

PUESTA A PUNTO DE UN MÉTODO DE VALORACIÓN DE MELOXICAM EN HPLC-UV

M. Muñoz¹, V. Gallardo¹, M. Blanco², M^aA. Ruíz¹

¹ Dpto de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

² Dpto de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra.

Introducción

Las investigaciones en absorción transdérmica de fármacos (1) requieren el empleo de dispositivos donde se verifique la liberación y absorción "in vitro" del fármaco tales como las células de Franz así como de un método analítico capaz de cuantificar tanto el fármaco liberado como el acumulado en los distintos estratos de la piel y el que alcanza la microcirculación dérmica. Los primeros ensayos -de liberación- se van a llevar a cabo empleando membranas artificiales mientras que, los segundos, -de permeación- requieren el empleo de membranas naturales como la piel de oreja de cerdo dermatomizada.

En este trabajo se ha diseñado un método de análisis cromatográfico para la detección de meloxicam, fármaco de acción antiinflamatoria y reciente introducción en el mercado que, en futuros estudios, se ensayará incorporado en un gel de carbopol (2-4) y en lipogeles (5-7) para evaluar las respectivas capacidades de cesión y absorción percutánea. Dichas formulaciones han sido elaboradas para tal fin en el presente trabajo.

Asimismo, se ha llevado a cabo la validación de dicho método comprobando su linealidad, exactitud y precisión en un intervalo de concentraciones comprendido entre 0,1 y 3,125 µg/mL.

Materiales y Métodos

El meloxicam (C₁₄H₁₃N₃O₄S₂), 4-Hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido, tiene una masa

molecular de 351,41 g mol⁻¹. Es un antiinflamatorio no esteroideo (8) del grupo de los oxicanes, con propiedades analgésicas y antipiréticas. Actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, a través de un bloqueo de la ciclooxigenasa (COX). El meloxicam presenta un cierto grado de selectividad hacia la COX-2 (inducible) en relación hacia la COX-1 (constitucional). Se utiliza para el tratamiento sintomático de corta duración de las crisis agudas de osteoartritis así como para el tratamiento sintomático a largo plazo de la artritis reumatoide (poliartritis crónica). También está indicado para el tratamiento de la espondilitis anquilosante.

La incorporación del meloxicam a un vehículo para su aplicación tópica constituye una novedad terapéutica ya que en el mercado no se dispone de ninguna preparación de uso tópico.

En este trabajo se ha utilizado meloxicam en forma de sal sódica (C₁₄H₁₂N₃O₄S₂Na, PM 373,4) suministrado por SIGMA. Es un polvo amarillento hidrosoluble y fotosensible. Se debe proteger del aire y almacenar de 2 a 8°C. Puede resultar irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.

Se ha utilizado un cromatógrafo de tipo Hewlett-Packard 1050 (Waldbronn, Germany), equipado con una bomba cuaternaria HP 1050 y detector espectrofotométrico UV-visible HP 1050. La integración del pico se realizó con el sistema informático Chemstation G2170 AA.

Para establecer los parámetros de acondicionamiento del equipo así como la fase móvil hemos atendido a las propiedades físico-químicas del meloxicam.

La revisión bibliográfica (9-11) nos ha orientado en la elección de los parámetros a establecer para llevar a cabo el análisis en HPLC. Hemos diseñado un proceso analítico original.

En este trabajo se han elaborado formulaciones que contienen al fármaco en un vehículo hidrofílico –gel de carbopol- así como, otras, en las que se ha incluido el meloxicam en lipogeles elaborados a base de aceite de oliva. Dichas preparaciones se estudiarán en posteriores trabajos, como ya se apuntaba, para evaluar de forma comparativa la capacidad de cesión del fármaco desde los distintos vehículos así como su absorción percutánea empleando para su análisis piel dermatomizada de oreja de cerdo en un dispositivo de célula de Franz (FDC-400 Grown Glass Company, Sommerville, N.Y.).

En la Tabla 1 se detalla la composición del hidrogel:

Tabla 1. Composición del hidrogel de meloxicam

Composición	Cantidad (g)
Meloxicam	0,5
Propilenglicol	10
Carbopol ETD 2001	1
Agua destilada	c.s.p. 100
Trietanolamina 85%	c.s.p. pH 6

En tabla 2 se recoge la composición de los lipogeles de aceite de oliva de meloxicam. Ambos preparados contienen un agente gelificante derivado de la celulosa –etilcelulosa-, suministrado por ICN (Ohio, EEUU). Además, incluyen un agente tensioactivo derivado del aceite de oliva comercializados con el nombre de Olivem 700 –PEG-4 Olivite- y Olivem 900 –Sorbitan Olivite-, suministrados por Quimibios (Barcelona, España). El componente mayoritario o fase dispersante de los lipogeles es el aceite de oliva que reúne los requisitos de calidad indicados por la RFE, suministrado por Fluka.

Tabla 2. Composición de lipogeles de meloxicam

Composición	Lipogel 1	Lipogel 2
Meloxicam	0,5%	0,5%
Olivem 700	5%	-
Olivem 900	-	5%
Etilcelulosa	3%	3%
Aceite de oliva	c.s.p.100 g	c.s.p.100 g

Las fórmulas elaboradas –hidro y lipogeles- contienen la misma proporción de fármaco para facilitar el análisis comparativo de liberación y absorción.

Resultados y Discusión

La separación cromatográfica se ha hecho por fase reversa en una columna 12 x 0,46 cm C₁₈ Lichrospher Select con partículas de sílice de 5 µm de Merck.

La composición de la fase móvil es la siguiente: 50% de acetonitrilo y 50% de ácido acético glacial al 4%. Las citadas proporciones han resultado óptimas para obtener una adecuada resolución de los picos cromatográficos correspondientes a meloxicam y piroxicam. Se ha trabajado a un flujo de 1 mL/min y la separación se ha llevado a cabo a 40°C. El volumen de inyección ha sido de 100 µL y la detección, se ha realizado por absorción UV a 365 nm.

El patrón interno utilizado ha sido el piroxicam. La figura 1 muestra el espectro cromatográfico correspondiente a la elución de meloxicam y piroxicam.

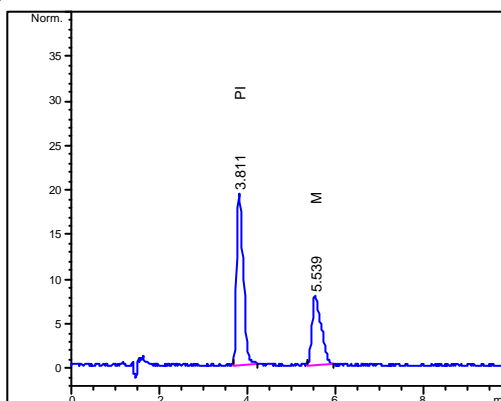


Figura 1. Espectro cromatográfico (HPLC-UV) de meloxicam en agua destilada empleando como patrón interno piroxicam.

El método cromatográfico ha sido validado considerando los criterios de linealidad, exactitud y precisión para un intervalo de concentraciones comprendido entre 0,1 y 3,125 µg/mL. A continuación se detallan algunos datos del estudio estadístico.

Se han trazado rectas de calibrado que relacionen la respuesta cromatográfica con la concentración de analito de modo que, si se cumple la condición de linealidad en el intervalo de concentraciones estudiadas, la recta se ajuste a la ecuación $y=bx+a$, donde x es la concentración de meloxicam en agua destilada, y es el resultado cromatográfico, b es el valor de la pendiente y a es el término independiente. Para definir esta ecuación se han construido tres rectas de calibrado para el meloxicam en agua destilada, utilizando un intervalo de concentraciones comprendido entre 0,1 y 3,125 $\mu\text{g/mL}$. En la Tabla 3 se representan las respuestas cromatográficas (AUC) obtenidas para cada concentración.

Tabla 3. Respuestas cromatográficas obtenidas para las distintas concentraciones de meloxicam en agua destilada.

Meloxicam $\mu\text{g/mL}$	Respuesta cromatográf. (AUC)		
	Recta 1	Recta 2	Recta 3
0,10	8	9	8
0,20	14	15	14
0,39	20	33	35
0,78	62	70	83
1,56	120	133	134
3,12	240	244	289

Para evaluar la linealidad de estas rectas, se realiza una interpretación estadística de la regresión lineal, incluyendo el cálculo de los coeficientes de correlación, r , y de determinación, r^2 . La tabla 4 expone los parámetros de las tres rectas de regresión y el valor de ambos coeficientes.

Tabla 4. Rectas de calibrado de meloxicam en agua destilada.

Recta	$y=bx+a$	r	r^2
1	$y=77,807x-2,4836$	0,9979	0,9958
2	$y=77,585x+2,8996$	0,9984	0,9968
3	$y=92,09x-0,6359$	0,9978	0,9958

En el estudio de linealidad y sensibilidad de calibrado, también se tienen en cuenta los factores de respuesta y su coeficiente de variación. Estos valores se recogen en la tabla 5.

Tabla 5. Factores de respuesta y coeficientes de variación obtenidos para las distintas concentraciones de meloxicam en las tres rectas de calibrado

Meloxicam ($\mu\text{g/mL}$)	Factores de respuesta (f)		
	Recta 1	Recta 2	Recta 3
0,10	80	90	80
0,20	70	70	70
0,39	51,28	51,28	89,74
0,78	79,48	89,74	106,71
1,56	76,92	85,25	85,79
3,12	76,92	78,20	92,62

Se puede afirmar que el método es lineal y que cumple la condición de proporcionalidad, ya que el valor del coeficiente de determinación es mayor de 0,99 y el coeficiente de variación de los factores de respuesta es menor del 5%.

Por último, se ha comprobado que las tres rectas de calibrado son estadísticamente iguales entre sí, estudiando los límites de confianza de las pendientes ($b \pm ts_b$) y de los términos independientes ($a \pm ts_a$), de modo que se considera que dos rectas son estadísticamente equivalentes cuando los valores de la pendiente y la ordenada en el origen de una de ellas están comprendidos dentro de estos límites.

Bibliografía

1. Barry, B.W. "Dermatological formulations percutaneous absorption: 145. Marcel Dekker Inc. New York (1990)
2. Barry, B.W. y Meyer, M.C. "The rheological properties of carbopol gels I. Continuous shear and creep properties of carbopol gels" Int. J. Pharm., 2; 1 (1979)
3. Boylan, J.C. y Swarbrick, J. "Gels and jellies" en Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Vol. 6; 415 New York (1988)
4. Pena, L. Gel dosage forms: theory, formulations and processing. Topical drug delivery formulations; 381. Marcel Dekker Inc. New York (1990)
5. Aiache, J.M. "New geification method for vegetable oils I: cosmetic application" Int. J. of Cosmet. Sci., 14: 228 (1992)
6. Fukasawa, J. "New oil-gelling agents for cosmetics: formation mechanism of oil gels" Int. J. of Cosmet. Sci., 11: 153 (1989)

298 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

7. Realdon, N. "Effect of gelling conditions and mechanical treatment on drug availability from a lipogel" *Drug Dev Ind Pharm.*, 27 (2): 165 (2001)
8. Del Río, R.M. y Del Río, J. "Antiinflamatorios no esteroideos. Fármacos antirreumáticos y antigotosos" en *Farmacología básica*, 168. Edit. Síntesis, S.A. Madrid (2000)
9. Joseph-Charles, J. Y Bertucat, M. "Simultaneous HPLC análisis of non-steroidal anti-inflammatory oxicams in pharmaceutical preparations" *J Liq Chromatogr Relat Technol.*, 22 (13): 2009 (1999)
10. Turck, D., Busch, U. et al. "Clinical pharmacokinetics of meloxicam" *Arzneimittelforschung*; 47(3): 253 (1997)
11. Velpandian, T, Jaiswal, J. et al. "Development and validation of a new HPLC estimation method of meloxicam in biological samples" *J Chromatogr, B: Biomed Appl.*; 738 (2): 431 (2000)

Autor de contacto:

María Muñoz de Benavides

mmunoz@ugr.es

Dpto de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Campus de Cartuja

Granada

Telf.: 958243900