la señal del pico cromatográfico es tres veces mayor que el nivel del ruido (relación señal ruido 3:1), por lo tanto esta concentración fue establecida como el límite de detección de la metodología. La **figura 5** muestra los cromatogramas correspondientes a la determinación de la concentración del límite de cuantificación; en este caso se aprecia que la señal del pico cromatográfico de desloratadina es aproximadamente 10 veces mayor que el nivel de ruido del equipo (relación señal-ruido 10:1), por lo que se estableció que la concentración del límite de cuantificación fue 0,00101 mg/mL.

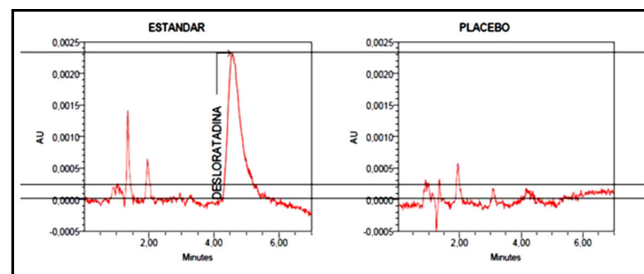


Figura 5. Cromatogramas de determinación del límite de cuantificación

#### ENSAYO DE DISOLUCIÓN

#### ESPECIFICIDAD

Se obtuvieron los cromatogramas de la fase móvil, el solvente (mezcla de ácido clorhídrico y fase móvil en proporción 1:1), y soluciones de placebo, estándar y muestra, tal como se observa en la **figura 6**.

La fase móvil, el solvente y el placebo no interfirieron en la determinación de la desloratadina, y los picos cromatográficos de la solución de estándar y muestra presentaron el mismo tiempo de retención de 4,3 minutos. En todos los cromatogramas se observaron picos a un tiempo menor de los 2 minutos, pero estos no fueron atribuidos al analito y no



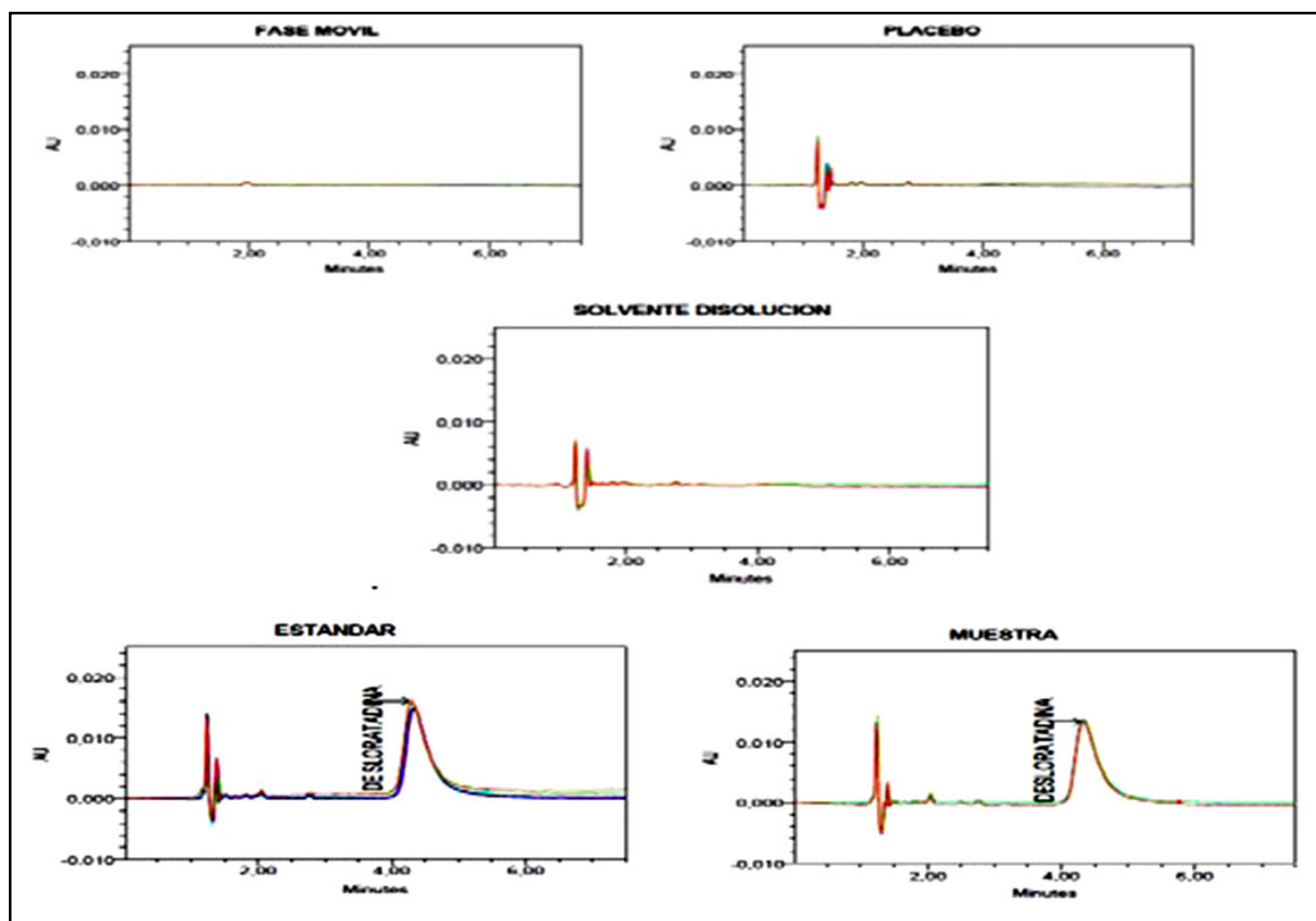


Figura 6. Cromatogramas de fase móvil, solvente, placebo, estándar y muestra para la evaluación de la especificidad del ensayo de disolución.

afectaron la separación cromatográfica del pico principal, por lo que la metodología cumplió con los criterios de aceptación de la USP (USP 38, NF 33, 2015d) que establece que toda interferencia no debe exceder el 2%.

#### LINEALIDAD

Se validó el parámetro de linealidad del ensayo de disolución elaborando una curva de calibración de soluciones de estándar a concentraciones de Q-25%; Q-15%; Q+5%; Q+15%; Q+25%, tomando como Q= 80% de la concentración de trabajo de 0,005 mg/mL. En la **figura 7** se muestra la curva de calibración obtenida para la evaluación de la linealidad del método de disolución. Esta presentó

un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9967$ , que cumplió con los criterios de aceptación establecidos de  $R^2 \geq 0,98$  (USP 38, 2015d). El método de determinación de desloratadina bajo las condiciones establecidas en el ensayo de disolución fue lineal en el rango de 0,0029 mg/mL hasta 0,0055 mg/mL de concentración.

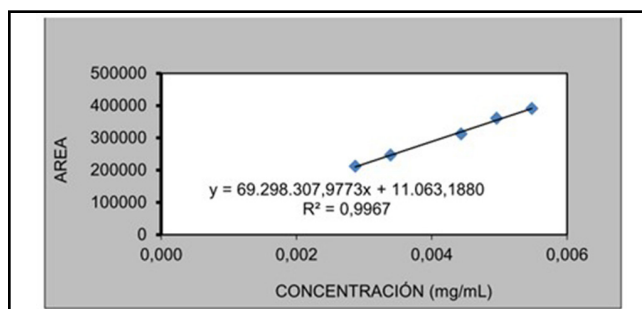


Figura 7. Curva de calibración de linealidad del ensayo de disolución



**PRECISIÓN DEL SISTEMA**

Del mismo modo que en el ensayo de contenido, se determinó la precisión y los parámetros de aptitud del sistema realizando seis corridas de una solución de estándar de desloratadina, a una concentración de 0,0051 mg/mL. En la **tabla VII** se presentan los resultados obtenidos de esta solución de estándar.

**Tabla VII**  
**Evaluación de la precisión del sistema del ensayo de disolución**

Estándar	Área
1	361939
2	361458
3	360414
4	361474
5	361600
6	362311
Promedio	<b>361533</b>
DER (%)	<b>0,18</b>

\*DER= desviación estándar relativa

En referencia a los parámetros de aptitud del sistema se pudo observar una marcada disminución de N respecto a los obtenidos en el ensayo de contenido, ya que pasaron de 1238 a 833, lo cual implicó una caída en la eficiencia de la separación cromatográfica y un incremento en el ancho de los picos cromatográficos. Estos resultados probablemente se deben a la diferencia en solventes utilizados en ambos ensayos, sin embargo los resultados obtenidos en precisión del sistema llenaron los criterios esperados.

**PRECISIÓN DEL MÉTODO**

La precisión del método fue llevada a cabo analizando soluciones de muestra preparadas siguiendo las condiciones de

disolución indicadas en la metodología, las cuales fueron cuantificadas utilizando la solución de estándar a una concentración de 0,0051 mg/mL. Los resultados se muestran en la **tabla VIII**, y pudo comprobarse que el método fue preciso ya que se obtuvo una DER del porcentaje de disolución promedio de 1,11%, cumpliendo así con el criterio de aceptación de una repetibilidad menor o igual al 2% (USP 38, NF 33, 2015d).

**Tabla VIII**  
**Precisión del método del ensayo de disolución**

Estándar	Área	Disolución (%)
1	3640929 3646230 3634161	96,21
2	3731237 3720036 3709411	97,97
3	3666768 3657423 3633076	95,84
4	3632349 3633112 3636680	95,36
5	3749961 3681441 3707938	97,61
6	3637461 3633304 3651609	95,79
Disolución promedio		<b>96,46</b>
DER (%)		<b>1,11</b>

\*DER= desviación estándar relativa

Los resultados obtenidos cumplieron con el criterio de S1 (USP 38, NF 33, 2015b) o disolución en etapa 1, ya que cada unidad de dosificación tuvo un porcentaje de disolución superior a Q+5%, que en este caso fue 85%.

**PRECISIÓN INTERMEDIA DEL MÉTODO**

En el método de disolución se evaluó la precisión intermedia del mismo modo

que en el contenido, realizando el ensayo durante 3 días consecutivos habiéndose obtenido una DER para el estándar de 0,22%. Los resultados obtenidos se muestran en la **tabla IX**.

En la **tabla IX** se puede observar que el porcentaje de desloratadina disuelto disminuye al incrementar el número de días de preparación de las muestras, sin embargo los resultados permanecen conformes, según los criterios de aceptación de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 38, NF 33, 2015b) y los criterios de precisión intermedia del método. Los resultados de los parámetros de aptitud del sistema mostraron que al incrementar el tiempo de preparación de las soluciones, disminuyó la eficiencia de la separación cromatográfica en todos los aspectos, ya que se produjo un aumento del tiempo de retención, de 4,2 minutos a

4,6 min en el tercer día. Así mismo, T y el k' sufrieron un incremento en su valor y se obtuvo una reducción de N que afectó la forma del pico cromatográfico.

#### UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN

#### LINEALIDAD

La linealidad fue evaluada en el rango de 70% a 130% de la concentración de trabajo como indica la ICH (2005). La curva de calibración, mostrada en la **figura 8**, mostró tendencia lineal y cumplió con el criterio de aceptación para el coeficiente de regresión de 0,99 (Miller y Miller, 2002).

Con el estudio se amplió el rango lineal de la metodología de determinación de desloratadina por HPLC bajo las condiciones cromatográficas

Tabla IX  
**Precisión intermedia para el método para el ensayo de disolución**

Muestra	Día 1		Día 2		Día 3	
	Área	Disolución (%)	Área	Disolución (%)	Área	Disolución (%)
1	348346	99,14	346275	96,72	341328	95,24
	345918	98,45	344974	96,36	347134	96,86
	345913	98,45	346826	96,87	348396	97,21
2	343904	97,88	345238	96,43	344746	96,20
	343616	97,80	314832	87,94	348248	97,17
	345493	98,33	344705	96,28	351000	97,94
3	348166	99,09	351090	98,06	346319	96,63
	344230	97,97	349692	97,67	350880	97,91
	345933	98,46	349799	97,7	347332	96,92
4	342901	97,59	349627	97,66	344265	96,06
	342991	97,62	340361	95,07	347132	96,86
	347887	99,01	345263	96,44	345683	96,46
5	336083	95,65	347308	97,01	340840	95,11
	340787	96,99	353507	98,74	339697	94,79
	341647	97,24	347383	97,01	341377	95,26
6	347140	98,80	361041	100,84	344905	96,24
	348287	99,13	354621	99,05	348240	97,17
	342318	98,80	358314	100,08	350213	97,72
Promedio	<b>98,06</b>		<b>97,00</b>		<b>96,54</b>	
DER (%)	<b>0,92</b>		<b>2,76</b>		<b>1,0</b>	
Disolución promedio - 3 Días (%)						<b>97,2</b>
DER (%)						<b>0,8</b>

\*DER= desviación estándar relativa

establecidas, respecto al establecido en el ensayo de contenido, ya que en este caso se obtuvieron resultados dentro de los criterios de aceptación para un rango entre 0,0353 mg/mL y 0,0656 mg/mL.

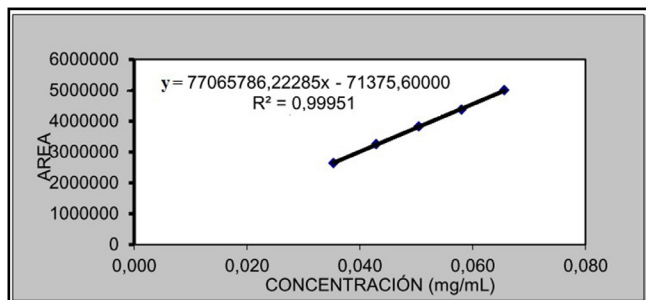


Figura 8. Curva de calibración de linealidad del ensayo de uniformidad de unidades de dosificación

#### PRECISIÓN DEL MÉTODO

La precisión se evaluó bajo las mismas condiciones del ensayo de contenido, pero en este caso la preparación de las muestras en lugar de realizarse con polvo de tabletas, se llevó a cabo con un comprimido individual. En la **tabla X** se indican los resultados obtenidos a partir de los cromatogramas de las soluciones de las muestras analizadas. La DER para el estándar fue de 0,36%. Se pudo establecer que el ensayo de uniformidad de unidades de dosificación de la metodología de determinación de desloratadina en comprimidos es un método preciso, ya que cumplió con los criterios de aceptación establecidos los cuales fueron similares a los utilizados en el ensayo de contenido.

Finalmente, para confirmar la idoneidad del método de determinación de desloratadina en tabletas, se llevó a cabo la aplicación de los ensayos de contenido, disolución y uniformidad de unidades de dosificación bajo las condiciones ya validadas, a tres lotes diferentes del

Tabla X  
Evaluación de la precisión del método del ensayo de uniformidad de unidades de dosificación

Muestra	Área	Promedio áreas	Uniformidad (%)
1	3831184	3830047	101,61
	3832318		
	3826640		
2	3816061	3998958	106,09
	3828620		
	4352194		
3	3752840	3770980	100,05
	3776995		
	3783106		
4	3774603	3788491	100,51
	3789957		
	3800913		
5	3741918	3715799	98,58
	3673464		
	3732016		
6	3910386	3917713	103,94
	3923645		
	3919109		
7	3753206	3753096	99,57
	3754175		
	3751907		
8	3774674	3812202	101,14
	3828374		
	3833558		
9	3761957	3777568	100,22
	3778664		
	3792083		
10	3719698	3713689	98,53
	3716516		
	3704854		
Promedio			<b>101,02</b>
DER (%)			<b>2,35</b>

\*DER= desviación estándar relativa

producto desloratadina en tabletas de 5 mg obteniéndose resultados consistentes y reproducibles por lo cual puede ser aplicado como método de rutina.

#### Referencias bibliográficas

Abd El-Hay S, El-Mamml M, Shalaby A. 2016. Determination of clemastine hydrogen fumarate, desloratadine, losartan potassium and moxepirilHCl through binary complex formation with eosin. Arabian J Chem 9: 541–547.

- Bondili S, Ramya M. 2011. Method development and validation of desloratadine in bulk and its tablet dosage forms. *Int J Pharm Ind Res* 1: 245–250.
- El-Awady M, Belal F, Pyell U. 2013. Robust analysis of the hydrophobic basic analytes loratadine and desloratadine in pharmaceutical preparations and biological fluids by sweeping—cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. *J Chromatogr A* 1309 27: 64–75.
- ICH: International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1). ICH. Ginebra, 2005.
- Miller J., Miller J., Método de calibración en análisis instrumental: regresión y correlación. En: *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Prentice Hall: España, 2002. pp.115–116.
- Ministerio de Salud de Costa Rica. Guía de Validación de métodos analíticos. Costa Rica. 2014 Disponible en: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/GuiaValidaciondeMetodosAnaliticosdelMSdeCostaRica\\_2066.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/GuiaValidaciondeMetodosAnaliticosdelMSdeCostaRica_2066.pdf)
- OMS: Organización Mundial de la Salud. Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. Informe 32°. Ginebra, 1992. pp. 121–122.
- Patel RB, Patel MR, Mehta JB. 2017. Validation of stability indicating high performance liquid chromatographic method for estimation of desloratadine in tablet formulation. *Arabian J. Chem*; 10, S644–S650. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.10.026>.
- Regnault M. Desarrollo de un método analítico por HPLC. Caracas. Universidad Central de Venezuela: Caracas, 2005. Depósito legal: IF 2522003615374. ISBN No.980-12-0052-9
- Romero MA. Desarrollo de nuevas metodologías analíticas en el control de calidad de industrias farmacéuticas (Tesis doctoral. Monografía en Internet). Universidad Autónoma de Barcelona. Unidad de Química Analítica, Barcelona. 2001. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/3127> (18 de octubre de 2017).
- Unidad de Farmacología Clínica. Hospital General Universitario de Alicante. Medicamentos información y evaluación de novedades terapéuticas. Ficha Informativa N° 25: desloratadina; 2003.
- USP 38. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38. Formulario Nacional NF 33. United States Pharmacopeia. Ed. 38. Rockville: Mack Printing; 2015a. <1225> Validación de Procedimientos Analíticos. pp:1581–1587.
- USP 38. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38. Formulario Nacional NF 33. United States Pharmacopoeia. Ed. 38. Rockville: Mack Printing; 2015b. <711> Disolución. pp. 520–530.
- USP 38. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38. Formulario Nacional NF 33. United States Pharmacopeia. Ed. 38. Rockville: Mack Printing; 2015c. <905> Uniformidad de Unidades de Dosificación. pp. 727–731.
- USP 38. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 38. Formulario Nacional NF 33 United States Pharmacopeia. Ed. 38. Rockville: Mack Printing; 2015d. <1092> Procedimiento de Disolución: Desarrollo y Validación. pp. 1184–1192.