



Investigación en el desarrollo y validación de un método para el análisis de Diacereína en cápsulas duras

Investigation and development of a method for the validation of Diacerein in hard capsules

ANDREA K. HERNÁNDEZ CARTA^{1*}, GABRIELA V. CASTELLANOS²,
CONSTANZA E. DE SOUSA CADENAS³, MARISABEL BOR⁴

Resumen

El presente estudio desarrolló y validó un método analítico de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para cuantificar la diacereína (DCR) en cápsulas duras. El propósito fue establecer una metodología confiable para este principio activo, dado que las farmacopeas oficiales no disponen de un método validado para él. El desarrollo metodológico incluyó la selección de la longitud de onda (258 nm) y la elaboración de la fase móvil (solución de acetato de amonio 0,1 M / ACN / TEA en proporción 75:25:0,1; pH 6,00), logrando una separación eficiente en una columna Waters XBridge C18 3,5 μ m, 3,0 mm x 150 mm, a un flujo de 0,5 mL/min. Se realizó el tratamiento del patrón y de las muestras para asegurar resultados confiables. Los hallazgos revelaron que el método es lineal en el rango de 0,04 a 0,06 mg/mL ($R > 0,999$) y preciso, con una baja variabilidad (0,27% para el tiempo de retención y 1,13% para la repetibilidad del método). La exactitud confirmó que tenía una tasa de recuperación media de 99,66 %. Un aspecto novedoso es su especificidad, como indicador de estabilidad, lo que demuestra la capacidad de cuantificar DCR, incluso ante una degradación forzada y completa en condiciones básicas. Adicionalmente, el método demostró ser robusto frente a pequeñas variaciones en los parámetros cromatográficos y su aplicabilidad en muestras locales resultó acertada. En conclusión, se ha establecido y validado exitosamente un método por HPLC para la determinación y cuantificación de diacereína en cápsulas duras, que cumple con las directrices regulatorias y ofrece una herramienta confiable y sensible.

Palabras clave: HPLC, Diacereína, Desarrollo, Validación, Control de calidad, Indicadores de estabilidad

Abstract

The present study developed and validated an analytical method using high-performance liquid chromatography (HPLC) to quantify Diacerein (DCR) in hard capsules. The purpose was to establish a reliable methodology for this active pharmaceutical ingredient, as official pharmacopeias do not currently present a validated method for it. The methodological development included the selection of the wavelength (258 nm) and the elaboration of the mobile phase (0.1M ammonium acetate solution / ACN / TEA in a 75:25:0.1 ratio, pH 6.00), achieving efficient separation with a Waters XBridge C18 3.5 μ m, 3.0 mm x 150 mm column, at a flow rate of 0.5 mL/min. Sample and standard treatments were performed to ensure reliable results. The findings revealed that the method is linear in the range of 0.04 to 0.06 mg/mL ($R > 0.999$) and precise, with low variability (0.27% for retention time and 1.13% for method repeatability). Accuracy confirmed an average recovery of 99.66%. A novel aspect is its specificity as a stability-indicating method, demonstrating the ability to quantify DCR even in the presence of forced degradation and complete degradation under basic conditions. Additionally, the method proved robust to small variations in chromatographic parameters and was successfully applicable to local samples. In conclusion, an HPLC method has been successfully established and validated for the determination and quantification of Diacerein in hard capsules, in compliance with regulatory guidelines, and provides a reliable and sensitive tool.

Keywords: HPLC, Diacerein, Development, Validation, Quality control, Stability indicators

* Laboratorio de Análisis de Medicamentos, Facultad de Farmacia UCV- Universidad Central de Venezuela. Caracas - Venezuela.
Correspondencia: kikinasky2505@gmail.com

Orcid: [0009-0004-7627-6350](https://orcid.org/0009-0004-7627-6350)

²[0009-0009-9815-6954](https://orcid.org/0009-0009-9815-6954)

³[0009-0005-9164-696X](https://orcid.org/0009-0005-9164-696X)

⁴[0009-0009-4422-9054](https://orcid.org/0009-0009-4422-9054)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2026.89.1.2](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2026.89.1.2)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 24/10/2025

Aprobación: 02/03/2026

Rev. Fac. Farmacia 89(1): 03-11. 2026

Introducción

La diacereína (DCR), cuyo nombre, según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), es ácido 9,10-dihidro-4,5-diacetoxi-9,10-2-antracenocarboxílico, es un compuesto heterocíclico con estructura antraquinónica (Almezgagi y col., 2020) (Figura 1). La DCR pertenece al grupo de fármacos modificadores lentos de los síntomas de la artrosis, conocidos por su acrónimo en inglés, SYSADOA (*Symptomatic Slow-Acting Drug in Osteoarthritis*). Es un profármaco que, tras su administración oral, sufre un proceso de desacetilación que lo transforma en su metabolito activo, Reína, alcanzando su concentración plasmática máxima entre 1,8 y 2 horas (Cuesta y Martínez, 2003). Su mecanismo de acción, como fármaco no esteroideo y antiinflamatorio, consiste en la inhibición de la producción y la actividad de la Interleucina-1, así como de la secreción de metaloproteasas, sin afectar el sistema de las prostaglandinas.

En la actualidad no existe un método oficial reportado para el análisis de diacereína en cápsulas en las principales farmacopeas, ni la Farmacopea de los

Estados Unidos de América (USP), ni la Farmacopea Europea (EP) presentan un método validado y verificado para la valoración de este principio activo bajo la forma de cápsulas. La disponibilidad de un método de cuantificación validado resulta esencial tanto para el análisis rutinario como para la investigación sobre este medicamento. Esto garantiza la seguridad, calidad y eficacia del tratamiento, previniendo posibles errores en la producción de lotes que podrían afectar negativamente a la población.

Materiales y Métodos

Se empleó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) conformado por una bomba marca Waters modelo 600E System Controller, un automuestreador de inyección automático marca Waters modelo 717 plus y un detector de arreglos de diodo del tipo PDA marca Waters modelo 996, acoplado a un computador con el programa Millennium 32. Se probaron dos columnas cromatográficas: inicialmente, para el desarrollo del método, se empleó una columna Waters μ Bondapak C18, 10 μ m, 3,9 x 300 mm, lote 0213312103; y, luego, para la validación, una columna Waters XBridge C18, 3,5 μ m, 3,0 mm x 150 mm, lote 12B381351. Los reactivos empleados fueron: acetonitrilo grado HPLC Plus, marca Fermont; acetato de amonio de grado reactivo, marca Merck; ácido acético glacial, marca Mallinckrodt; y agua de grado HPLC, purificada con el ultrapurificador Nanopure. Todas las muestras fueron filtradas a través de una membrana de 0,2 μ m antes de ser inyectadas en el cromatógrafo, con membranas de filtración de nylon de 13 mm x 0,45 μ m, hidrofílicas, PP, marca Membrane Solutions. Se utilizó

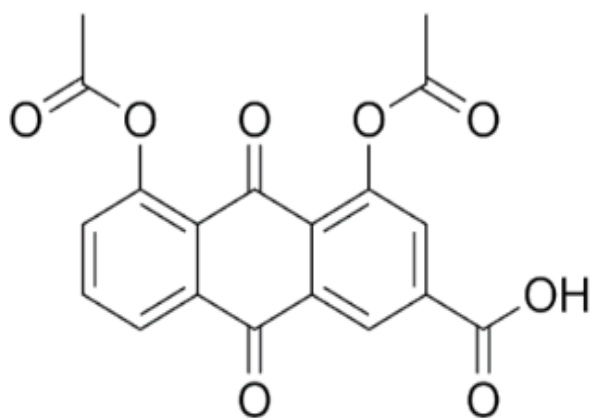


Figura 1. Estructura química de la diacereína. **Fuente:** Química Córdoba S.A.

un patrón secundario de diacereína (DCR) durante toda la investigación, con pureza del 99,35% y fecha de vencimiento en diciembre de 2026, elaborado por Ronald Pharmaceuticals PVT LTD. Las muestras de DCR fueron adquiridas en farmacias locales por los autores de este trabajo de investigación y consisten en cápsulas duras de diacereína de 50 mg, vigentes durante toda la investigación.

Los datos se expresaron como las medias $\pm$ coeficiente de variación CV, y fueron analizados mediante la prueba *t* de Student y se consideró una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0,05$

Resultados

DESARROLLO DEL MÉTODO

El primer paso fue evaluar la solubilidad de DCR, que resultó insoluble en agua. Se preparó el patrón A (ST A), que consistía en disolver el ST A en una solución diluyente (SD), compuesta por una mezcla de Acetonitrilo (ACN) y agua grado HPLC en una proporción de 50:50. Se le agregaron 2 mL de buffer de ácido acético/acetato de amonio 1M, pH 5; se agitó mecánicamente con vortex durante 5 minutos y se le aplicó ultrasonido durante 5 minutos. Resultó soluble.

Se seleccionó una longitud de onda de 258 nm, porque es la de máxima absorbancia obtenida para la DCR, evitando así errores inherentes a las leyes de Lambert y Beer, lo que permite obtener resultados precisos, con la ventaja de un aumento de la sensibilidad del método, un menor error instrumental y la garantía de la linealidad.

La evaluación de las fases móviles se realizó en condiciones isocráticas, con el objetivo de identificar aquellas que ofrecieran una separación prometedora del analito frente a posibles interferencias de la matriz de la cápsula. Finalmente, las condiciones seleccionadas para validar el proceso de cuantificación de diacereína en cápsulas duras fueron las establecidas en la Tabla I.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Linealidad. Se realizaron tres curvas de calibración en tres días distintos, cada una con 5 niveles de concentración: 0,040; 0,045; 0,050; 0,055 y 0,060 mg/mL, que corresponden al 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, respectivamente. Se muestra en la Figura 2 cada curva de calibración obtenida en función del área total de las señales cromatográficas frente a la concentración del patrón de DCR. En la Tabla II, se resumen los resultados obtenidos. Se observa que los valores del coeficiente de determinación (R^2) obtenidos son mayores que 0,999, lo que demuestra un adecuado ajuste del modelo predictivo, siendo estos los más cercanos al de la recta más probable. Además, al realizar la prueba de linealidad, los coeficientes de variación de los factores de respuesta (CV %) obtenidos fueron todos inferiores al 5%, lo que demuestra que no existe diferencia estadísticamente significativa y, por lo tanto, el método es lineal.

Al analizar los gráficos de residuales (Figura 3), no se observa una tendencia lineal; por lo tanto, los errores no están correlacionados con la variable independiente ni entre sí. Estos hallazgos refuerzan significativamente la linealidad

Tabla I.
Condiciones cromatográficas seleccionadas para el método de validación de cápsulas duras de DCR

Composición Fase Móvil	Flujo (mL/min)	Longitud de onda λ (nm)	Tiempo de retención (min)	Volumen de inyección (μ L)	Columna cromatográfica
Acetato Amonio 0,1 M: ACN: TEA pH 6,0 (75: 25: 0,1)	0,50	258	5,02	5,00	Waters XBridge C18 3,5 μ m, 3,0 mm x150 mm lote 12B381351

ACN: Acetonitrilo, TEA: Trietilamina

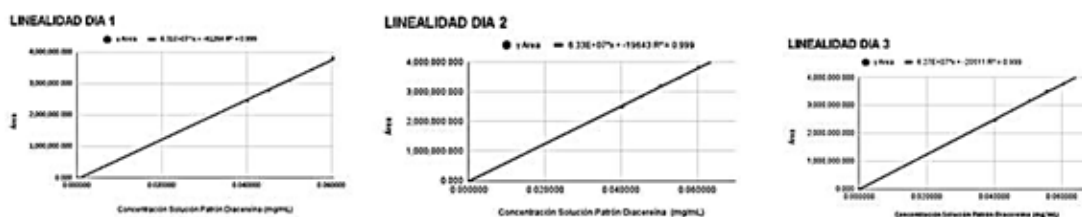


Figura 2. Curvas de calibración días 1, 2 y 3. Estudio de la linealidad

Tabla II.
Resultados de la determinación de linealidad del método

Parámetro	Día 1	Día 2	Día 3
Ecuación de la recta $y = b \cdot x + a$	$y = 6,31^7 \cdot x - 41284$	$y = 6,33^7 \cdot x - 19643$	$y = 6,27^7 \cdot x - 20511$
Coefficiente de correlación (r)	0,9994	0,9997	0,9997
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9989	0,9994	0,9993
Suma de los cuadrados residuales	2069089559	6369661820	7503061617
Factores de Respuesta promedio (f)	61300454,1	62437819,13	61735381,41
Coefficiente de Variación de los factores de respuesta (CV f %)	1,48	1,04	1,15

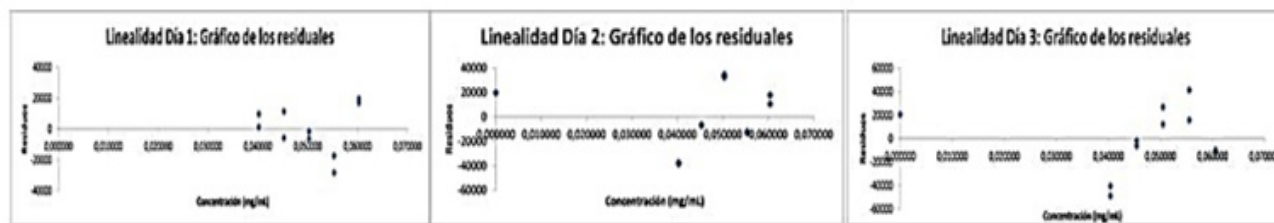


Figura 3. Gráfico de residuales

del método, demostrando que el modelo de regresión lineal utilizado es un ajuste adecuado a los datos y que los supuestos de aleatoriedad y homocedasticidad de los errores se cumplen.

Especificidad. Se analizaron 6 muestras de DCR sometidas a degradación forzada mediante estrés químico, mediante ensayos de fotólisis, hidrólisis básica, hidrólisis ácida, termólisis y oxidación, y una muestra inyectada a las 24 horas sin almacenamiento especial. Se determinó el porcentaje de degradación y la pureza espectral de las señales cromatográficas. Los resultados se muestran en la Tabla III.

Los cromatogramas comparativos obtenidos en la Figura 4 muestran la especificidad del método analítico, al no observarse interferencias ni solapamientos con la señal correspondiente a la DCR, lo que evidencia que es capaz de identificar inequívocamente al analito de interés, con pureza espectral determinada por un valor del ángulo de pureza inferior al umbral de ruido cromatográfico.

PRECISIÓN

Precisión del sistema cromatográfico:

Fue determinada a partir de 5 inyecciones repetidas del patrón a la concentración del

Tabla III.

Contenido de diacereína, ángulos de pureza (PA) y umbral de ruido (TH) de las muestras sometidas a pruebas de degradación forzada

Muestra	Contenido (mg/cap)	% Degradación	PA	TH
Muestra Control	49,51	0,00	0,105	0,257
Fotólisis	48,04	2,97	0,186	0,253
HCl 1N	6,50	86,87	0,576	0,494
H ₂ O ₂ 10%	34,67	29,97	1,195	0,246
Termólisis	14,55	70,61	0,09	0,231
NaOH 1N	0,00	100,00	-	-
Muestra 24h	57,89	No aplica	0,142	0,228

PA: Ángulo de pureza TH: Umbral de ruido

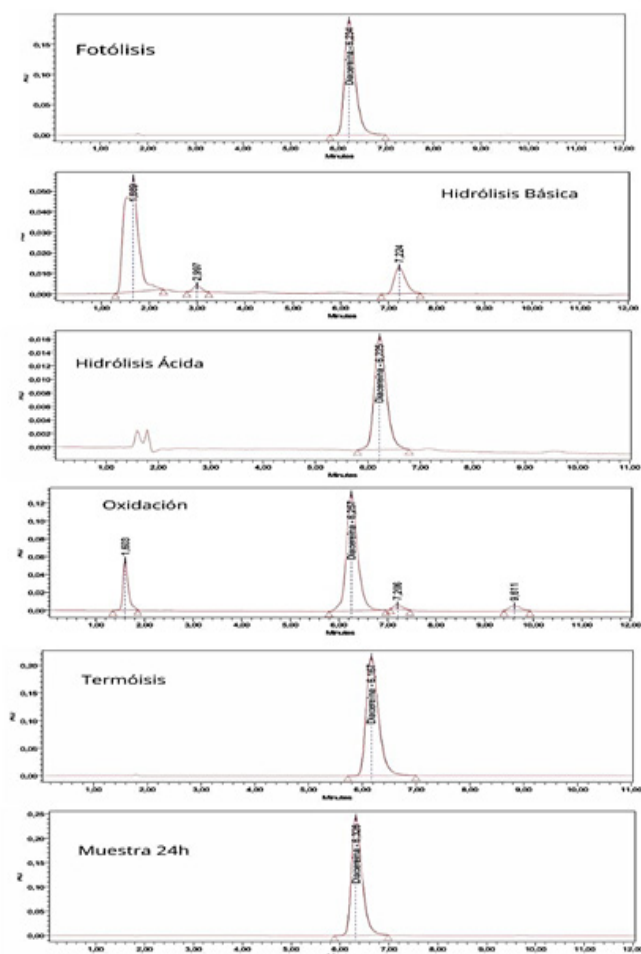


Figura 4. Cromatogramas de las muestras de DCR sometidas a degradación forzada

100% (0,050 mg/mL). Se obtuvieron CV para el tiempo de retención y el área bajo la curva de 0,27 % y 0,3 %, respectivamente. Ambas desviaciones estaban muy por debajo del 2%, lo que indica que el sistema cromatográfico se encontraba en óptimas condiciones para su uso.

Repetibilidad. Se encontró que, en promedio, cada cápsula de diacereína contenía 48,71 mg (97,41% con respecto a lo declarado) de principio activo, con un coeficiente de variación del 1,54%, lo que confirmó que el método era repetible, al presentar una variabilidad menor del

Tabla IV.

Resultados de la repetibilidad del método de determinación de DCR en cápsulas

Réplica	Contenido Diacereína mg/cap
1	49,72
2	49,15
3	49,20
4	47,84
5	48,14
6	48,18
Promedio	48,71
% respecto al declarado	97,41
S	0,75
CV	1,54
RSDr	3,17
HorRat	1,13

S: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; RSDr: coeficiente de variación de Horwitz; HorRat: índice de Horwitz

2%. La Tabla IV presenta los resultados de la repetibilidad del método analítico. Adicionalmente, se calculó el coeficiente de variación de Horwitz, que resultó en 3,17%, para calcular el valor de HorRat, que aporta al método una verificación estadística adicional, el cual arrojó 1,13%, lo que confirmó que el método era repetible, al tener una variabilidad menor del 2%.

Precisión intermedia. En la Tabla V se presentan los resultados obtenidos al aplicar la metodología propuesta durante tres días distintos, empleando el mismo equipo y analista. Los porcentajes de DCR respecto del declarado cumplen con las especificaciones del medicamento durante los tres días de análisis. Adicionalmente, al encontrar valores de CV inferiores al

Tabla V.

Resultados de la precisión intermedia en la determinación de diacereína

Réplica	Contenido Diacereína (mg/cap)		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	50,38	49,16	48,52
2	49,02	48,30	48,13
3	48,10	49,34	48,71
Promedio	49,16	48,93	48,45
% respecto al declarado	98,33	97,87	96,91
S	1,15	0,56	0,30
CV	2,33	1,14	0,61

S: desviación estándar, CV: coeficiente de variación

doble del CV obtenido en el estudio de repetibilidad, se reconfirma la excelente precisión intermedia del método propuesto.

Exactitud: Se calculó el porcentaje de recuperación obtenido en los tres niveles (75%, 100% y 125%) (Tabla VI). Para confirmar que un método es exacto, el % de recuperación debe aproximarse lo más posible al 100%, obteniéndose un % promedio de recuperación de 99,66%, lo que demuestra que el % de recuperación es satisfactorio. Al aplicar la prueba t de *Student*, se obtuvo un valor t de 0,619. Al ser el t_{exp} menor que el $t_{tabulado}$, que era 4,303, para un intervalo de confianza del 0,05. Se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el % de recuperación media y el 100 %, lo que indica que la metodología propuesta es exacta.

Robustez. El método para la determinación de diacereína en cápsulas

Tabla VI.

Porcentaje de recuperación de diacereína mediante la adición de Patrón (*Spike*)

Nivel de Concentración	Recuperación (% R)
75%	98,77
100%	99,53
125%	100,67
Media	99,66
S	0,96
CV	0,96

S: desviación estándar, CV: coeficiente de variación

duras demostró ser robusto, al no presentar diferencias significativas al realizar cambios deliberados en las siguientes condiciones: flujo de la fase móvil de 0,5 mL/min $\pm$ 0,1, composición de ACN de la fase móvil en proporción del 25% con variación de $\pm$ 5% v/v, y pH de la fase móvil de 6,0 $\pm$ 0,5. En la Tabla VII se presentan los resultados del estudio de robustez. Se puede observar que la influencia de las variables estudiadas presentó valores inferiores a $\sqrt{2}$, lo que permite concluir que el método es robusto ante las modificaciones aplicadas a los parámetros, de acuerdo con el diseño de matriz de Plackett y Burman.

Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ): Para la determinación del límite de detección (LOD) y del límite de cuantificación (LOQ), se elaboró una curva de calibración con cinco niveles de concentración de analito del 1%, 2%, 3%, 4% y 5%, que se corresponden con las concentraciones de 0,5097 ppm, 1,0193 ppm, 1,5289 ppm, 2,0386 ppm y 2,5483 ppm, respectivamente.

Tabla VII.

Porcentaje de recuperación de diacereína mediante la adición de Patrón (*Spike*)

Parámetro	Influencia	Resultado
A	4,55	Conforme
B	3,6	Conforme
C	0,03	Conforme
AB	0,58	Conforme
AC	4,55	Conforme
BC	3,87	Conforme
ABC	0,84	Conforme
S	8,98	
S $\sqrt{2}$	12,70	

A: Flujo (mL/min); B: % de ACN; C: pH
S: Desviación estándar

Tabla VIII.

Resultados obtenidos con la aplicación del método en el medicamento A y B

Muestra	Contenido Diacereína (mg/cáp)	
	A	B
Mx1	48,88	45,04
Mx1	48,94	45,05
Mx2	48,58	43,20
Mx2	48,59	43,23
Mx3	48,55	44,29
Mx3	48,34	44,243
Promedio	48,65	44,17
% respecto al declarado	97,29	88,35
CV	0,46	1,86

Se obtuvieron un LOD de 0,0309 ppm y un LOQ de 0,4761 ppm para DCR, siendo este último ligeramente menor que el nivel del 1% de la curva de calibración. Estos resultados muestran que el método es sensible a concentraciones bajas de DCR y puede utilizarse para el análisis de trazas y la validación de la limpieza de equipos.

Aplicabilidad. Una vez validado el método, se aplicó en el análisis de dos medicamentos de laboratorios diferentes: Medicamento A, de laboratorio nacional, y Medicamento B, importado, pero con registro sanitario, con el fin de demostrar que el método propuesto es capaz de cuantificar inequívocamente la DCR con precisión y exactitud. Los resultados, descritos en la Tabla VIII, obtenidos en el análisis de los medicamentos A y B, demuestran que el método es capaz de cuantificar diacereína con precisión y exactitud, ya que en todos los casos cumple satisfactoriamente con coeficientes de variación menores al 2%; sin embargo, podemos observar que el

medicamento B no cumple con el contenido declarado.

Conclusiones

El método analítico desarrollado para la determinación de diacereína en cápsulas duras presenta un comportamiento lineal en el rango de concentraciones de 0,040 a 0,065 mg/mL y un coeficiente de determinación mayor que 0,99. El método resultó ser preciso, exacto, específico, robusto y capaz de detectar trazas de medicamento dentro de los límites de cuantificación y de determinación. El método cumple con los criterios establecidos para la validación de la USP y la ICH, por lo que puede aplicarse como método rutinario para pruebas de control de calidad y como indicador de estabilidad. El método desarrollado cumple satisfactoriamente con los criterios de aceptación, proporcionando la confianza para analizar medicamentos de manera segura y de calidad, para su administración a la población.

Agradecimientos

Las investigadoras agradecen a la Tutora, la Doctora Marisabel Bor, a la especialista Aura Marina Olivero y a la Fundación María Paula Alonso de Ruiz Martínez.

Conflicto de Interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés comercial, financiero o personal que pudiera haber influido de manera inapropiada en los resultados presentados o en las conclusiones derivadas de este trabajo de investigación.

Asimismo, certifican que el presente manuscrito es original, no ha sido publicado, total ni parcialmente, en otra revista o medio de difusión, y no se encuentra simultáneamente postulado para su publicación en ningún otro medio.

Referencias Bibliográficas

- Almezgagi M, Al-Shaebi F, Gamah M, Hezam K, Shamsan E, Zhang Y. 2020. Diacerein: Recent insight into pharmacological activities and molecular pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020;131:110594.
- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Validación de métodos analíticos. Barcelona: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria; 2001.
- Cuesta T, Martínez G. 2003. Nuevos Principios Activos. Información terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social 27(5):152-153.
- Farmacopea de los Estados Unidos y Formulario Nacional (USP-NF). 2023. USP 47-NF 42. Capítulo 1225, Validación de procedimientos farmacopeicos. Farmacopea de los Estados Unidos.
- Horwitz W, Albert, R. 2006. The Horwitz ratio (HorRat): A useful index of method performance with respect to precision. *J AOAC International* 89(4):1095-1109.
- International Council for Harmonisation (ICH), European Medicines Agency (EMA). ICH Q2(R2) Guideline on validation of analytical procedures - Step 5 - Revision 1. London: European Medicines Agency; 2024. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q2r2-guideline-validation-analytical-procedures-step-5-revision-1_en.pdf
- Levin RI, Rubin DS, Balderas Lozada M, Del Valle Sotelo JC, Gómez Castillo R. 2004. Estadística para administración y economía. 7a ed. México: Pearson Educación.
- Mongil E, Arizaga A, Callejo A, Sánchez I, Torre F. 2006. Fármacos de acción lenta (Sysadoa) en el tratamiento de la osteoartritis. *Rev Soc Esp Dolor* 13(7):485-96.
- Narade SB, Patil SB, Pore Y, Surve SS, Shete D. 2010. Development and validation of UV spectrophotometric methods for the determination of diacerein in capsules. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 5(1):113-118.
- Patel RD, Pethani TM, Raval MK. 2021. Application of a validated RP-HPLC method in solubility and dissolution testing for simultaneous estimation of diacerein and its active metabolite Rhein in presence of Coformers in the eutectic tablet formulation. *J Chromatographic Science* 59(8):697-705.
- Química Córdoba S.A. 2023. Diacereína BP. Disponible en: <http://www.quimicacordoba.com.ar/productos-buscador.php?id=4357>
- Quattrocchi O, Abela S, Laba R. 1992. Introducción al HPLC. Aplicación y práctica. Artes gráficas Farro S.A., Cap. 12, pp. 301-328.
- Raju TVR, Kumar NA, Kumar SR, Rao IM, Rao NS, Srinivas A. 2013. Development and validation of a stability-indicating RP-HPLC method for the estimation of diacerein impurities in API and pharmaceutical formulation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.745152>
- Rao J, Chauhan K, Kadam SS, Mahadik KR. 2009. A stability-indicating high-performance liquid chromatographic method for the determination of diacerein in capsules. *Indian J Pharm Sci* 71(1):24-9.