

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Química Farmacéutica

Evaluación de la calidad de suplementos dietéticos
preparados a base de melatonina que se distribuyen
en Guatemala.

Trabajo de investigación presentado por
Ana Lucia Salazar Duarte para optar al grado académico de
Licenciado en Química Farmacéutica

Guatemala
2005

Evaluación de la calidad de suplementos dietéticos
preparados a base de melatonina que se distribuyen
en Guatemala.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Química Farmacéutica

Evaluación de la calidad de suplementos dietéticos
preparados a base de melatonina que se distribuyen
en Guatemala.

Trabajo de investigación presentado por Ana Lucia Salazar
Duarte para optar al grado académico de Licenciado en
Química Farmacéutica

Guatemala
2005

PREFACIO

Muchas gracias a todas las personas que con su preocupación, su apoyo y sus ánimos hicieron posible que esta tesis se realizara de la manera más eficiente y agradable.

Quiero agradecer a Dios por la oportunidad de haber vivido y estudiado y por todas las bendiciones de las que ha llenado mi vida. A mis padres. A mi mamá que me enseñó que no importa cuál sea el papel en la vida hay que hacerlo lo mejor posible y con mucho amor y que la familia es lo más importante. Mi papá que siempre ha sido un ejemplo de responsabilidad y de que el trabajo duro funciona. A mi familia, en especial a mis hermanas. A Lourdes que siguiendo sus pasos todo ha sido más fácil para mí. A Luisa que siempre ha sido un gran apoyo y una gran confidente. A Ximena que ha sido la principal causa de que quiera superarme para poderle dar un gran ejemplo y porque ella siempre ha creído en mí. A mi madrina, la Clemen, que no solo ha sido mi madrina sino una amiga y un gran ejemplo. A mis abuelitos, Esperanza y Daniel que desde el cielo me apoyan y Marina y Eduardo que con su cariño en la Tierra han sido grandes ejemplos del amor de Dios. A mis tíos y primos por todo su apoyo.

Quiero agradecer a mis amigos. A Mariel y Margarita que hicieron de la universidad una gran experiencia y llenaron esos años de muchas anécdotas. A Salomón (mi primo), Rene, el Titi y el Kyo que han estado allí, y probablemente no han visto todo el proceso pero en su momento han sido grandes amigos. A Luis Orellana. por la inspiración y por su ayuda en la parte inicial del proyecto. A todos mis profesores porque supieron sembrar en mi la semilla del conocimiento.

Además, quiero darle un agradecimiento especial a mis asesores de tesis, Ana Luisa y el licenciado López que hicieron de esta tesis la experiencia más agradable de mi vida. Gracias por todo su apoyo, comprensión y ayuda porque estoy segura de que no hubiera logrado nada sin todo su esfuerzo.

Por último, quiero agradecer a todas las personas que han estado en el camino, mis amigos, mis compañeros de clase, de trabajo, de prácticas, mis jefes, mis alumnos, mis auxiliares, auxiliados y maestros que me han permitido ser testiga de una parte de sus vidas y han contribuido mucho con la mía.

Para terminar sólo contarles que esta licenciatura y todas las clases de que recibí extra de Química Farmacéutica eran en realidad un pasatiempo para mí, en lo que sacaba la tesis de Bioquímica. Y no sólo cerré la carrera e hice las prácticas; sino que me gradué de esta licenciatura antes de que saliera la tesis de Bioquímica, son raras las vueltas que da la vida.

Todo conocimiento es útil, y algún día alcanzarás todo el saber; pero mientras poseas sólo una parte, procura que esta parte sea la más útil. (J. Krishnamurti)

RESUMEN

En este trabajo de investigación se plantean los ensayos que pueden utilizarse para evaluar la calidad de los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina con el fin de determinar si cumplen con las características de calidad de los suplementos dietéticos y de los productos farmacéuticos. La importancia radica en que al implantar análisis que permitan evaluar las especificaciones de calidad en los suplementos dietéticos se podrá asegurar que en el territorio nacional se consumen suplementos dietéticos que cumplen con las mismas. Los ensayos que se utilizaron para evaluar la calidad en los suplementos dietéticos son: organolépticos, físicos incluyendo variación de peso, desintegración friabilidad, dureza, disolución y uniformidad de contenido y químicos de identificación y cuantificación del principio activo. No se logró desarrollar una metodología confiable para el ensayo de disolución para los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina. Sin embargo, ninguna muestra de los seis suplementos dietéticos preparados a base de melatonina que se distribuyen en Guatemala cumplió con todas las características de calidad.

CONTENIDO

	Página
PREFACIO	iv
RESUMEN.....	v
LISTA DE TABLAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO CONCEPTUAL	2
A. Antecedentes.....	2
B. Justificación	4
C. Planteamiento del problema.....	5
D. Alcance y limitantes del problema.....	5
II. MARCO TEÓRICO	6
A. Suplementos dietéticos.....	6
B. Melatonina	16
III. MARCO METODOLÓGICO	20
A. Objetivos.....	20
B. Hipótesis	20
C. Las variables	20
D. Población y muestra.....	20
E. Procedimiento	23
F. Diseño de investigación:.....	33
G. Análisis estadístico.....	33
IV. MARCO OPERATIVO.....	34
A. Recabación y tratamiento de los datos.....	34
B. Recursos.....	34
C. Aspectos económicos.....	36
V. RESULTADOS	37
A. Por prueba.....	37
B. Certificado de análisis por muestra.....	53
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59

VII.	CONCLUSIONES	63
VIII.	RECOMENDACIONES.....	64
IX.	ANEXO	65
	A. Siglas.....	65
	B. Abreviaturas de unidades.....	65
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	67

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla No. 1, Interacciones entre medicamentos y suplementos dietéticos.....	14
Tabla No. 2, Información sobre dosificación de los suplementos preparados a base de melatonina.	18
Tabla No. 3, Suplementos dietéticos a base de melatonina distribuidos en Guatemala de acuerdo con su forma farmacéutica y su utilidad para el estudio.	21
Tabla No. 4, Información sobre la fabricación y empaque de los suplementos dietéticos a base de melatonina presentada en el empaque.	21
Tabla No. 5, Información sobre la formulación presentada en el empaque.	21
Tabla No. 6, Información referente a las indicaciones, dosificación y advertencias de los suplementos dietéticos a base de melatonina obtenida del empaque.....	22
Tabla No. 7, Comparación de los análisis físicos, químicos y microbiológicos que se les efectúan a los suplementos dietéticos y a los productos farmacéuticos según la USP y el LNS.	24
Tabla No. 8, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el análisis de desintegración.....	26
Tabla No. 9, Tolerancia de variación de peso para tabletas no cubiertas, con cubierta simple y tabletas cubiertas.	26
Tabla No. 10, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de variación de peso.....	27
Tabla No. 11, Tabla de aceptación para disolución por unidad.....	28
Tabla No. 12, Criterios de aceptación para disolución por grupo.	29
Tabla No. 13, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de disolución.	29
Tabla No. 14, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de uniformidad de contenido.....	30
Tabla No. 15, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de friabilidad.	31
Tabla No. 16, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de resistencia a compresión.	31
Tabla No. 17, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de identificación.....	32
Tabla No. 18, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de cuantificación del principio activo.....	32
Tabla No. 19, Resumen de cantidad de tabletas, equipos y reactivos necesarios.....	33
Tabla No. 20, Características organolépticas	37
Tabla No. 21, Variación de peso de 20 tabletas de la Muestra 1, 2 y 3	37

Tabla No. 22, Variación de peso de 20 tabletas de la Muestra 4, No. 5 y No. 6	38
Tabla No. 23, Desintegración.....	39
Tabla No. 24, Friabilidad de cada Muestra con un peso en tabletas mayor de 6.5g.....	39
Tabla No. 25, Dureza etapa 1	40
Tabla No. 26, Dureza medida en kg. fuerza etapa 2.....	40
Tabla No. 27, Resultado de la disolución Muestra 1	41
Tabla No. 28, Resultado de la disolución Muestra 2.....	41
Tabla No. 29, Resultado de la disolución Muestra 3.....	42
Tabla No. 30, Resultado de la disolución Muestra 4.....	42
Tabla No. 31, Resultado de la disolución Muestra 5.....	42
Tabla No. 32, Resultado de la disolución Muestra 6.....	43
Tabla No. 33, Uniformidad de contenido Muestra 1	44
Tabla No. 34, Uniformidad de contenido Muestra 2.....	44
Tabla No. 35, Uniformidad de contenido Muestra 3.....	45
Tabla No. 36, Uniformidad de contenido Muestra 4.....	45
Tabla No. 37, Uniformidad de contenido Muestra 5.....	46
Tabla No. 38, Uniformidad de contenido Muestra 6.....	46
Tabla No. 39, Tiempo de retención y área bajo la curva de los picos de absorción para cada muestra analizada por HPLC.	47
Tabla No. 40, Concentración de melatonina en mg/ml de las soluciones utilizadas para la curva de calibración HPLC detector UV/VIS.....	48
Tabla No. 41, Repetición de la inyección del estándar de melatonina para obtener la precisión del sistema.....	49
Tabla No. 42, Factor de coe de cinco inyecciones de una solución de melatonina de concentración 6 x 10 ⁻³ mg/ml.....	50
Tabla No. 43, Resultados obtenidos de inyectar 27 veces el blanco metanol: agua (50:50) para el sistema de HPLC, para obtener la mínima señal analítica distinguible (Sm).....	50
Tabla No. 44, Ensayo, cuantificación de melatonina en las muestras analizadas	52
Tabla No. 45, Certificado de análisis Muestra 1	53
Tabla No. 46, Certificado de análisis Muestra 2	54
Tabla No. 47, Certificado de análisis Muestra 3	55

Tabla No. 48, Certificado de análisis Muestra 4	56
Tabla No. 49, Certificado de análisis Muestra 5	57
Tabla No. 50, Certificado de análisis Muestra 6	58

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1, Establecimientos de productos dietéticos.....	7
Figura 2, Venta de suplementos dietéticos años 1,994 a 2,000 en Estados Unidos.....	7
Figura 3, Desglose de las ventas de suplementos dietéticos del año 2,000	8
Figura 4, Estructura química de la melatonina	16
Figura 5, Curva de calibración de las soluciones de melatonina en metanol agua (50:50) detectadas por UV/VIS acoplado a HPLC.....	48
Figura 6, Forma de obtener los valores numéricos para el factor de coleo a partir de un cromatograma.....	49

INTRODUCCIÓN

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal, que desarrolla un papel primordial en el control de los ciclos circadianos y los ritmos estacionales del sueño. Los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina se utilizan para tratar los trastornos de sueño relacionados con cambios de uso horario, desorden afectivo estacional y el síndrome de fase tardía del sueño (Nalley *et al* 2002). Sin embargo, según la Alianza Nacional para la Investigación de Esquizofrenia y Depresión, esta hormona puede ser la causa de la mayoría de los síntomas de la depresión (Rovner 2004). Por otra parte, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, U.S. Food and Drug Administration) no ha evaluado la seguridad de su uso a largo plazo, ni los efectos secundarios que su uso puede conllevar (Nalley *et al* 2002).

El control de los suplementos dietéticos está basado en la norma de alimentos por lo que puede que, aunque se haya autorizado su venta en el país, éstos no cumplan con todas las especificaciones de calidad, debido a que poseen actividad farmacológica. Se debe considerar que los suplementos dietéticos son formas farmacéuticas de principios farmacológicamente activos que, como tales, pueden involucrar riesgos a la salud, debido a las reacciones secundarias que dichos principios activos pueden tener. Se pretende con esta investigación plantear los ensayos que puedan utilizarse para evaluar la calidad en los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina, con el fin de observar si cumplen con las características de calidad necesarias para su uso.

La población en general está en riesgo, debido a que los suplementos dietéticos son de venta libre. Con los resultados de este trabajo, se podrá determinar la necesidad de someterlos a determinados análisis para autorizar su venta en el territorio nacional. En el futuro, se pueden diseñar y desarrollar otros estudios para determinar la necesidad de implantar determinados métodos de análisis para asegurar la calidad de los suplementos dietéticos preparados a base de otros principios activos que estén autorizados para su venta en Guatemala.

I. MARCO CONCEPTUAL

A. Antecedentes

En los últimos años se observa un incremento del uso de suplementos dietéticos en la población en general. Aunque las personas usualmente ingieren suplementos como un esfuerzo para mejorar la salud, algunas pueden poner en riesgo su vida. Algunos suplementos dietéticos pueden interaccionar de maneras peligrosas con medicinas de venta libre y de prescripción, y algunos causan estos efectos aún si se consumen solos (FDA 2005). La melatonina es un suplemento que se utiliza como conciliador del sueño, sin embargo, no se ha evaluado la seguridad de su uso a largo plazo ni los efectos secundarios que puede ocasionar (Nalley *et al* 2002)..

Aunque los suplementos dietéticos están regulados por la legislación de la FDA como alimento, están regulados diferente de otros alimentos y de las drogas. La clasificación de un producto como un suplemento dietético, alimento convencional o droga se basa en su uso. Frecuentemente la clasificación de un suplemento dietético se determina por la información que el productor coloca en la etiqueta o por la monografía o inserto, aunque los suplementos dietéticos y el alimento en su mayoría no incluyen este tipo de información. El tipo de afirmación que puede realizarse en las etiquetas de los suplementos dietéticos y de las drogas difieren. Los productores de drogas pueden afirmar que su producto va a diagnosticar, curar, mitigar, tratar o prevenir una enfermedad. Estas afirmaciones no pueden realizarse legalmente para los suplementos dietéticos (ODS 2005).

Además de regular las afirmaciones de la etiqueta, la legislación de la FDA regula a los suplementos dietéticos de otras maneras. Los ingredientes de los suplementos dietéticos comercializados antes del 15 de octubre de 1,994, no requieren revisión por parte del personal de la FDA acerca de su seguridad previo a su comercialización porque se presume que son seguros basados en su historial de uso en humanos. Para un ingrediente nuevo, uno que no se vendiera como suplemento dietético antes de 1,994, el productor debe de notificar a la FDA su intención de comercializar un suplemento dietético que contiene el nuevo ingrediente dietético y proveer de información de cómo se determinó con evidencia razonable su seguridad en humanos. El personal de la FDA puede rehusarse a permitir nuevos ingredientes para la venta o retirar los ingredientes existentes en el mercado por razones de seguridad (ODS 2005).

Los proveedores no deben suministrar a la FDA de evidencia que los suplementos dietéticos son efectivos o seguros, sin embargo, no se permitirá la entrada al mercado de productos inseguros o inefectivos. Una vez un suplemento dietético es comercializado, la FDA tiene que probar que el producto no es seguro para restringir su uso o retirarlo del mercado. En contraste, antes de ser

permitida la entrada de una droga al mercado, los productores deben obtener aprobación de la FDA, por medio de evidencia convincente, de su seguridad y efectividad (ODS 2005).

1. Estudios efectuados:

a. Análisis de melatonina en suplementos dietéticos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) usando un detector Ultravioleta-Visible (UV-VIS): Se desarrolló un método simple para la determinación y cuantificación de melatonina en suplementos dietéticos utilizando detección HPLC acoplado a UV/VIS con arreglo de diodos. Varias matrices (cápsulas, tabletas, cápsulas con hierbas) de diferentes productores se analizaron. Se desarrollo, también, una extracción simple de las muestras con baño de ultrasonido y centrifugación con metanol como el solvente de extracción. Los resultados obtenidos del análisis de las muestras estaban en un rango de 86 – 105% de lo reportado en la etiqueta. Los resultados de recuperación, 95.1-101.2%, mostraron que los componentes de las matrices no interfieren con la precisión del método. La linealidad se determinó como 0.40µg/ml a 25µg/ml con un límite de detección de 40ng/ml y un límite de cuantificación de 80 ng/ml. Las curvas de calibración utilizadas estuvieron entre 1.60 y 25µg/ml como está recomendado por la farmacopea de Estados Unidos (USP, United States Pharmacopoeia) para el ensayo de un producto farmacéutico. Se observó que el pico cromatográfico del analito para la melatonina estaba a 4.4 minutos y se atribuye únicamente a un pico debido al uso del detector con arreglo de diodos. Además los patrones cromatográficos son similares entre las muestras (Vega *et al* 2005).

b. Comparación de los productos fabricados a partir de melatonina contra estándares de la USP y otros criterios: La melatonina es una hormona producida por el cerebro humano, controla el reloj interno del cuerpo. Se utiliza, en forma de suplemento, para reestablecer los patrones de sueño en los ancianos, los ciegos y los individuos que viajan a través de múltiples husos horarios. La USP establece los estándares para los suplementos dietéticos, aunque no han desarrollado un estándar para la melatonina. Este estudio a evaluado 11 productos a base de melatonina de liberación inmediata y controlada se usan las pruebas de la USP y otra pruebas para variación de peso, friabilidad, desintegración, disolución y dureza. Todos los productos cumplieron con las especificaciones de calidad de variación de peso. Dos productos exhibieron friabilidad excesiva. Cuatro de los nueve productos de liberación inmediata no cumplieron con las especificaciones de desintegración y disolución, por lo que se duda de la biodisponibilidad de estos productos. De los nueve productos evaluados para resistencia a la compresión, uno mostró una variación inusualmente alta en la dureza. Los resultados de este estudio indican que los productos a base de melatonina presentes en el mercado varían en calidad, por lo que escoger uno con estándares adecuados de calidad es difícil (Hahm *et al* 1999).

c. Información referente a suplementos preparados a base de melatonina: Se

compraron 18 suplementos preparados a base de melatonina - 15 de liberación inmediata y tres de liberación controlada. Del total 12 eran únicamente preparados a base de melatonina y los otros seis eran combinaciones con vitamina B6 o hierbas como valeriana. Se encontró que 16 de los 18 productos cumplían con las especificaciones y no estaban contaminados con plomo. Un producto de liberación rápida contenía únicamente el 83% del contenido de etiqueta y otro producto de liberación rápida contenía una pequeña cantidad de plomo (0.5 µg/ tamaño de porción), es posible que el plomo no provenga de la melatonina, sino de los ingredientes herbales del producto. Todas las tabletas y cápsulas se desintegraron apropiadamente para su absorción en el intestino (Cooperman *et al* 2006).

B. Justificación

Mediante este trabajo de investigación se plantean los ensayos que pueden utilizarse para evaluar la calidad en los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina con el fin de determinar si cumplen con características de calidad necesarias para la venta de suplementos dietéticos y de productos farmacéuticos. Debido a que el control de calidad de los suplementos dietéticos, se rige por la norma de alimentos, y no de productos farmacéuticos, puede que aunque se haya autorizado su venta en el país estos no cumplan con todas las características de calidad necesarias por su actividad farmacológica. Se debe considerar que los suplementos dietéticos, son formas farmacéuticas de principios farmacológicamente activos que, como tales, pueden involucrar riesgos a la salud debido a las reacciones secundarias adversas que dichos principios activos tienen.

El riesgo asociado a la ingesta de suplementos dietéticos aumenta debido a que la modalidad de venta es libre. Con los resultados de este trabajo se podrá determinar la necesidad de implantar una serie de análisis a los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina, que permitan evaluar si cumplen con las especificaciones de calidad y sugerir a las autoridades algunos controles que deban requerirse para autorizar su venta en el territorio nacional. En el futuro, se pueden desarrollar otros estudios para determinar la necesidad de diseñar análisis que aseguren la calidad de los suplementos dietéticos preparados a base de otros principios activos para que se autorice su venta en Guatemala.

Este trabajo de investigación es importante debido a que al implantar análisis que permitan evaluar las especificaciones de calidad en los suplementos dietéticos se podrá asegurar que en el territorio nacional se consumen suplementos que cumplen con las mismas. En otros países, como Estados Unidos, se desarrollan esfuerzos para implantar un conjunto de análisis específico para suplementos dietéticos. El desarrollar este trabajo e implantarlo en el territorio nacional permitiría que los suplementos dietéticos fabricados en el país cumplan con los requerimientos de calidad demandados por otros países y facilitaría su exportación.

C. Planteamiento del problema

En los últimos años, el uso de suplementos dietéticos en la población en general incrementó. La melatonina es un suplemento que se utiliza como conciliador del sueño, sin embargo, no hay evaluaciones de la seguridad de su uso a largo plazo ni los efectos secundarios que puede ocasionar. Con este trabajo se evaluó las especificaciones de calidad de los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina, su cumplimiento con las normas nacionales y con la USP para suplementos dietéticos y para productos farmacéuticos. Además se evaluó la necesidad de ampliar la lista de los análisis efectuados a los productos dietéticos, preparados a base de melatonina previo a la autorización de su registro sanitario. Eso con el fin de asegurar que la población consuma productos que cumplen con las especificaciones de calidad.

D. Alcance y limitantes del problema

1. **Alcance:** De los suplementos dietéticos, se estudian únicamente las características de calidad para ser utilizados por los pacientes. Del estudio se excluyen características farmacocinéticas y farmacológicas y aspectos de seguridad de ingestión de los suplementos dietéticos a base de melatonina.

2. **Límites:** Los resultados serán validos para los suplementos dietéticos a base de melatonina cuya forma farmacéutica sea tableta o comprimidos de ingestión oral, de los cuales se utilizarán todos los suplementos que se encuentren en el mercado. A partir de estos resultados puede inferirse la necesidad de implantar métodos de análisis que permitan asegurar las especificaciones de calidad que deben cumplir los suplementos dietéticos.

II. MARCO TEÓRICO

A. Suplementos dietéticos

El Decreto de Educación y Salud de los Suplementos Dietéticos (DSHEA, Dietary Supplement Health and Education Act), en vigencia desde 1,994, define a los suplementos dietéticos (diferentes al tabaco) como productos que se usan para suplementar la dieta y que contienen uno o más ingredientes dietéticos (vitaminas, minerales, hierbas u otros botánicos, aminoácidos, extractos animales, tejidos de órganos, glándulas, metabolitos y otras sustancias) o sus constituyentes. Estos se ingieren oralmente como una píldora, cápsula, tableta o comprimido, gelcap, polvo o líquido (pero también puede abarcar barras dietéticas y otras formas de alimentos) y están etiquetados como un suplemento dietético (ODS 2005). Sin importar su forma de dosificación, la DSHEA coloca a los suplementos dietéticos en una categoría especial bajo la designación de alimento y no de drogas (FDA 2005). Aunque están regulados diferente de otros alimentos y de las drogas. La clasificación de un producto como un suplemento dietético, alimento convencional o droga se basa en la intención uso. Frecuentemente la clasificación de un suplemento dietético se determina por la información que el productor coloca en la etiqueta o por la monografía o inserto, aunque los suplementos dietéticos y los alimentos, en su mayoría, no incluyen este tipo de información (ODS 2005).

El tipo de afirmación que puede declararse en las etiquetas de los suplementos dietéticos y de las drogas difieren. Los productores de drogas pueden afirmar que su producto diagnostica, cura, mitiga, trata o previene una enfermedad. Estas afirmaciones no pueden realizarse legalmente para los suplementos dietéticos (ODS 2005).

Las etiquetas de los suplementos dietéticos, pueden contener una de tres afirmaciones: de salud, de contenido nutricional o de función/estructura. Las afirmaciones de salud, describen una relación entre un alimento, un componente de un alimento o un ingrediente de un suplemento dietético y la reducción del riesgo de una enfermedad o de una condición de salud. Las afirmaciones de contenido nutricional describen la cantidad relativa de un nutriente o sustancia dietética en un producto. Una afirmación de estructura función es una afirmación que describe como un producto puede afectar los órganos o sistemas del cuerpo y no puede mencionar ninguna enfermedad en particular. (ODS 2005)

1. **Industria de suplementos dietéticos en Estados Unidos:** La industria de los suplementos dietéticos es una de las de mayor crecimiento en el mundo. Actualmente incluye a más de 1,566 establecimientos como: fabricantes, proveedor de ingredientes, reempacador y reetiquetador, ventas al por mayor y otros tipos, observar Figura 1. Las ventas de los suplementos dietéticos alcanzaron US\$14.1 billones en 1,998 y se estima que para el año 2,000 lleguen a US\$17.1 billones, como se esquematiza en la Figura 2. En 1,999, los consumidores invirtieron el doble en suplementos dietéticos que en 1,994 y la industria tiene un crecimiento del 10% anual (Lester 2002).

Figura 1, Establecimientos de productos dietéticos (total 1,566 establecimiento en Estados Unidos) (Lester 2002).

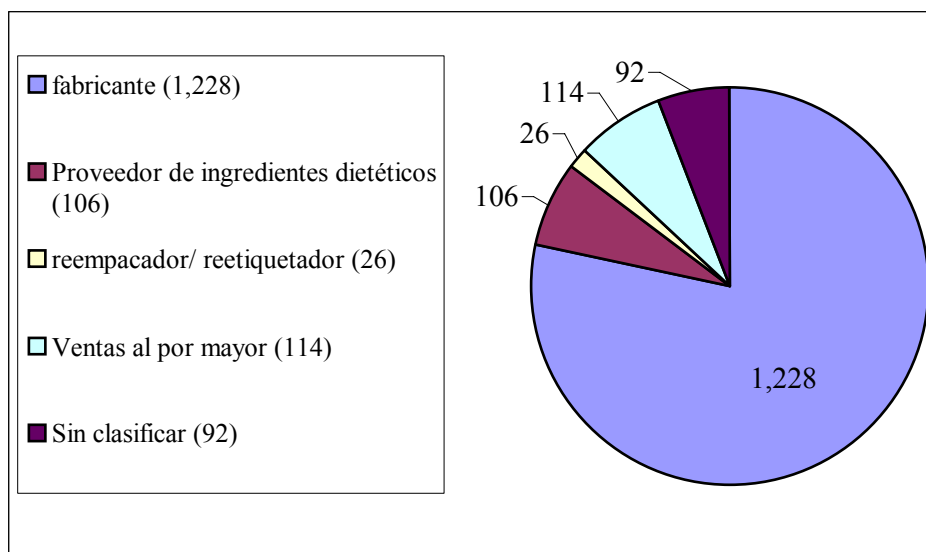
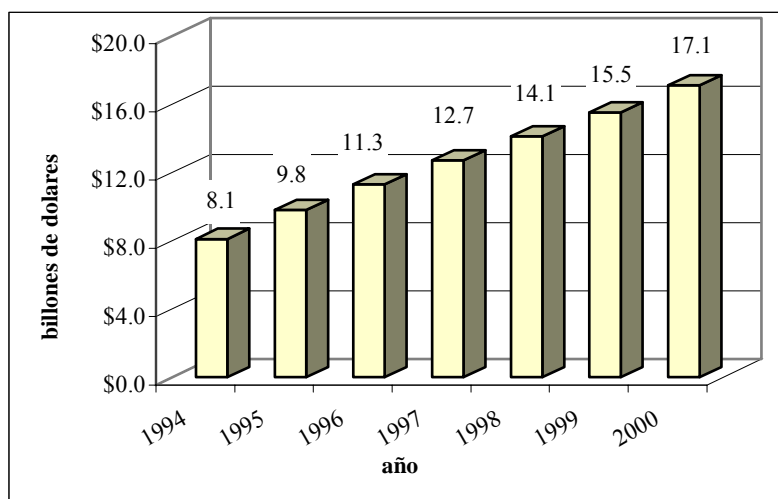


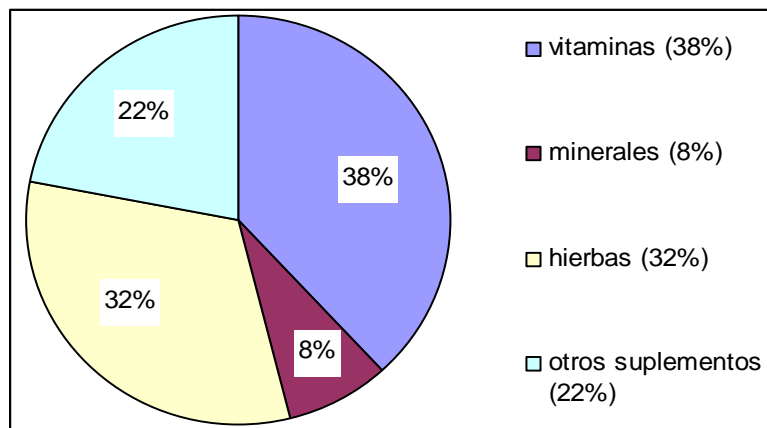
Figura 2, Venta de suplementos dietéticos años 1,994 a 2,000 en Estados Unidos (Lester 2002).



2. Consumo de suplementos dietéticos: Más de 158 millones de personas consumen suplementos dietéticos. Un estimado de 115.3 millones compran vitaminas y minerales para ellos y 55.8 millones los compran para otros miembros de su familia, incluye niños (Lester 2002).

La razón principal para el crecimiento de la industria de los suplementos dietéticos es el cuidado personal. Los consumidores usan suplementos dietéticos para ayudarse a cumplir sus metas de cuidado personal, que son originadas de un sentido de desconfianza del sistema de cuidado de salud. Resultados de una encuesta conducida en 1,999 por la revista Men's Health, muestra que se consumen suplementos dietéticos como medio de asegurar una buena salud. También se usan suplementos dietéticos por razones médicas específicas, como tratar y prevenir enfermedades serias, gripe y catarro, aumentar la capacidad mental y aliviar la depresión (Lester 2002).

Figura 3, Desglose de las ventas de suplementos dietéticos del año 2,000 (US\$17.1 billones) (Lester 2002).



El deseo del cuidado personal y el uso generalizado de los suplementos dietéticos puede causar problemas al sistema de salud pública. Los consumidores están en riesgo por el uso inadecuado de los suplementos dietéticos y la posibilidad de la interacción con productos farmacéuticos de venta libre o recetados. Un estimado de 22.8 millones de consumidores usan remedios botánicos en lugar de medicina de prescripción y 19.6 millones utilizan ambos productos a la vez. Los productos botánicos y las hierbas incorporan el 32% de las ventas del mercado con una diferencia mínima en comparación con las vitaminas, 38% como se muestra en la Figura 3 (Lester 2002).

En el pasado, excepto por los productos preparados a base de vitaminas y minerales, los suplementos dietéticos, particularmente los botánicos eran vendidos principalmente a la población adulta. Ahora, estos productos están disponibles en el supermercado, tiendas de conveniencia y por Internet, siendo más accesibles a los niños y poblaciones vulnerables. Se estima que en 1,999 se vendieron US\$ 142 millones de suplementos por Internet, casi tres veces más que en el año anterior (Lester 2002).

3. Aspectos regulatorios que se aplican a los suplementos dietéticos: Con el DSHEA, el Congreso de los Estados Unidos reconoció, primero, que muchas personas creen que los suplementos dietéticos, ofrecen beneficios para la salud y segundo, que los consumidores quieren determinar si los suplementos pueden ayudarlos. En la ley se establece que los productores de suplementos dietéticos tienen la libertad de lanzar al mercado más productos como suplementos dietéticos si proveen información acerca de los beneficios de estos productos, por ejemplo, en la etiqueta. (Kurtzweil 1999).

Además de regular las afirmaciones de la etiqueta, en la FDA se regula a los suplementos dietéticos de otras maneras. Los ingredientes de los suplementos dietéticos comercializados antes del 15 de octubre de 1,994 no requieren revisión por parte del personal de la FDA acerca de su seguridad previo a su comercialización porque se presume que son seguros basados en su historial de uso en humanos. Para un ingrediente nuevo, uno que no se vendiera como suplemento dietético antes de 1,994, el productor debe de notificar a la oficina de la FDA su intención de comercializar un suplemento dietético que contiene el nuevo ingrediente dietético y proveer de información de cómo se determinó con evidencia razonable su seguridad en humanos. El personal de la FDA puede rehusarse a permitir nuevos ingredientes para la venta o remover los ingredientes existentes en el mercado, por razones de seguridad. Los proveedores no deben proveer a la FDA de evidencia que los suplementos dietéticos son efectivos o seguros, sin embargo, no se permitirá la entrada al mercado de productos inseguros o inefectivos. El personal de la FDA tiene que probar que el producto no es seguro para restringir su uso o evitar su venta. En contraste, antes de ser permitida la entrada de una droga al mercado, los productores deben obtener aprobación del personal de la FDA, por medio de evidencia convincente, de su seguridad y efectividad (ODS 2005).

Se requiere que la información de la etiqueta de un suplemento dietético sea verdadera y no conduzca a malas interpretaciones. Si la etiqueta no cumple con estos requerimientos el personal de la FDA puede prohibir la venta del producto o llevar a cabo acciones pertinentes (ODS 2005).

La estandarización es un proceso que algunos productores pueden usar para asegurar consistencia entre los lotes de sus productos. En algunos casos, la estandarización involucra la identificación de algunas sustancias químicas, conocidas como marcadores, que se usan para obtener un producto consistente. La estandarización puede proveer de medios para realizar control de calidad. Los suplementos dietéticos no requieren de su estandarización en los Estados Unidos. De hecho, no existe ninguna ley que obligue a estandarizar los suplementos dietéticos. Debido a esto, el término estandarización puede significar muchas cosas. Algunos proveedores usan el término estandarización incorrectamente para referirse a prácticas de manufactura uniformes, sin embargo, poseer un procedimiento estandarizado de manufactura no es suficiente para estandarizar un producto. Por lo tanto, que la etiqueta declare que es estandarizado no necesariamente indica la calidad del producto (ODS 2005).

En respuesta a las responsabilidades regulatorias adicionales asignadas a la FDA por la

DSHEA, se desarrollo en la FDA un plan para implantar estas responsabilidades. El 3 de enero del 2,000, se publicó por parte de la FDA, el Plan Estratégico para Suplementos Dietéticos que es un proceso de implantación a largo plazo para lograr todas las actividades que la FDA y las partes interesadas consideraron necesarias (Lester 2002).

4. Marco de Trabajo del Decreto de Educación y Salud de los Suplementos Dietéticos (DSHEA): Con la DSHEA, el Congreso de los Estados Unidos definió a los suplementos dietéticos como los productos que entre otros requisitos, tienen la finalidad de suplementar la dieta y que contengan uno o más de los siguientes ingredientes:

- i. Una vitamina o mineral.
- ii. Una hierba o botánicos.
- iii. Un aminoácido.
- iv. Una sustancia dietética para uso humano que suplementa la dieta y aumentan la ingesta diaria.
- v. Un concentrado, metabolito, constituyente, extracto o combinación de los precedentes que cumplen con los criterios de la Sección 201(ff)(2)-(3) de la Ley Federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos.

Al aprobarse la DSHEA, el Congreso de los Estados Unidos consideró que los ingredientes de los suplementos dietéticos que ya se encontraban en el mercado eran seguros. Para los productos que contienen esos suplementos dietéticos, se permite su venta sin notificación a la FDA (Lester 2002).

Las responsabilidades, luego de la introducción al mercado de los productos, para el personal de la FDA incluyen: control de seguridad (reporte voluntario de los efectos secundarios de los suplementos) e información del producto, como la etiqueta (incluyen afirmaciones, insertos, y monografías). La Comisión Federal de Comercio regula la publicidad de los suplementos dietéticos. También incluyen el aseguramiento de calidad como una medida preventiva, la DSHEA concede a la FDA autoridad para establecer y regular las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para los suplementos dietéticos. Estas regulaciones tienen la intención de establecer mecanismos que ayuden a asegurar la potencia, pureza y consistencia de los suplementos dietéticos (Lester 2002).

a. Plan estratégico de Suplementos Dietéticos: Este plan se basa en pilares básicos de leyes y ciencia. Éste se divide en seis secciones consistentes con el interés público: seguridad, etiquetado, límites, cumplimiento, investigación y alcance. (Lester 2002).

1) Seguridad: El fabricante es responsable de la seguridad y etiquetado de los productos comercializados. Un suplemento dietético puede ser adulterado, por ejemplo, si uno o más ingredientes presentan un riesgo significativo de enfermedad o daño al usarse como se indica en la etiqueta o bajo condiciones normales de uso (si no hay instrucciones). El sistema de control de reportes de eventos adversos en la FDA, servirá para identificar los problemas de seguridad asociados con el uso de un producto. Además, se tiene en la FDA la autoridad de establecer

regulaciones de BPM para la preparación, empaque y almacenamiento de los suplementos dietéticos que permitan asegurar su seguridad (Lester 2002).

2) Etiquetas: Se regula el uso de afirmaciones en la etiqueta, incluyen: que afecta una estructura o función en el cuerpo (o afirmaciones de estructura/función), que genera un estado de bienestar debido a su consumo y afirmaciones de beneficios relacionados a enfermedades clásicas de deficiencia nutricional. Deben estar respaldadas científicamente y no causar malas interpretaciones. Debe declararse «Esta afirmación no ha sido evaluada por la FDA. Este no es un producto para diagnóstico, cura o prevención de ninguna enfermedad». Estas deben notificarse a la FDA en los 30 días del lanzamiento del producto al mercado. La FDA revisa las afirmaciones de salud propuestas para los suplementos dietéticos bajo las provisiones de la Ley de Educación y Etiquetado Nutricional de 1,990. Las afirmaciones pueden ocasionar que se regule al suplemento como una droga según la Ley Federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos (Lester 2002).

3) Límites- Tradicionalmente los suplementos dietéticos eran nutrientes esenciales: vitaminas, minerales y proteínas; luego se amplió el significado de suplemento dietético e incluye sustancias como el ginseng, ajo, aceites de pescado, *Psyllium* y enzimas. Se permite a los fabricantes describir los efectos de los suplementos dietéticos sobre la estructura o función del cuerpo o el bienestar adquirido a partir de su consumo. Pero se deja a criterio del personal de la FDA definir y precisar los límites entre un suplemento dietético y una droga, un alimento convencional e incluso un cosmético. Como un esfuerzo para definir los límites entre suplementos dietéticos y drogas se publicó la Regulación Definitiva de Estructura Función en enero del año 2,000 (Lester 2002).

4) Cumplimiento: Bajo la DSHEA, en la FDA se tomaran acciones apropiadas con respecto a los productos no seguros, el etiquetado inexacto o engañoso, el fraude al consumidor y los reclamos de venta. También se realizara vigilancia y control en el mercado. Se reclama un cumplimiento más estricto de las normas de la FDA que asegure igualdad de condiciones para todas las compañías (Lester 2002).

5) Investigación: En colaboración con los interesados, en la FDA se realiza la investigación para apoyar un aumento en la calidad del control de los efectos adversos, los sistemas de reclamos y exploran la posibilidad de crear una agencia de investigación sobre suplementos dietéticos. La credibilidad de los suplementos dietéticos dependerá de la base científica que rija a estos productos (Lester 2002).

6) Alcance - El personal de la FDA debe comunicarse con diferentes audiencias con respecto al uso apropiado y cronológico y los efectos adversos asociados con los suplementos dietéticos. En la FDA se busca una relación de trabajo con organizaciones interesadas en promover la comunicación y cooperación en dos vías. Como resultado se crea un Subcomité de Suplementos y se agregó a la reestructuración de el Comité Asesor de Alimentos en junio del 2,000 (Lester 2002).

En su conjunto, este plan provee de un acercamiento lógico en la FDA para implantar

completamente la DSHEA. El objetivo del plan es proveer a los consumidores altos niveles de confianza en la seguridad, composición y etiquetado de los suplementos dietéticos (Lester 2002).

La DSHEA, también da autoridad a la FDA para establecer las BPM, para los suplementos dietéticos. En 1,997, un comunicado notificó que la FDA establecería unas BPM independientes para productos dietéticos, si se determinaba que las BPM de alimentos convencionales no eran adecuadas para regir a los suplementos dietéticos. De la misma manera estas BPM asegurarían que los suplementos dietéticos son fabricados bajo condiciones de seguridad y etiquetado apropiado (*Kurtzweil 1999*).

Algunos fabricantes se rigen, voluntariamente por BPM diseñadas, por ejemplo, por grupos comerciales (*Kurtzweil 1999*).

Además de la FDA, algunos estados individuales pueden iniciar acciones para restringir o impedir la comercialización de suplementos dietéticos potencialmente dañinos dentro de su jurisdicción. Por ejemplo, en Florida se prohíbe la venta de productos preparados a base de efedra y otros estados han considerado promover la misma acción (*Kurtzweil 1999*).

5. Riesgos en el uso de los suplementos dietéticos: Por lo menos 40% de los americanos ingieren algún tipo de suplemento dietético. Aunque las personas consumen estos suplementos como un esfuerzo para mejorar la salud, algunas pueden poner en riesgo su vida si también se administran medicamentos. Algunos suplementos dietéticos pueden interaccionar de maneras peligrosas con medicinas de venta libre y de prescripción, y algunos causan estos efectos aún si se consumen solos (FDA 2005).

Un número creciente de expertos médicos están preocupados del sobreconsumo de suplementos dietéticos por parte de la población. Casi el 70% de las personas en Estados Unidos consumen suplementos dietéticos, sobretodo, vitaminas convencidos que los hará más saludables. Pero los investigadores dicen que los suplementos vitamínicos, no pueden corregir una dieta inadecuada, las multivitaminas no previenen ninguna enfermedad y que es fácilmente alcanzable la dosis de riesgo para ciertas vitaminas y minerales (Kolata 2003).

Los suplementos dietéticos más populares son la vitamina C y E, puesto que alguna vez se creyó que podían prevenir enfermedades como cáncer y afecciones cardíacas. Estudios rigurosos no encontraron estos efectos en los suplementos de vitamina E. Los suplementos de vitamina E, pueden aumentar el riesgo de ataques cardiacos e infartos y los suplementos de vitamina C no han demostrado que tienen efectos benéficos en estudios clínicos (Kolata 2003).

En la actualidad, los expertos no están preocupados por el déficit vitamínico. Esto ya casi no se reporta, aun cuando la población consume dietas menos que ideales o disminuyó su consumo de frutas y vegetales. En su lugar la preocupación es el peligro del exceso vitamínico (Kolata 2003).

a. Interacciones farmacológicas: Muchas de las interacciones suplemento dietético con droga que se reportan en la literatura médica involucran suplementos preparados a base de hierbas como kava, *Ginkgo biloba*, regaliz, y hierba de San Juan. Sin embargo, el problema de las

interacciones medicamentosas con suplementos dietéticos no está limitado a hierbas. Algunas vitaminas y minerales como la vitamina E, el ácido fólico, el calcio, y el zinc pueden interactuar con ciertas drogas. Por ejemplo, la vitamina E interactúa con los anticoagulantes. Otro tipo de suplementos dietéticos que no son preparados a base de hierbas, como la melatonina y la S-adenosilmetionina, pueden estar involucradas en interacciones (FDA 2005).

Las drogas y suplementos dietéticos, pueden interactuar de una gran variedad de formas. En algunos casos, la droga y el suplemento tienen acciones similares en el cuerpo, al consumir en forma simultánea pueden causar un efecto sinérgico. Por ejemplo, al combinar la warfarina, un anticoagulante, con un suplemento que inhibe la coagulación como altas dosis de vitamina E, matricaria, aceite de pescado, ajo, o *Ginkgo biloba*, puede aumentarse el riesgo de sangrado anormal. Por otro lado, un suplemento dietético puede contrarrestar el efecto de una droga. Por ejemplo, los suplementos que estimulan el sistema inmune, como la vitamina E, el zinc o la equinacia pueden interferir con las acciones de drogas que están diseñadas para suprimir el sistema inmune como los corticosteroides o la ciclosporina (FDA 2005).

Algunos suplementos dietéticos pueden afectar la absorción de las drogas en el tracto digestivo. Por ejemplo, los suplementos de calcio administrados al mismo tiempo que la levotiroxina o las tetraciclinas puede ocasionar que se absorba menos droga. Se tiene como resultado un efecto disminuido de la misma. Otros suplementos, pueden afectar el metabolismo de la droga. Por ejemplo, la hierba de San Juan aumenta la actividad de enzimas que metabolizan drogas para el tratamiento de afecciones cardíacas, cáncer, o SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), así como de drogas utilizadas para la prevención de rechazo de transplantes. Si un paciente que consume estas drogas e ingiere suplementos de hierba de San Juan, las drogas pueden metabolizarse más rápido de lo usual y no serán completamente efectivas (FDA 2005).

Los suplementos dietéticos pueden interactuar con todas las medicinas, con o sin prescripción. Además, pueden interactuar con el alcohol. Algunos suplementos pueden interferir con pruebas diagnósticas, por ejemplo una sobredosis de vitamina C puede interferir con el examen de sangre oculta en heces (FDA 2005).

b. Otros riesgos para la salud: Algunos suplementos dietéticos, pueden tener efectos secundarios serios al consumirlos solos. Por ejemplo, los suplementos que contienen efedra (también llamada ma huang) pueden dañar el corazón y el sistema nervioso y han estado relacionados con al menos 17 muertes. Varias hierbas como el chaparral, la consuelda, y el germander pueden causar daño hepático fatal e irreversible. Algunas hierbas asiáticas, comercializadas como remedios, pueden contener componentes que causen daño fatal a los riñones (FDA 2005).

Incluso, las vitaminas y minerales pueden ser dañinos cuando se administran en dosis excesivas. Por ejemplo las sobredosis de vitamina A, pueden dañar el hígado. Ingerir mucha vitamina D puede dañar los riñones y ocasionar que se calcifiquen los tejidos blandos del cuerpo.

Altas dosis de vitamina B6 pueden causar daño neurológico con síntomas como aletargamiento, debilidad y dificultad de locomoción. Las sobredosis de selenio pueden causar uñas frágiles, caída de cabello y problemas neurológicos (FDA 2005).

Algunos suplementos dietéticos son seguros para la mayoría de la población, pero no para que lo consuman un grupo especial de personas. Por ejemplo, el ajo y el jengibre son seguros para algunas personas, pero ambas, son inseguras para los diabéticos. Consumir mucho magnesio puede causar diarrea leve en algunas personas, pero puede ser mortal para un paciente con insuficiencia renal (FDA 2005).

Los consumidores deben de estar conscientes de que la calidad de los suplementos dietéticos puede variar. Algunos productos, pueden no contener la cantidad reportada en la etiqueta del ingrediente o la composición puede variar de lote a lote. Independientemente algunos laboratorios realizaron pruebas de calidad para los suplementos dietéticos y verifican que cumplan con lo establecido en la etiqueta (Cooperman *et al* 2006).

Tabla No. 1, Interacciones entre medicamentos y suplementos dietéticos
(observar el pie de tabla para más información sobre las interacciones).

Si usa o planea usar uno de estos compuestos	Puede interactuar con uno o más de estos suplementos dietéticos
Alcohol	Beta-caroteno, camomila, gamma-butirolactona (GBL)*, kava, valeriana.
Anestésicos	Kava, hierba de San Juan **, valeriana.
Antidepresivos	<u>Ginkgo biloba</u> , S-adenosilmetionina (same), hierba de San Juan**, yohimba*.
Aspirina	Corteza de sauce; es posible que las drogas que interactúan con los anticoagulantes pueden interactuar con aspirina.
Diuréticos	Aloe, sello de oro, regaliz.
Drogas que disminuyen el colesterol (como las "statinas")	Levadura roja de arroz.
Drogas para tratar diabetes	Picolinato de cromo, cardo mariano.
Anticoagulantes (aclaradores de sangre) como warfarina (Coumadina®)***	Raíz de angélica, flor de árnica, anís, asafétida, trifolata, aceite de semilla de borraja, bromelain, capsicum, apio, camomila, clavo, coenzima Q10, salvia, garra del diablo, dong quai, fenogreco, matricaria, ajo, jengibre, <i>Ginkgo biloba</i> , ginseng, sello de oro, té verde (en grandes cantidades), castaño de indias, raíz de regaliz, raíz de alheña, ulmaria, omega-3 ácidos grasos (aceite de bacalao), cebolla, papaina, perejil, álamo, cuasia, trébol rojo, rue, trébol dulce, hierba de San Juan**, cúrcuma, corteza de sauce y vitamina E.

Si usa o planea usar uno de estos compuestos	Puede interactuar con uno o más de estos suplementos dietéticos
Drogas que suprimen el sistema inmune, como los corticosteroides o la ciclosporina	Equinacia, hierba de San Juan **, vitamina E, zinc; además el ginseng y <u>melatonina</u> pueden interactuar específicamente con los esteroides.
Drogas para tratar afecciones cardiacas	Aloe, huperzina a, regaliz, hierba de San Juan**.
Drogas para tratar presión alta	Aloe, sello de oro, huperzina a, regaliz, hierba de San Juan**.
Drogas para el tratamiento de la epilepsia (fenitoína y fenobarbital)	Altas dosis de ácido fólico, <u>Ginkgo biloba</u> , hierba de San Juan **, artemisia*.
Terapia de reemplazo estrogénico o terapia de reemplazo de estrógeno/progestina	Cimifuga racemosa, DHEA, palma enana americana.
Metotrexato (Terapia de cáncer y de artritis reumatoide y psoriasis)	Equinacea, altas dosis de ácido fólico.
Inhibidores de la monoamina oxidasa ****	efedra*, ginseng, <u>melatonina</u> , SAME, hierba de San Juan **, yohimba*.
Fenotiazinas (drogas que se usan para enfermedades mentales serias)	Aceite de primula.
fenilpropanolamina o pseudoefedrina (antigripales, remedios para alergias y píldoras de dieta)	Efedra *, yohimba*.
Inhibidores de la proteasa y nonucleosidos inhibidores de transcriptasa reversa para tratamiento de VIH	Hierba de San Juan**.
Tamoxifeno (Droga utilizada en la quimioprevención de cáncer de mama y quimioterapia de cáncer)	Hierba de San Juan**.
Antibióticos tipo Tetraciclina	Calcio, hierba de San Juan **.
Hormona tiroides (Synthroid®)	Calcio.
Tranquilizantes o sedantes	Camomila, guarana, kava, <u>melatonina</u> , hierba de San Juan **, valeriana.

Si usa o planea usar uno de estos compuestos	Puede interactuar con uno o más de estos suplementos dietéticos
<p>* Los suplementos marcados con un asterisco pueden causar serios efectos adversos aun cuando se toman solos. El Consejo Americano de Ciencia y Salud recomendó que no deben usarse.</p> <p>** Debido a que las extensiones de las interacciones causadas por la hierba de San Juan solo se empiezan a comprender, el Consejo Americano de Ciencia y Salud recomienda que cualquiera que consume un medicamento importante no debe usar esta hierba a menos que el medico específicamente apruebe el uso.</p> <p>*** Más interacciones medicamentosas y alimenticias se reportan para la coumadina que para cualquier otro medicamento. Los pacientes que se administran coumadina no deben empezar o deben parar de consumir cualquier otro medicamento o terapia alternativa o hacer cualquier cambio substancial en su régimen alimenticio sin consultar al medico.</p> <p>**** Debido a que hay un potencial de interacciones extremadamente serias entre los inhibidores de la monoamino oxidasa y una gran variedad de alimentos, suplementos dietéticos y otras drogas, cualquiera que los consuma debe escrupulosamente seguir todas las instrucciones dietéticas y de otro tipo prescritas por el doctor que lo atiende.</p>	

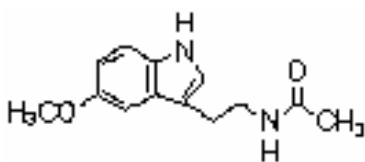
(FDA 2005)

B. Melatonina

1. Aspectos físicos y químicos: La melatonina es una droga que se produce por la glándula pineal en el cerebro. Por años los científicos reconocen que la función principal de la melatonina es el control de los patrones de sueño. Sin embargo, investigaciones más recientes revelan que también funciona como un antioxidante potente. La melatonina no está presente en la dieta, por lo que puede requerirse suplementación dietética adicional (Oxenkrug 2001).

a. Química:

Figura 4, Estructura química de la melatonina



Nombre genérico: melatonina.

Nombre químico IUPAC: N-acetil-5-metoxitriptamina.

Fórmula empírica: C₁₃H₁₆N₂O₂.

Masa molecular: 232.2816 g / mol.

Solubilidad: Agua 0.1mg/ml

Hidróxido de sodio 0.1N 0.2mg/ml

Ácido clorhídrico 0.1 N 0.8mg/ml

Etanol 8.0mg/ml

(Nalley *et al* 2002)

La melatonina (N-acetil-5metoxitriptamina) es una neurohormona que principalmente se produce en la glándula pineal localizada detrás del tercer ventrículo en el cerebro (Gordon 2000). En la síntesis de melatonina, el triptofano se hidroxila a 5-hidroxitriptofano, que a su vez es

descarboxilado a 5-dihidroxitriptamina (serotonina). La serotonina es convertida a un precursor de la melatonina, el metabolito N-acetilserotonina por la enzima N-hidroxitriptamina-5-O-metiltransferasa, (Leone *et al* 1984; Young *et al* 1985; Chapman *et al* 1885). La N-acetilserotonina se metila vía la enzima hidrosindole-o-metiltransferasa para producir melatonina (Vijayalaxmi *et al* 2002). Aproximadamente el 90% de la melatonina se metaboliza por un pasaje único a través del hígado. Una proporción menor de melatonina sin metabolizar se excreta en la orina. (Vijayalaxmi *et al* 2002) La melatonina comercial puede ser aislada de la glándula pineal de ganado vacuno o sintetizada químicamente (Merck Index 1983).

2. **Farmacología y mecanismo de acción:** La vida media de la melatonina varía de 0.54 a 2 horas. La concentración máxima circulante varía de 14.75pg/ml, refleja un rango de dosis de 0.003 a 75mg. El tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima en suero es entre 0.25 y 13 horas. Hay evidencia en algunos estudios que la melatonina exógena es capaz de penetrar la barrera hematoencefálica (Buscemi *et al* 2004).

El mecanismo básico, por el cual la melatonina produce sueño en humanos no está claro. Se han formulado tres hipótesis principales:

a. El mecanismo puede involucrar un desplazamiento de fase en el marcapaso endógeno del ciclo circadiano.

b. Una reducción de la temperatura corporal.

c. Acción directa sobre las estructuras somnógenas del cerebro (Buscemi *et al* 2004).

Esta hormona se cree que regula la fotoperiodicidad en mamíferos, inhibe la óxido nítrico sintetasa del cerebelo y bloquea la apoptosis inducida por etoposídeos en las células de la médula ósea de peroxinitritos.

3. **Fuentes de obtención:** De todos los alimentos vegetales, la avena, el maíz dulce y el arroz son los más ricos en melatonina, contienen de 1,000 a 1,800pg de melatonina por g. El jengibre, el tomate, el banano y la cebada tienen 500pg /g. Sin embargo, grandes cantidades de alimento serían necesarias para igualar la cantidad disponible en una dosis de suplemento dietético. Por ejemplo 20 platos de avena tendrían 1mg de melatonina, comparado con 3mg que se encuentran en la mayoría de suplementos. La melatonina que se encuentra en los suplementos dietéticos generalmente es de origen sintético pero de igual estructura química que la endógena (Cooperman *et al* 2006).

4. **USOS:** La melatonina se conoce por su habilidad de proveer un sueño más descansado. Los investigadores indican que niveles bajos de melatonina son una causa frecuente de insomnio en los adultos mayores (Haimov 1994). Investigaciones recientes, demuestran que la suplementación con melatonina puede inducir sueño en personas de todas las edades y puede ser de beneficio para las mujeres que experimentan insomnio relacionado con la menopausia (Blumberg *et al.* 2005). La

melatonina puede ayudar a los trabajadores de turno nocturno y los viajeros a que ajusten sus ciclos de sueño. Los pacientes con síndromes de sueño que ingieren con melatonina experimentan un aumento en su sueño caracterizado por movimiento ocular rápido o REM (Kunz 2004).

Una diferencia significativa en los niveles de melatonina puede notarse en mujeres pre y post menopausicas cuyos niveles son inferiores. La mayoría de niveles hormonales cambian con la edad. En un estudio en que se evalúa la relación entre hormonas, melatonina y menopausia se notó que las mujeres en etapa menopausica que recibieron suplementos de melatonina conservaron mejor sus niveles hormonales. Estas mujeres también reportaron mejor humor y menos signos de depresión (Bellipanni *et al* 2001).

La melatonina también muestra resultados prometedores en el tratamiento de cáncer de seno. Los estudios sugieren que la melatonina puede inhibir el crecimiento de las células cancerígenas en el seno (Molis *et al* 1995). Adicionalmente, niveles bajos de melatonina pueden relacionarse con un riesgo adicional de cáncer de mama (Danforth *et al* 1985). La melatonina puede aumentar la efectividad de ciertas drogas utilizadas en quimioterapia (Lissoni *et al* 1994).

También se reporta que pacientes con tinitus (sonido permanente en el oído) se benefician con la suplementación de melatonina (Rosenberg *et al* 1994).

5. Dosis:

Tabla No. 2, Información sobre dosificación de los suplementos preparados a base de melatonina.

Rango de dosis	Dosis más común	Formas de dosificación
0.5 – 3mg por la noche	3mg por la noche	Tabletas, cápsulas, tabletas sublinguales y tabletas y cápsulas de liberación prolongada.

(Blumberg *et al* 2005)

6. Toxicidad y precauciones: Se debe reportar el uso de los suplementos dietéticos a su medico, farmacéutico u otro profesional de la salud. Puede haber interacciones y efectos adversos que afecten su salud.

Los suplementos de melatonina se consideran como seguros cuando se utilizan de acuerdo a las guías de dosificación. A la fecha, la literatura médica no reporta ningún efecto adverso relacionado con desarrollo fetal o a niños en lactancia cuando se utiliza este medicamento en madres. Sin embargo, hay pocos estudios de la melatonina en madres embarazadas o en lactancia. Por lo tanto, se recomienda que se le informe al médico el uso de este suplemento. Este suplemento no debe ser utilizado en niños a menos de que se esté bajo estricta vigilancia médica (Blumberg *et al* 2005).

7. Efectos adversos: La FDA no ha evaluado la seguridad de su uso a largo plazo ni los efectos secundarios que su uso puede conllevar (Nalley *et al* 2002). Sin embargo, según la Alianza Nacional para la Investigación de Esquizofrenia y Depresión esta hormona puede ser la causa de la mayoría de los síntomas de la depresión (Rovner 2004). Los efectos adversos más reportados son

nausea (1.5%), dolor de cabeza (7.8%), mareo (4.0%) y somnolencia (20.33%). Los resultados no varían al cambiar la dosis, la presencia o ausencia de desordenes del sueño, el tipo de desorden de sueño, la duración del tratamiento, género, edad, formulación, el uso de otro medicamento, el diseño del estudio y la calidad de la formulación (Buscemi *et al* 2004).

8. Interacciones medicamentosas:

a. Beta bloqueadores: tipo de interacción: depleción, potencial o teórica. La actividad normal de los beta bloqueadores puede bloquear un paso en la formación de la melatonina. Si ocurren problemas de sueño con el uso de este medicamento puede deberse a que los niveles de melatonina han disminuido. Puede necesitarse suplementación con melatonina. Estas drogas incluyen: atenolol, esmolol, betaxolol, penbutolol, carteolol, bisoprolol, pindolol, metoprolol, timolol, sotalol, acebutolol, nadolol, propranolol, labetalol, carvedilol, levobunolol, levobetaxolol, metipranolol (Blumberg *et al* 2005).

b. Benzodiazepinas tipo de interacción: depleción, respaldada con estudios. Estos medicamentos, pueden bloquear un paso en la formación de la melatonina. Puede considerarse suplementar con melatonina. Estas drogas incluyen: alprazolam, diazepam, lorazepam, clorazepato dipotásico, chlordiazepoxido, oxazepam, buspirona, doxepin, hidroxizina, meprobamato (Blumberg *et al* 2005).

c. Clorpromazina, haloperidol e hidroxizina tipo de interacción: depleción, respaldada con estudios clínicos. Un estudio en animales reportó que este medicamento disminuye los niveles de melatonina en el cuerpo pineal, el sitio de producción de la melatonina, puede necesitarse suplementación con melatonina (Blumberg *et al* 2005).

d. Fluoxetina tipo de interacción: depleción, respaldada con estudios. Un estudio demuestra que este medicamento disminuye los niveles de melatonina en el cuerpo. Puede considerarse suplementación de ser necesario (Blumberg *et al* 2005).

e. Verapamilo tipo de interacción: depleción, respaldada con estudios. Un estudio reportó que este medicamento, aumenta la eliminación de la melatonina en la orina. No se conoce si la interacción es importante, pero se puede considerar suplementación con melatonina (Blumberg *et al* 2005).

f. Medicamentos que eliminan vitamina B6 tipo de interacción: depleción, potencial o teórica. Estos medicamentos pueden inhibir la formación de melatonina en el cuerpo. La suplementación puede considerarse necesaria. Entre estas drogas pueden incluirse: estrógenos conjugados, estradiol, estrona, estrógenos esterificados, estropipato, etinil estradiol, progesterona, medroxiprogesterona, hidroxiprogesterona, noretindrona, diacetato de etinodiol, norgestrel, norgestimato, drospirenona, desogestrel, levonorgestrel, antibióticos, nitroglicerina, mononitrato de isosorbide, dinitrato de isosorbide, amilnitrato, sosuprina, hidralazina, minoxidil, papaverina, tolazolina, epoprostenol, etavarina, nesiritide, vosentan, furosemida, bumetanida, ácido etacrinico, torsemida, teofilina, isoniazida, penicilamina y fenelzina (Blumberg *et al* 2005).

III. MARCO METODOLÓGICO

A. Objetivos

1. Generales:

a. Se evaluó el cumplimiento de las especificaciones de calidad en la elaboración de los suplementos dietéticos.

b. Se validó una metodología analítica para la evaluación de la calidad de los suplementos dietéticos.

2. Específicos:

a. Se planteó una metodología analítica que permita evaluar la calidad física y química de los suplementos dietéticos.

b. Se realizó un muestreo de los suplementos dietéticos, preparados a base de melatonina y evaluar el cumplimiento de especificaciones de calidad de los mismos.

c. Se evaluó el cumplimiento de las especificaciones de calidad en la elaboración de los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina distribuidos en Guatemala.

d. Se determinó si la población guatemalteca recibe productos que satisfacen los requerimientos de calidad, necesarios para garantizar la efectividad y seguridad de los productos

B. Hipótesis

Los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina que se distribuyen en Guatemala, cumplen con las especificaciones de calidad.

C. Las variables

1. **Independientes:** Suplementos dietéticos a base de melatonina que se distribuyen en el país cuya forma farmacéutica es tableta o comprimido sin recubrimiento o con recubrimiento simple.

2. **Dependientes:** Especificaciones que deben cumplir los suplementos dietéticos.

3. **Moderadoras:** Manera en la que se registró el suplemento dietético, como alimento o como producto farmacéutico.

4. **De control:** Distribución.

D. Población y muestra

1. **Universo de trabajo o población meta:** Suplementos dietéticos distribuidos en Guatemala

2. **Muestra (población accesible):** Suplementos dietéticos a base de melatonina distribuidos en Guatemala, cuya forma farmacéutica es tableta o comprimido sin recubrimiento o

3. con recubrimiento simple (ver Tabla no. 3).

Tabla No. 3, Suplementos dietéticos a base de melatonina distribuidos en Guatemala de acuerdo con su forma farmacéutica y su utilidad para el estudio.

No. de medicamentos registrados	Forma farmacéutica (ff)	Útil para el estudio
2	Cápsulas de liberación prolongada	No
6	Cápsulas de gelatina suave	No
6	Tabletas o comprimidos sin recubrimiento o con recubrimiento simple	Si

La información de la etiqueta de los suplementos dietéticos a base de melatonina utilizados se proporciona en la Tabla No. 4, No. 5 y No. 6.

Tabla No. 4, Información sobre la fabricación y empaque de los suplementos dietéticos a base de melatonina presentada en el empaque.

No muestra	FF	Concentración	Lote	Fecha de vencimiento	Envase primario	Envase secundario
1	Tabletas	3mg	168 2 DF 1090	Abril- 2008	Bote plástico opaco café	No
2	Tabletas	200mcg	65732 05	Septiembre - 2007	Bote plástico traslucido color ámbar	No
3	Tabletas	1mg	J0966-A	Agosto -2006	Bote plástico opaco color blanco	No
4	Tabletas	3mg	B0294	Febrero -2007	Bote plástico opaco color blanco	No
5	Tabletas	1mg	28075	Agosto -2008	Blister PVC/aluminio color ámbar	Caja de cartón
6	Tabletas	3mg	12095	Octubre - 2008	Blister PVC/ aluminio color ámbar	Caja de cartón

Tabla No. 5, Información sobre la formulación presentada en el empaque.

Muestra	Ingredientes activos	Excipientes
1	Melatonina 3mg y vitamina B6 2mg	Fosfato di cálcico y celulosa
2	Melatonina 0.2mg	Fosfato di cálcico, celulosa, ácido esteárico vegetal, croscarmelosa, sílica, estearato de magnesio vegetal
3	Melatonina 1mg	Cantidad suficiente para (csp)

Muestra	Ingredientes activos	Excipientes
4	Melatonina 3mg	Csp
5	Melatonina 1mg	Csp
6	Melatonina 5mg	Csp

Tabla No. 6, Información referente a las indicaciones, dosificación y advertencias de los suplementos dietéticos a base de melatonina obtenida del empaque.

Muestra	Indicaciones	Dosis	Advertencias
1	Como suplemento dietético. No más de 1 tableta en 24 horas	1 tableta antes de dormir	Para adultos. No use en embarazo o lactancia. Si toma medicamentos o tiene alguna condición consulte a su medico. No use conjuntamente con alcohol, si maneja vehículos u opera maquinaria.
2	La melatonina es perfecta para personas que buscan un suplemento a la hora de dormir.	Para adultos tome 1 tableta a la hora de dormir, puede causar somnolencia. No exceda de 15 tabletas (3mg) en 24 horas.	Embarazo o lactancia. Use únicamente antes de dormir. No exceda la dosis diaria. Consulte a un doctor antes de usar si tiene o tuvo: asma, enfermedades autoinmunes, problemas de presión, arritmia, depresión o si toma cualquier medicamento de prescripción, incluyendo medicamentos para la presión. Discontinúe su uso y consulte a su doctor si tiene cualquier efecto adverso incluyendo dolor de cabeza, cambios de humor, presión arterial o ritmo cardiaco. No maneje maquinaria o consuma alcohol cuando tome este producto. No está dirigido para personas menores de 18 años.

Muestra	Indicaciones	Dosis	Advertencias
3	Para combatir el insomnio, induce el sueño en forma natural y retarda el envejecimiento celular. Útil para mantener el patrón normal de sueño en personas que duermen a horarios irregulares (viajeros personas que trabajan en turnos nocturnos, etc).	Menores de 40 años 1/2 tableta al día; de 40-45 años 1 tableta al día; de 45-60 años 2 tabletas al día, mayores de 60 años 3 tabletas al día. Ingiera únicamente antes de dormir.	Solamente para uso en adultos. No conducir vehiculo o manipular máquinas luego de ingerir este producto, ya que puede causar somnolencia. No administrar a niños, embarazadas o lactantes. Producto medicinal, mantenga fuera del alcance de los niños.
4	Para combatir el insomnio, induce el sueño en forma natural y retarda el envejecimiento celular. Útil para mantener el patrón normal de sueño en personas que duermen a horarios irregulares (viajeros personas que trabajan en turnos nocturnos, etc.)	Personas de 45-60 años 1/2 tableta al día, personas mayores de 60 años 1 tableta al día. Ingiera únicamente antes de dormir.	Solamente para uso en adultos. No conducir vehiculo o manipular máquinas luego de ingerir este producto, ya que puede causar somnolencia. No administrar a niños, embarazadas o lactantes. Producto medicinal, mantenga fuera del alcance de los niños.
5	Inductor del sueño, antioxidante natural. (Incluye inserto)	1/2 a 3 tabletas antes de acostarse o según criterio medico.	No manejar maquinaria ni administrarse conjuntamente con tranquilizantes, antihistamínicos o anticonvulsivos.
6	Inductor del sueño, antioxidante natural.	1 tableta antes de acostarse o según criterio medico.	No manejar maquinaria ni administrarse conjuntamente con tranquilizantes, antihistamínicos o anticonvulsivos.

E. Procedimiento

Se efectuaron los diferentes ensayos de control de calidad especificados por el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) y por la USP para los suplementos dietéticos y los ensayos adicionales que debería de cumplir si fuese un producto farmacéutico.

Tabla No. 7, Comparación de los análisis físicos, químicos y microbiológicos que se les efectúan a los suplementos dietéticos y a los productos farmacéuticos según la USP y el LNS.

Ensayo	Suplemento dietético		Producto farmacéutico	
	LNS	USP	LNS	USP
Depende de lo declarado en la etiqueta (vitaminas, minerales, proteínas)	X		N/I	
Evaluación de los ingredientes que no contienen	X		N/I	
Preservantes (cuantitativo)	X		N/I	
Colorantes (cualitativo)	X		N/I	
Microbiológico (<i>E coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus áureus</i> , <i>Vibrio colera</i>)	X	X	X	X*
Microbiológico hongos y levaduras	N/I	X	X	X*
Identificación	N/I		X1	X
Cuantificación	N/I		X	X
Desintegración	N/I	X	X	X
Disolución	N/I		N/I	X
Variación de peso	N/I	X	X	X
Friabilidad	N/I		N/I	X
Dureza	N/I		N/I	X
Organolépticos	N/I		X	X
*Depende del riesgo de contaminación 1 A la mayoría se le efectúa un espectro Infrarrojo para la identificación por carecer de metodología estandarizada de análisis. N/I No se obtuvo más información acerca de los análisis efectuados en el LNS.				

(DGRVCS 2003; USP 2005)

1. Ensayos de control de calidad:

a. Ensayos físicos:

1) Desintegración: Este ensayo se efectúa para determinar que se cumplan con los límites de desintegración declarados en cada monografía individual excepto en el caso en el que la cápsula o tableta este diseñada como masticable o de liberación controlada (USP 2005).

Se determina el tipo de unidad, para la prueba de la etiqueta del producto y de observación y se aplica el procedimiento apropiado para seis o más unidades de dosis. Para el propósito de esta prueba, la desintegración no implica la disolución completa de la unidad o incluso de su constituyente activo. La desintegración completa está definida como el estado en el que cualquier

residuo de la unidad, excepto fragmentos del recubrimiento insoluble o del cuerpo de la cápsula, que sean remanentes dentro del equipo posean una masa suave que no tenga una naturaleza firme palpable (USP 2005).

Equipo: Consiste en una canasta ensamblada dentro de un recipiente de 1,000ml, con una altura de 138 a 155mm y un diámetro interno de 97-110mm para el líquido de inmersión. Un arreglo termostático para calentar el fluido entre 35° y 39° C y un mecanismo para elevar e bajar la canasta en el líquido de inmersión con una frecuencia de 29 a 32 ciclos por minuto a una distancia no menor de 5.3cm y no mayor de 5.7cm. El volumen del líquido en el recipiente es tal, que al punto mayor del ciclo de inmersión el entramado de alambre estará por lo menos 2.5cm debajo de la superficie y desciende a no menos de 2.5cm del fondo del recipiente en el punto más bajo del ciclo. El tiempo que se requiere para la elevación es el mismo que para la inmersión y el cambio de dirección es leve sin movimientos abruptos. La canasta ensamblada se mueve a lo largo de su eje vertical y no hay movimiento horizontal apreciable (USP 2005).

La canasta consiste en seis tubos transparentes abiertos cada uno de 7.75 +/- 0.25cm de largo y con diámetro interno de 20.7 a 23mm y paredes de 1.0 a 2.8mm de ancho. Los tubos están colocados en posición vertical por dos planchas plásticas con 8.8 a 9.2 m de diámetro y 5 a 7mm de ancho con seis agujeros cada uno de 22 a 26mm de diámetro, equidistantes del centro de la placa y de cada uno. Unido a la superficie del plato inferior esta un entramado de alambre de acero inoxidable, de 1.8 a 2.2mm de apertura y esta sostenido rígidamente por tres cerrojos que atraviesan las placas plásticas (USP 2005).

Prueba para tabletas o comprimidos sin cubierta o con cubierta simple para suplementos dietéticos: Colocar una tableta o comprimido en cada uno de los tubos, agregar un disco a cada tubo y operar el equipo manteniendo el agua a una temperatura de 37° +/- 2° C que rodea el líquido de inmersión (que es agua si no se especifica en la monografía). Al final de los 30 minutos, levantar la canasta del fluido y observar las tabletas o comprimidos. Todas deben de desintegrarse completamente. Si una o dos tabletas fallan en desintegrarse, repetir la prueba con otras doce tabletas adicionales: no menos de 16 de 18 tabletas deben desintegrarse completamente (USP 2005).

Prueba para tabletas o comprimidos sin cubierta o con cubierta simple para productos farmacéuticos: Colocar una tableta en cada uno de los tubos y opere el equipo con agua a una temperatura de 37° +/- 2° C como líquido de inmersión si no se especifica en la monografía. Al final del tiempo límite especificado en la monografía levantar la canasta del fluido y observar las tabletas. Si una o dos tabletas no se desintegran completamente repetir la prueba con otras doce tabletas adicionales: no menos de 16 de 18 tabletas deben desintegrarse completamente. Si las tabletas tienen recubrimiento simple desarrolle la prueba como anteriormente descrito (USP 2005).

Tabla No. 8, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el análisis de desintegración.

Equipo	Desintegrador con termostato marca Erweka ZT3 Aparatebaw GMBH tipo 1 No. serie 64500 (Laboratorio E-105 Universidad del Valle de Guatemala, UVG)
Tabletas	18
Reactivos	Agua destilada

2) Variación de peso: La siguiente prueba, provee de los límites para variación de peso permitida en tabletas o cápsulas individuales, expresadas en términos de la desviación permitida del peso promedio de la muestra (USP 2005).

Para tabletas o comprimidos sin recubrimiento y con recubrimiento simple Suplementos Dietéticos: Pesar individualmente 20 tabletas completas y calcular el peso promedio. Los requerimientos se cumplen si los pesos de no más de dos tabletas difieren del peso promedio por más que el porcentaje que se declara en la Tabla No. 9 y ninguna tableta difiere en peso por más del doble de ese porcentaje (USP 2005).

Tabla No. 9, Tolerancia de variación de peso para tabletas no cubiertas, con cubierta simple y tabletas cubiertas.

Peso promedio de la tableta (en mg)	Diferencia en porcentaje del promedio (desviación estándar relativa)
130 o menos	10
de 130 a 324	7.5
Más de 324	5

Para tabletas sin recubrimiento y con recubrimiento simple productos farmacéuticos: La prueba de variación de peso para determinar uniformidad de contenido puede aplicarse a las siguientes formas farmacéuticas:

(W1) soluciones para inhalación que están empacadas en vidrio o ampollas de plástico cuyo uso es para nebulizador y solución oral y están empacadas en contenedores unitarios y en capsulas blandas.

(W2) Sólidos, incluyendo sólidos estériles, que estén empacados en unidades y no contengan sustancias adicionales, activas o inactivas.

(W3) Sólidos (incluyendo sólidos estériles) que están empacados en unidades con o sin sustancias agregadas, sin importar si son activas o inactivas, que han sido preparadas de soluciones verdaderas y liofilizadas en sus contenedores finales y etiquetadas para indicar su método de preparación.

(W4) Cápsulas duras, tabletas sin recubrimiento o con recubrimiento simple que contengan

25mg o más de una sustancia que comprenda 25% o más del peso por unidad de dosis, en el caso de la cápsula dura, del contenido de la cápsula, exceptuando que la uniformidad de otras sustancias activas presentes en menor proporción se demuestre por cumplimiento de las especificaciones de la uniformidad de contenido.

La prueba de uniformidad de contenido se requiere para todas las formas farmacéuticas que no cumplan con las condiciones para la prueba de variación de peso. Alternativamente, los productos listados en W4 que no cumplan con el límite de 25mg o 25% pueden ser analizados por variación de peso en lugar de uniformidad de contenido siempre que la Desviación Estándar Relativa (DER) de la droga en la forma farmacéutica final no sea más de 2% basado en un proceso de validación. La DER de la concentración es la DER de la concentración por unidad de dosificación (w/w o w/v) donde la concentración por unidad es igual al resultado de la cuantificación de melatonina por unidad de dosis dividido por el peso de la unidad de dosis.

Tabla No. 10, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de variación de peso.

Equipo	Balanza analítica marca Ohaus Analytical plus modelo No. AP 250D con una exactitud de +/-0.005mg (laboratorio análisis instrumental avanzado I1 214 UVG)
Tabletas	20

3) Disolución: Esta prueba tiene el objetivo de determinar el cumplimiento con las especificaciones para disolución según lo especificado en la monografía individual de cápsulas o tabletas (USP 2005).

Equipo: El diseño consiste en un recipiente de vidrio u otro material transparente e inerte, un motor, un tubo metálico y una canasta cilíndrica. El recipiente es parcialmente sumergido en un baño de agua de tamaño conveniente o colocado en una camisa de calentamiento. El baño de agua o la camisa permite mantener una temperatura de 37° +/-0.5° C durante la prueba y mantiene el fluido en el baño constante y en movimiento leve. Ninguna parte del diseño contribuye al movimiento únicamente el implemento mezclador o aspa. El equipo permite la observación del espécimen y su mezcla durante el análisis es preferible. El recipiente es cilíndrico con una base semiesférica y con dimensiones que pueden ser: para una capacidad nominal de 1l, altura de 160mm a 210mm y diámetro interno de 98mm a 106mm y para una capacidad nominal de 4l la altura es de 280 a 300mm con un diámetro interno de 145 a 155mm. Los lados están sujetos en la parte superior. Puede poseer una cubierta para retrasar la evaporación. El aspa está posicionada de tal manera que su eje no sea mayor de 2mm desde ninguna posición a partir del eje vertical del recipiente y rota con movimiento fácil sin producir burbujas. Un equipo regulador de la velocidad se utiliza de tal manera que la rotación del aspa para mantenerla en la especificación de la monografía +/- 4%. Los componentes del aspa y del recipiente están fabricados de acero inoxidable tipo 316 o su equivalente. (USP 2005)

Especificaciones de operación: Puede utilizarse una canasta con recubrimiento dorado con un

entramado de 40 entramado, a menos que se especifique lo contrario. Colocar la unidad de dosis en la canasta seca al comienzo de cada análisis. La distancia entre la canasta y el recipiente debe mantenerse en 25 +/- 2mm durante la prueba (USP 2005).

Medio de disolución: Usar el solvente especificado en la monografía individual. Si es una solución tamponada ajustar el pH a 0.05 unidades de pH (USP 2005).

Tiempo: Si se da un tiempo específico, la prueba puede concluirse en un período más corto de tiempo. Si se dan dos o más tiempos, los especímenes se retiran solo a los tiempos especificados con una tolerancia de +/-2% (USP 2005).

Procedimientos para determinar la disolución en cápsulas, tabletas o comprimidos con y sin recubrimiento: Colocar el volumen (+/- 1%) de medio de disolución en el recipiente del equipo especificado en la monografía, armar el equipo y equilibrar la temperatura del medio de disolución a 37° C +/- 0.5° y remover el termómetro. Colocar una tableta o una cápsula en el equipo, cuidar de excluir las burbujas de aires de la superficie de la forma de dosificación y operar el equipo a la velocidad determinada en la monografía. En el tiempo especificado o a cada tiempo especificado, retirar especímenes de una zona intermedia entre la superficie del medio de disolución y la parte superior de la canasta o del aspa a no menos de 1cm de la pared del recipiente. Reemplazar el volumen retirado con medio de disolución a 37° C, corregir el volumen en los cálculos. Mantener el recipiente cubierto durante el tiempo de análisis y verificar la temperatura de la mezcla a intervalos regulares. Repetir el análisis con las siguientes unidades de dosificación, seis a doce dependiendo de la monografía (USP 2005).

Interpretación:

Por unidad: A menos que se especifique diferente en la monografía, los requerimientos se cumplen si la cantidad de ingrediente activo disuelto en la unidad de dosificación cumple con la tabla de aceptación. Continúe la prueba, concluya las tres etapas a menos que los resultados cumplan con la etapa S1 o S2. La cantidad Q es la cantidad de porcentaje disuelto del ingrediente activo especificado en la monografía individual expresado como un porcentaje del contenido de la etiqueta (USP 2005).

Tabla No. 11, Tabla de aceptación para disolución por unidad.

Etapas	Unidades analizadas	Criterio de aceptación
S1	6	Cada unidad es mayor de Q + 5%
S2	6	El promedio de las 12 unidades (S1 + S2) es mayor o igual que Q y ninguna es menor que Q -15%
S3	12	El promedio de 24 unidades (S1 + S2 + S3) es igual o mayor de Q y no más de 2 unidades son menores de Q-15% y ninguna unidad es menor que Q-25%

Muestras en grupo: A menos que se especifique diferente en la monografía individual, los requerimientos se cumplen si la cantidad de ingrediente activo disuelto en la muestra en grupo

cumple con la tabla de aceptación para muestras en grupo. Continúe la prueba, concluya las tres etapas a menos que los resultados cumplan con las etapas S1 o S2. La cantidad Q es la cantidad disuelta del ingrediente activo especificada en la monografía y expresada como porcentaje de su contenido en etiqueta.

Tabla No. 12, Criterios de aceptación para disolución por grupo.

Etapas	Unidades analizadas	Criterio de aceptación.
S1	6	Cada unidad es mayor de Q + 10%
S2	6	El promedio de las 12 unidades (S1 + S2) es mayor o igual que Q y ninguna es menor que Q -5%
S3	12	El promedio de 24 unidades (S1 + S2 + S3) es igual o mayor de Q.

(USP 2005)

Tabla No. 13, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de disolución.

Equipo	Disolutor 1 marca Sotas tipo AT6 Suiza No. serie 253. Disolutor 2: Disolutes marca Prolabo. Disolutor 3: Sotas tipo: AT7. No. serie 92.1.085 (laboratorios Sanofi-Aventis) Equipo de detección (HPLC serie 1100 acoplado a detector UV/VIS) que consiste en una columna HD ODS Hypersil 5µm 200 x 2.1mm lote 79916OD.572, un degasificador G1322A No. serie JP73009869, una bomba peristáltica G11311A No. serie US80303120, un sistema de inyección manual GB28A No. serie US60900780 con un loop de 20µl y acoplado a un detector UV/VIS (laboratorio análisis instrumental avanzado I1 213 UVG)
Tabletas	24
Reactivos y condiciones	Medio de disolución ácido clorhídrico 0.1N. Tiempo de recolección de la muestra 30 y 60 minutos. Tipo de aspa: paddle. Velocidad: 75 revoluciones por minuto (rpm). Ver condiciones de la cuantificación de melatonina por HPLC acoplado a UV/VIS.

4) Uniformidad de contenido: Para determinar la uniformidad de dosis por ensayo de unidades individuales selección no menos de 30 unidades y proceda según la forma farmacéutica (USP 2005).

Especificaciones para tabletas o comprimidos con y sin recubrimiento, cápsulas blandas y duras: Los requerimientos de uniformidad de dosis se cumplen si la cantidad de ingrediente activo en cada una de diez unidades de dosis determinadas individualmente por cuantificación del principio activo están en el rango de 85.0% a 115.0% de lo que se especifica en la etiqueta. La

desviación estándar relativa es menor o igual a 6% si una unidad esta fuera del rango de 85.0% a 115.0% y no hay ninguna unidad fuera del rango de 75.0% a 125.0% de lo declarado en la etiqueta o si la desviación estándar relativa es mayor de 6.0% o ambas condiciones prevalecen, pruebe 20 tabletas adicionales. Los requerimientos se cumplen si no más de una unidad por cada 30 esta fuera del rango de 85.0% a 115.0% y no hay ninguna unidad fuera del rango de 75.0% a 125.0% de lo declarado en la etiqueta y la desviación estándar relativa de las unidades no excede el 7.8% (USP 2005).

Tabla No. 14, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de uniformidad de contenido.

Equipo	Balanza analítica marca Ohaus Analytical plus modelo No. AP 250D con una exactitud de +/-0.005mg y equipo de detección (HPLC serie 1100 acoplado a detector UV/VIS) que consiste en una columna HD ODS Hypersil 5µm 200 x 2.1mm lote 79916OD.572, un degasificador G1322A No. serie JP73009869, una bomba peristáltica G11311A No. serie US80303120, un sistema de inyección manual GB28A No. serie US60900780 con un loop de 20µl y acoplado a un detector UV/VIS (laboratorio análisis instrumental avanzado I1 213 UVG)
Tabletas	30
Reactivos y materiales	Ver condiciones de la cuantificación de melatonina por HPLC acoplado a UV/VIS.

5) Friabilidad: La prueba presentada es aplicable a la mayoría de tabletas comprimidas. La medida de friabilidad compensa por otras pruebas de fuerza física como la dureza (USP 2005).

Equipo: El tambor debe tener un diámetro interno entre 283 y 291mm y una profundidad de 36-40mm. Debe ser de un polímero sintético transparente con superficies internas pulidas y no estar sujeto a electricidad estática. Las tabletas se dejan caer en cada vuelta del tambor con una proyección curva de radio interno entre 75.5 y 85.5mm que se extiende del medio del tambor a la pared exterior. El tambor está unido en su eje horizontal a un mecanismo que rota a 25 +/- 1rpm. En cada vuelta las tabletas ruedan o se deslizan y caen a la pared del tambor o sobre ellas mismas (USP 2005).

Muestra: Para tabletas cuya masa sea igual o menor de 650mg/unidad tomar una muestra que corresponda a 6.5g. Para tabletas con una masa mayor de 650mg, tome una muestra de 10 tabletas completas. Las tabletas deben limpiarse cuidadosamente antes de la prueba. Pesar la muestra y colocarla en el tambor. Rotar el tambor 100 veces (4 minutos a 25rpm) y remover las tabletas. Limpiarlas de cualquier polvo suelto y vuélvalas a pesar. Generalmente esta prueba se corre una sola vez. Si se observa rajaduras, quebraduras o fisuras en las tabletas, la muestra no cumple con especificaciones. Si los resultados son dudosos, la muestra pesa al final más que al inicio, debe repetirse la prueba hasta tres veces reporte la media de los resultados. Una pérdida de no más de 1%

del peso de la muestra se considera aceptable para la mayoría de productos. En el caso de formulaciones nuevas, una pérdida de 0.8% es permitida hasta obtener información completa del empaque final (USP 2005).

Tabla No. 15, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de friabilidad.

Equipo	Balanza analítica marca Ohaus Analytical plus modelo No. AP 250D con una exactitud de $\pm 0.005\text{mg}$ (laboratorio análisis instrumental avanzado UVG II 214 UVG) Friabilizador marca Erweka GMBH tipo: Tar Nr 64022 20-40 rpm (laboratorio química farmacéutica E-105 UVG)
Tabletas	60

6) Resistencia a la compresión (dureza): El fin de esta prueba es determinar bajo condiciones definidas la resistencia a la compresión medida por la fuerza necesaria para romperlas (British Pharmacopoeia 2004).

Equipo: El equipo consiste en dos mandíbulas frente a frente, una que se mueve hacia la otra. Las superficies lisas de las mandíbulas son perpendiculares a la dirección del movimiento. Las superficies de compresión de las mandíbulas son planas y más largas que la zona de contacto de la tableta. El equipo se calibra con una precisión de 0.1019716 kg fuerza (British Pharmacopoeia 2004).

Procedimiento de Operación: Coloque entre las mandíbulas la tableta, tome en cuenta la forma, la marca de incisión y la inscripción. Para cada medida orientar la tableta de la misma manera con respecto a la dirección de aplicación de la fuerza. Llevar a cabo la medida en diez tabletas, remueva todos los fragmentos de la tableta anterior antes de cada determinación (British Pharmacopoeia 2004).

Expresión de los resultados: Los resultados se expresan en media mínimo y máximo de las fuerzas medidas, todas expresadas en kg fuerza (1Newton = 0.101976 kg fuerza). Indique el tipo de equipo y la orientación de la tableta. Se aceptan generalmente resistencia a la compresión entre 4.08-10.1976 kg fuerza. (British Pharmacopoeia 2004)

Tabla No. 16, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de resistencia a compresión.

Equipo	Durómetro Erweka tipo TBH30 No. serie 106058.02bc (laboratorio Sanofi-Aventis)
Tabletas	10

b. Ensayos químicos:

1) Identificación: Debido a que no existe una monografía para la melatonina en la USP, farmacopea británica, japonesa ni europea, se diseñará un método de identificación de melatonina

basandose en la absorbancia UV/VIS y en comparación con un estándar a la longitud de onda de máxima absorbancia de la melatonina 228nm y tiempo de retención.

Tabla No. 17, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de identificación.

Equipo	Equipo de detección (HPLC serie 1100 acoplado a detector UV/VIS) que consiste en una columna HD ODS Hypersil 5µm 200 x 2.1mm lote 79916OD.572, un degasificador G1322A No. serie JP73009869, una bomba peristáltica G11311A No. serie US80303120, un sistema de inyección manual GB28A No. serie US60900780 con un loop de 20µl y acoplado a un detector UV/VIS (laboratorio análisis instrumental avanzado II 213 UVG)
Tabletas	20
Reactivos	Materia prima estándar, metanol (grado HPLC) y agua (desmineralizada y grado HPLC). Fase móvil: acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5 (35:65).

2) Cuantificación del principio activo: Estandarizar un procedimiento con un equipo HPLC acoplado a un detector UV/VIS según el trabajo a continuación descrito: Análisis de melatonina en suplementos dietéticos por HPLC con detector UV/VIS (Vega *et al* 2005)

Se tomaron diez tabletas y se pesaron para obtener el peso promedio por tableta. Luego se pulverizaron con mortero y pistilo, los cuales se limpiaron con acetona antes de cada prueba. Se peso el polvo equivalente a una tableta. Luego se agregaron 100ml de metanol grado HPLC: agua desmineralizada (50:50) volumetricamente (M1) y se colocó en un baño de ultrasonido por 25 minutos. Se tomó aproximadamente 30ml de la solución M1 y se centrifugó por 10 minutos a 3000 rpm. En un balón aforado de 10ml se colocó 2ml del sobrenadante y se agregó metanol: agua (50:50) para aforar (M2), se utilizo metanol y agua grado HPLC. Esta solución M2 fue filtrada con un filtro para soluciones orgánicas y sellada para su inyección en HPLC.

Tabla No. 18, Infraestructura y materiales necesarios para ejecutar el ensayo de cuantificación del principio activo.

Aparatos y equipo	Balanza analítica marca Ohaus Analytical plus modelo No. AP 250D con una exactitud de +/-0.005mg y equipo de detección (HPLC serie 1100 acoplado a detector UV/VIS) que consiste en una columna HD ODS Hypersil 5µm 200 x 2.1mm lote 79916OD.572, un degasificador G1322A No. serie JP73009869, una bomba peristáltica G11311A No. serie US80303120, un sistema de inyección manual GB28A No. serie US60900780 con un loop de 20µl y acoplado a un detector UV/VIS (laboratorio análisis instrumental avanzado II 213 UVG)
Tabletas	10
Reactivos	Materia prima grado estándar, metanol y agua. Fase móvil: acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5 (35:65).

Resumen de muestras, equipos y reactivos necesarios, por muestra:

Tabla No. 19, Resumen de cantidad de tabletas, equipos y reactivos necesarios

Análisis	Cantidad de tabletas	Equipos	Reactivos
Desintegración	18	Desintegrador	Agua desmineralizada
Variación de peso	20	Balanza analítica	---
Disolución	24	Disolutor HPLC con UV/VIS	Estandar, HCl 0.1N y fase móvil acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5.
Uniformidad de contenido	30	Balanza analítica	---
Friabilidad	60	Balanza analítica	---
Dureza	10	Durómetro	---
Identificación	20	Espectrofotómetro UV/VIS o Infrarrojo	Estándar, metanol, agua y fase móvil acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5.
Cuantificación		HPLC acoplado a UV/VIS	

Total de tabletas: aproximadamente 170 tabletas o unidades de dosis por muestra a analizar.

F. Diseño de investigación:

Se realizó un análisis de los resultados obtenidos con el fin de determinar el cumplimiento de los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina con las normas establecidas para: Suplementos dietéticos de acuerdo con la USP y con el LNS de Guatemala y productos farmacéuticos de acuerdo con la USP y con el LNS de Guatemala.

Al evaluar el cumplimiento puede entonces llegarse a la determinación de las especificaciones de calidad que es necesario que cumplan los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina y plantear una norma específica de análisis que permita asegurar la calidad de los suplementos dietéticos preparados a base de melatonina. Esta norma puede ampliarse en futuros estudios a otros suplementos dietéticos cuyo principio activo conlleve a reacciones adversas significativas.

G. Análisis estadístico

Debido a la pequeña población de suplementos dietéticos producidos a base de melatonina que se comercializan en el país, se realizó las pruebas sobre todos los suplementos dietéticos que se venden en Guatemala. Se utilizó para la recolección de muestras y el número de tabletas por muestra a analizar las cantidades sugeridas por la USP.

IV. MARCO OPERATIVO

A. Recabación y tratamiento de los datos

A cada muestra se le realizaron los análisis de laboratorio indicados por la USP y por el LNS. Se evaluó para cada análisis si la muestra cumple o no con las normas de calidad. Al término de la evaluación individual de cada una de las pruebas de calidad se determinó si las muestras cumplen o no en general con las especificaciones de calidad para suplementos dietéticos y productos farmacéuticos.

B. Recursos

1. Recursos humanos.

- a. Autor: Ana Lucia Salazar Duarte.
- b. Asesores: Licenciado Élfego Rolando López G. y Licenciada Ana Luisa de Montenegro.
- c. Colaboradores:

1) Licenciados Ana Maria Mejía y José Luis Luarca laboratorio Sanofi-Aventis Guatemala

2) Licenciada Leticia Vargas de Ponce Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines.

3) Dr. Joseph Bloom Programa Atlantea, Universidad de Puerto Rico.

4) Licenciada Margarita Palmieri, laboratorio de Protección Vegetal, UVG.

2. Recursos materiales.

a. Equipo

1) Cromatógrafo para líquidos Hewlett-Packard (HP) 1100 con detector UV/VIS y bomba cuaternaria.

2) Computadora HP, Vectra VL 8, 550MHz, HDD de 14 GB, 320 MB RAM, impresora HP Epson Stylus Color 660, interfase HP-IB.

3) Software CHEMSTATION de HP para el manejo bidireccional del cromatógrafo, versión A 06.03.

4) UPS de 8KVA.

5) UPS Minuteman PRO 1400.

6) Computadora celeron 550 MHz, HDD de 13GB, 64 MB RAM, impresora HP Deskjet 520.

7) Balanza analítica OHAUS analytical plus.

8) Agitadores magnéticos.

9) Bomba de vacío.

10) Baño de ultrasonido.

11) Friabilador.

- 12) Disolutor.
- 13) Desintegrador
- 14) Durómetro.
- 15) Centrífuga.

b. Materiales

- 1) Columna cromatográfica para HPLC HD ODS Hypersil 5 μ m 200 x 2.1mm lote 79916OD.572.
- 2) Viales cromatográficos 2ml.
- 3) Tapaderas aluminio para viales cromatográficos.
- 4) Probetas vidrio, graduadas, 100, 50 y 10ml.
- 5) Beakers 1000, 500, 250, 100, 50 y 10ml.
- 6) Pipetas volumétricas 5, 4, 3, 2, 1 y 0.5ml.
- 7) Balones volumétricos 100, 50, 10, 5 y 1ml.
- 8) Pissetas de polietileno, 250ml.
- 9) Pinza para abrir viales cromatográficos.
- 10) Pinza para sellar viales cromatográficos.
- 11) Papel filtro.
- 12) Kitasatos 500ml.
- 13) Embudos Büchner.
- 14) Estufas con agitador.
- 15) Termómetros 110 °C.
- 16) Barras de agitación.
- 17) Espátulas mango de madera.
- 18) Espátulas analíticas.
- 19) Sistema para filtración de solventes para HPLC.
- 20) Sistema para filtración de muestras para HPLC.
- 21) Filtros para HPLC, 0.5 μ m x 47mm y 13mm tipo FH y FW (solventes orgánicos).
- 22) Filtros para HPLC, 0.45 μ m x 47mm y 13mm tipo HATF 013 00 (solventes acuosos).
- 23) Tubos de centrifuga.

c. Reactivos

- 1) Metanol, grado HPLC
- 2) Agua grado HPLC
- 3) Agua desmineralizada
- 4) Acetona, grado industrial
- 5) Estándar de melatonina
- 6) Muestras

C. Aspectos económicos

Las actividades se desarrollaron dentro de las instalaciones de la UVG: Instituto de Investigaciones laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado (I1-213 y 214), laboratorio de Química Farmacéutica (E-103 y E-105). Para el desarrollo de las pruebas de resistencia a la compresión y disolución se obtuvo la colaboración del departamento de control de calidad del laboratorio Sanofi Aventis Guatemala y se desarrollaron en estas instalaciones.

Todas las actividades fueron patrocinadas por la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT), por medio del proyecto FODECYT 052-05 y por la Universidad del Valle de Guatemala.

V. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las pruebas para las seis muestras de suplementos dietéticos a base de melatonina analizadas.

A. Por prueba

1. Organolépticas: Se observó una muestra de tabletas para analizar color, forma y olor y comprobar si estas características se conservan a lo largo de la muestra analizada. Las especificaciones son propias de cada muestra y se presentan en la Tabla No. 20.

Tabla No. 20, Características organolépticas (especificaciones: se observó uniformidad en toda la muestra analizada).

Muestra	Características
1	Tabletas biplanas blancas, sin olor. Diámetro 8.02mm y altura 4.47mm
2	Tabletas biplanas blancas, sin olor. Diámetro 8.07mm y altura 5.00mm
3	Tabletas biplanas color celeste ranuradas de 1 lado, sin olor. Diámetro 8.28mm y altura 3.59mm
4	Tabletas biplanas blancas, ranuradas de 1 lado, sin olor. Diámetro 8.31mm y altura 3.64mm.
5	Tabletas biplanas verdes (con chispas amarillas, rojas y azules), ranuradas de 1 lado, sin olor. Diámetro 8.82mm y altura 3.36mm.
6	Tabletas biplanas blancas, ranuradas de 1 lado, sin olor. Diámetro 8.83mm y altura 3.30mm.

2. Físicas:

a. Variación de peso: Utilizando una balanza analítica se pesaron 20 tabletas y con estos datos se calculó el promedio, la desviación estándar y la DER. Los datos obtenidos tienen una precisión de +/-0.005mg. Los resultados se presentan en las Tablas No. 21 y 22.

Tabla No. 21, Variación de peso de 20 tabletas de la Muestra 1, 2 y 3 (especificación: 2 a +/- 1DER y 0 a +/- 2DER valor de DER en Tabla No. 9).

Tableta	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)
1	306.20	0.75	348.66	0.19	171.38	0.15
2	305.37	0.47	347.11	0.63	168.94	1.57
3	304.08	0.05	352.42	0.89	172.92	0.75
4	304.51	0.19	348.81	0.15	166.00	3.28

Tableta	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)
5	302.83	0.36	359.43	2.89	173.00	0.80
6	302.98	0.31	344.88	1.27	172.66	0.60
7	303.70	0.08	345.28	1.16	171.29	0.20
8	304.98	0.34	347.61	0.49	166.87	2.77
9	302.44	0.49	346.85	0.71	170.50	0.66
10	303.62	0.10	350.34	0.29	175.08	2.01
11	303.26	0.22	344.53	1.37	170.19	0.84
12	304.43	0.16	350.39	0.31	173.88	1.31
13	304.66	0.24	349.59	0.08	167.60	2.35
14	301.80	0.70	348.48	0.24	173.78	1.25
15	303.38	0.18	356.79	2.14	173.80	1.26
16	303.56	0.12	347.23	0.60	173.64	1.17
17	303.34	0.20	348.99	0.10	175.42	2.21
18	303.74	0.06	351.55	0.64	172.65	0.59
19	304.33	0.13	352.12	0.80	168.19	2.00
20	305.46	0.50	345.40	1.12	174.82	1.86
Promedio	303.93		349.32		171.63	
DER (%)	0.3561		1.0927		1.6572	

Tabla No. 22, Variación de peso de 20 tabletas de la Muestra 4, No. 5 y No. 6 (especificación: 2 a +/- 1DER y 0 a +/- 2DER valor de DER en Tabla No. 9)

Tableta	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)	peso	DSR (%)
1	176.21	0.97	195.99	0.86	204.91	1.22
2	172.88	0.93	197.56	0.07	203.95	0.75
3	172.78	0.99	195.61	1.05	201.07	0.68
4	178.04	2.02	200.05	1.19	201.12	0.65
5	174.49	0.01	192.80	2.47	202.61	0.08
6	173.00	0.86	201.98	2.17	201.55	0.44
7	173.71	0.46	200.24	1.29	203.53	0.54
8	175.53	0.58	198.98	0.65	201.47	0.48
9	173.26	0.72	203.43	2.90	206.80	2.15

Tableta	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
	Peso	DSR (%)	Peso	DSR (%)	peso	DSR (%)
10	174.79	0.16	195.64	1.04	205.11	1.32
11	177.95	1.97	197.90	0.11	199.92	1.24
12	172.91	0.92	198.85	0.59	198.17	2.11
13	177.01	1.43	202.04	2.20	205.40	1.46
14	174.21	0.17	193.74	2.00	202.03	0.20
15	174.21	0.17	196.72	0.49	199.77	1.32
16	173.45	0.61	199.29	0.81	203.96	0.75
17	172.57	1.11	193.26	2.24	201.15	0.64
18	174.16	0.20	196.17	0.77	201.84	0.30
19	174.48	0.02	196.29	0.71	202.89	0.22
20	174.55	0.02	197.26	0.22	201.55	0.44
Promedio	174.51		197.69		202.44	
DER (%)	0.9520		1.4858		1.0574	

b. Desintegración: Los resultados se presentan en la Tabla No. 23.

Tabla No. 23, Desintegración (especificación: menor o igual a 30 minutos).

Muestra	Minutos de desintegración (+/- 0.5 minutos)
1	2
2	1
3	3
4	3
5	9
6	6

c. Friabilidad: Los resultados se presentan en la Tabla No. 24.

Tabla No. 24, Friabilidad de cada muestra con un peso en tabletas mayor de 6.5g (especificación: pérdida menor o igual al 1% del peso).

Muestra	Peso inicial	Peso final	Variación de peso (%)
1	6.69089	6.68465	0.0933
2	6.67038	6.63204	0.5748
3	6.52435	6.51820	0.0943
4	6.66675	6.64542	0.3199

Muestra	Peso inicial	Peso final	Variación de peso (%)
5	6.56445	6.55105	0.2041
6	6.69935	6.69136	0.1193

d. Dureza: Los resultados se presentan en la Tabla No. 25.

Tabla No. 25, Dureza etapa 1 (especificación 4.08 – 10.20kg fuerza, DER 10%).

Tableta	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
1	8.77	7.14	4.59	7.14	8.87	8.26
2	7.75	6.42	4.49	5.00	6.02	8.97
3	8.36	6.02	5.10	7.24	5.61	7.44
4	7.65	5.30	3.87	6.53	7.75	7.95
5	6.83	6.02	4.69	6.73	8.16	7.75
6	8.46	7.04	4.69	6.53	6.53	9.48
7	7.85	4.79	3.87	6.73	7.55	7.95
8	8.36	5.10	4.49	7.34	7.75	8.06
9	8.57	6.32	4.59	7.14	6.83	7.75
10	8.36	5.91	4.79	6.12	6.73	7.65
Media	8.10	6.01	4.52	6.65	7.18	8.13
DER (%)	6.76	12.25	8.02	9.94	13.34	7.40

Debido a lo alto de la desviación estándar relativa observado en la Muestra 2 y 5 se decidió repetir el ensayo con 10 tabletas más para promediarlo y se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla No 26.

Tabla No. 26, Dureza medida en kg. fuerza etapa 2 (especificación 4.08 – 10.20 kg fuerza y DER 10%).

Tableta	Muestra 2	DER de la media	Muestra 5	DER de la media
1	7.1380	16.7640	8.8715	32.6220
2	6.4242	5.0876	6.0163	-10.0610
3	6.0163	-1.5847	5.6084	-16.1585
4	5.3025	-13.2611	7.7498	15.8537
5	6.0163	-1.5847	8.1577	21.9512
6	7.0360	15.0959	6.5262	-2.4390
7	4.7927	-21.6013	7.5459	12.8049
8	5.0986	-16.5972	7.7498	15.8537
9	6.3222	3.4195	6.8321	2.1341

Tableta	Muestra 2	DER de la media	Muestra 5	DER de la media
10	5.9144	-3.2527	6.7301	0.6098
11	5.9144	-3.2527	6.8321	2.1341
12	5.4045	-11.5930	6.2203	-7.0122
13	5.0986	-16.5972	6.3222	-5.4878
14	5.4045	-11.5930	6.0163	-10.0610
15	8.0558	31.7765	4.6907	-29.8780
16	6.6282	8.4237	6.6282	-0.9146
17	6.3222	3.4195	6.2203	-7.0122
18	6.6282	8.4237	7.5459	12.8049
19	6.9341	13.4279	6.7301	0.6098
20	5.8124	-4.9208	4.7927	-28.3537
Media	6.1132		6.6893	
DER (%)	13.3825		15.6977	

e. Disolución: Se analizaron individualmente seis tabletas, siendo 500ml de ácido clorhídrico 0.1N el medio de disolución y se tomó muestras cada 30 y cada 60 minutos. Los resultados se presentan en las Tablas No. 27 a la 32.

Tabla No. 27, Resultado de la disolución Muestra 1, 3mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos).

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	1.8531	61.77	4.133	137.77
2	1.5151	50.50	5.422	180.72
3	1.8245	60.82	4.707	156.89
4	1.5794	52.65	4.453	148.45
5	2.1388	71.29	4.202	140.08
6	4.0421	134.74	5.107	170.24

Tabla No. 28, Resultado de la disolución Muestra 2, 0.2mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos).

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	0.6867	343.34	0.611	305.45
2	0.3282	164.10	0.269	134.29

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
3	0.3662	183.10	0.237	118.48
4	0.3315	165.75	0.201	100.38
5	0.3040	151.99	0.255	127.65
6	0.3532	176.58	0.266	133.18

Tabla No. 29, Resultado de la disolución Muestra 3, 1mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos).

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	1.1550	115.50	1.167	116.67
2	1.5262	152.62	1.542	154.16
3	1.3539	135.39	1.368	136.76
4	1.6255	162.55	1.642	164.19
5	1.6832	168.32	1.700	170.02
6	1.1628	116.28	1.175	117.45

Tabla No. 30, Resultado de la disolución Muestra 4, 3mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos).

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	4.9779	165.93	3.990	132.99
2	5.2998	176.66	5.255	175.18
3	5.5702	185.67	5.854	195.13
4	4.4205	147.35	5.170	172.33
5	4.7404	158.01	4.518	150.61
6	4.8790	162.63	5.239	174.62

Tabla No. 31, Resultado de la disolución Muestra 5, 1mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos).

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	1.5212	152.12	1.883	188.28
2	1.5411	154.11	1.621	162.07
3	1.7175	171.75	1.933	193.28
4	1.4728	147.28	1.751	175.05
5	1.9969	199.69	1.884	188.41
6	1.6487	164.87	1.821	182.13

Tabla No. 32, Resultado de la disolución Muestra 6, 5mg de melatonina (especificación 85-115% disuelto en 30 y 60 minutos)

Tableta	30 minutos		60 minutos	
	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto	mg de melatonina disueltos	% etiqueta disuelto
1	8.4141	168.28	8.363	167.26
2	7.8030	156.06	9.032	180.63
3	8.7771	175.54	7.678	153.55
4	10.7930	215.86	8.671	173.42
5	8.6943	173.89	8.434	168.67
6	8.3298	166.60	8.601	172.03

1) Condiciones del sistema para la detección de melatonina en ácido clorhídrico 0.1N:

- Solvente de las muestras: ácido clorhídrico 0.1N.
- Fase móvil: acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5 (35:65).
- Flujo 0.5 ml /min.
- Volumen de inyección 20µl (por inyección manual con un loop de 20µl).
- Detector UV/VIS a 228 nm.
- Limite de detección: 2.4728×10^{-3} ng/ml.
- Límite de cuantificación: 6.77×10^{-4} mg/ml.
- Precisión: del área bajo la curva 4.47% y del tiempo de retención 0.12%.
- Tiempo de retención de la melatonina: 2.42 minutos.
- Tiempo por corrida: 5.0 minutos.

El sistema es adecuado para la detección de todas las muestras analizadas (con un rango de concentración de 1mg a 5mg), pero no es adecuado para la cuantificación de la muestra de 0.2mg cuya concentración en el medio de disolución es 4×10^{-4} mg/ml. Además, se puede observar que el sistema no es muy estable en cuanto a la precisión obtenida en área bajo la curva por lo que los resultados no son repetibles a lo largo de varias corridas y no se puede concluir sobre los mismos.

f. Uniformidad de Contenido: se analizaron individualmente 10 tabletas por medio del método de ensayo de HPLC acoplado a UV/VIS. Los resultados se presentan en las Tablas No.33 a Tabla No. 33, Uniformidad de contenido Muestra 1, 3mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%)

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	749.24316	2.217	2.696	89.853	14.998
2	651.06702	2.207	2.337	77.906	0.292
3	558.86816	2.211	2.010	66.984	14.270
4	630.00262	2.206	2.223	74.112	5.147
5	572.86450	2.218	2.058	68.606	12.194
6	658.98035	2.207	2.349	78.289	0.199
7	709.91614	2.225	2.545	84.844	8.587
8	589.17291	2.210	2.139	71.299	8.748
9	736.53448	2.226	2.536	84.542	8.201
10	746.28235	2.223	2.547	84.905	8.666

Media	2.344021805
DE	0.233949436
DER	9.980685147

Tabla No. 34, Uniformidad de contenido Muestra 2, 0.2mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%).

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	111.49220	2.221	0.396	198.205	80.133
2	57.18322	2.212	0.203	101.678	7.592
3	58.50968	2.234	0.203	101.726	7.549
4	56.36626	2.219	0.196	98.181	10.771
5	59.22377	2.228	0.211	105.562	4.063
6	56.10317	2.225	0.201	100.709	8.473
7	56.31843	2.228	0.199	99.318	9.737
8	49.70935	2.229	0.176	88.178	19.862
9	65.18697	2.222	0.227	113.368	3.032
10	54.80723	2.228	0.187	93.398	15.117

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
---------	--------------------	---------------------	--------------------------	------------------	---------------------------------

Media	0.220064487
DE	0.063388502
DER	28.80451218

Tabla No. 35, Uniformidad de contenido Muestra 3, 1mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%).

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	243.13922	2.227	0.914	91.422	8.347
2	199.56949	2.224	0.792	79.157	6.188
3	230.19377	2.225	0.842	84.154	0.266
4	244.01849	2.224	0.909	90.927	7.760
5	209.40469	2.222	0.822	82.210	2.571
6	209.49461	2.220	0.817	81.735	3.133
7	227.61394	2.227	0.850	85.008	0.746
8	216.81657	2.219	0.803	80.258	4.884
9	231.65523	2.230	0.811	81.081	3.908
10	226.18526	2.214	0.878	87.837	4.098

Media	0.843788789
DE	0.043677707
DER	5.176379154

Tabla No. 36, Uniformidad de contenido Muestra 4, 3mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%).

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	635.47467	2.227	2.483	82.774	1.879
2	461.96378	2.210	1.730	57.663	31.646
3	653.40918	2.227	2.336	77.879	7.682
4	642.09924	2.215	2.339	77.973	7.571
5	765.83740	2.233	2.965	98.829	17.151
6	482.64066	2.209	1.990	66.339	21.362
7	646.00580	2.227	2.513	83.775	0.694

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
8	752.36047	2.230	3.584	119.457	41.604
9	866.27161	2.225	3.011	100.371	18.980
10	645.53937	2.217	2.356	78.539	6.900
Media					2.530796222
DE					0.534278776
DER					21.11109428

Tabla No. 37, Uniformidad de contenido Muestra 5, 1mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%).

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	234.35799	2.214	0.850	84.955	13.895
2	210.41701	2.218	0.815	81.540	9.317
3	200.77785	2.213	0.720	72.017	3.450
4	200.29282	2.230	0.711	71.079	4.707
5	234.16989	2.225	0.892	89.209	19.598
6	153.58055	2.224	0.580	57.986	22.261
7	189.63586	2.215	0.709	70.912	4.931
8	215.84937	2.232	0.799	79.925	7.152
9	178.50380	2.212	0.630	62.957	15.596
10	214.20949	2.229	0.753	75.324	0.983
Media					0.745903933
DE					0.096719592
DER					12.96676263

Tabla No. 38, Uniformidad de contenido Muestra 6, 5mg de melatonina/tableta (especificación: 10 tabletas 85-115% con una DER \leq 6%).

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
1	830.11658	2.210	3.182	63.649	17.636
2	874.19818	2.223	3.347	66.943	13.375
3	1066.35303	2.214	3.834	76.681	0.774

Tableta	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración mg/tableta	% de la etiqueta	DER de la media por tableta (%)
4	848.72986	2.219	3.167	63.341	18.035
5	931.94946	2.216	3.558	71.163	7.913
6	950.93451	2.223	3.538	70.765	8.428
7	1110.76831	2.225	4.056	81.123	4.975
8	1233.16956	2.224	4.623	92.469	19.656
9	964.61096	2.221	3.380	67.598	12.526
10	1737.18054	2.231	5.953	119.052	54.056
Media					3.86392634
DE					0.858176577
DER					22.20996213

3. Pruebas químicas.

a. Identificación: Se utilizó el parámetro de tiempo de retención y la absorción a 228nm con el que se realizó el ensayo de HPLC, los resultados se muestran en la Tabla No. 39.

Tabla No. 39, Tiempo de retención y área bajo la curva de los picos de absorción para cada muestra analizada por HPLC.

Muestra	Área bajo la curva	Tiempo de retención
1	605.27625	2.191
2	112.512	2.206
3	226.82812	2.201
4	806.896	2.218
5	245.67976	2.207
6	982.2771	2.216

b. Ensayo, cuantificación de melatonina: Las pruebas químicas se efectuaron por medio de un aparato HPLC acoplado a un detector UV/VIS. Se evaluaron los parámetros para la adecuación del sistema que sirvieron para comprobar la utilidad de este aparato y de las condiciones propuestas para el análisis de las muestras utilizadas.

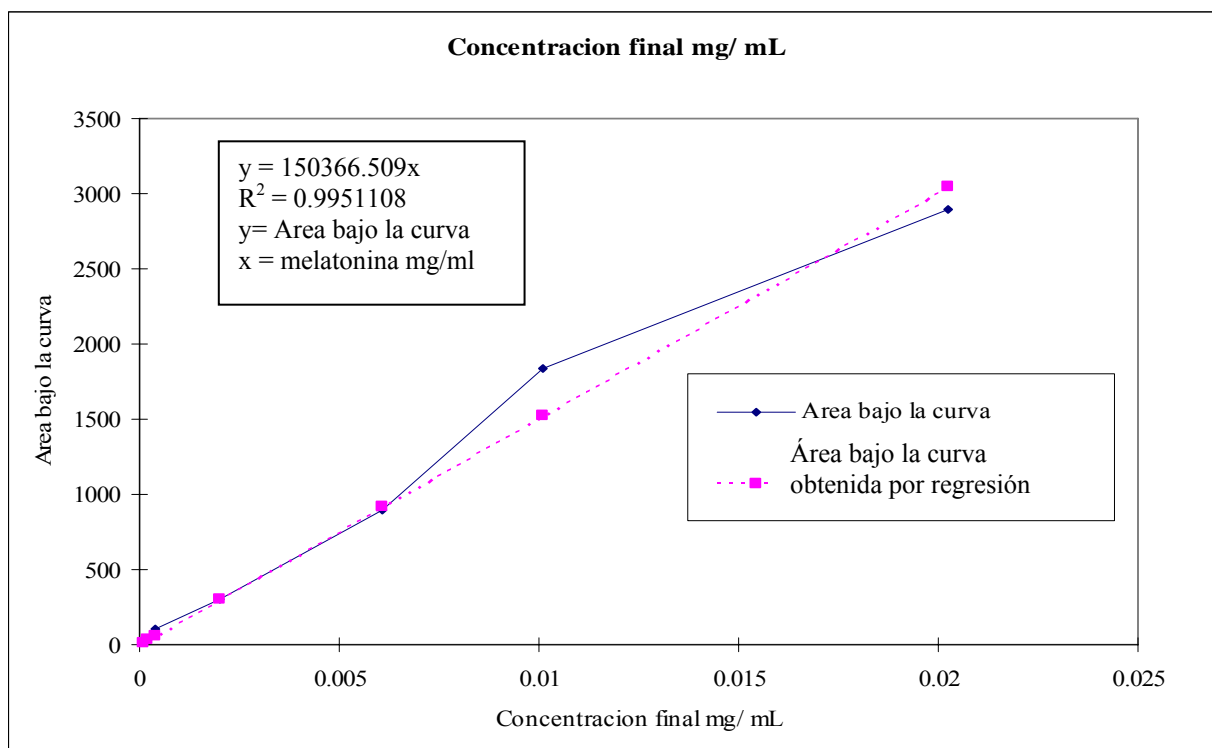
1) Curva de calibración: Se presentan los datos de concentraciones en metanol:agua y el área bajo la curva y tiempo de retención detectados por el sistema HPLC acoplado a detector UV/VIS en la Tabla No. 40.

Tabla No. 40, Concentración de melatonina en mg/ml de las soluciones utilizadas para la curva de calibración HPLC detector UV/VIS.

Equivalente a una tableta de (mg)	Concentración de melatonina final (mg/ ml)	Área bajo la curva	Tiempo de retención
10	0.02024	2891.27140	2.424
7.5	0.01012	1834.52490	2.434
5	0.006072	894.58606	2.428
3	0.002024	307.95990	2.414
1	0.0004048	100.16317	2.427
0.2	0.0002024	40.41140	2.420
0.1	0.0001012	19.85173	2.420
0.05	0.02024	2891.27140	2.424

Todas las muestras poseen analitos con tiempos de retención similares a la melatonina cuya señal analítica es detectable a 228nm con un detector UV/VIS.

Figura 5, Curva de calibración de las soluciones de melatonina en metanol agua (50:50) detectadas por UV/VIS acoplado a HPLC.



2) Validación del método:

Precisión: La precisión se obtuvo con cinco inyecciones consecutivas del estándar de melatonina de una concentración de 6×10^{-3} mg/ml. Los resultados de las inyecciones se presentan

en la Tabla No. 41.

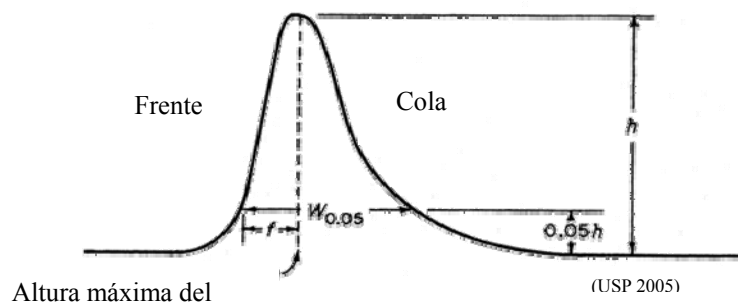
Tabla No. 41, Repetición de la inyección del estándar de melatonina para obtener la precisión del sistema.

Estándar	Área	DE	Tiempo de retención	DER tiempo de retención
1	888.68433	888.6843	2.418	-0.1157
2	879.94983	879.9498	2.424	0.1322
3	867.02588	867.0259	2.424	0.1322
4	853.48541	853.4854	2.419	-0.0744
5	851.87939	851.8794	2.419	-0.0744

Media	868.204968	2.4208
DE	16.1394407	0.002949576
DER (%)	1.858943601	0.121843037

Factor de coleo: El factor de coleo es una medida de la simetría de un pico. La unidad es para los picos perfectamente simétricos y su valor incrementa a medida que el pico posee una mayor cola. En algunos casos los valores menores que la unidad pueden observarse. A medida que incrementa la asimetría de un pico, la integración del mismo y la precisión es menos confiable (USP 2005). Se acepta un factor de coleo menor o igual de 2.0 (Vega *et al* 2005). El factor de coleo se obtiene de la siguiente manera:

Figura 6, Forma de obtener los valores numéricos para el factor de coleo a partir de un cromatograma.



Donde: el factor de coleo = $T = W_{0.05} / 2f$. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla No. 42.

Tabla No. 42, Factor de coleo de cinco inyecciones de una solución de melatonina de concentración 6×10^{-3} mg/ml.

Estándar	Distancia al borde	Ancho a altura 95%	Factor de coleo
1	0.1107	0.0524	0.23668
2	0.1092	0.0432	0.19780
3	0.1092	0.0538	0.24634
4	0.1096	0.0498	0.22719
5	0.1116	0.3940	1.76523

Factor de coleo promedio	0.53464753
--------------------------	------------

Límite de detección y límite de cuantificación: El límite de detección es la concentración o peso mínimo de analito que pueden detectarse para un nivel de confianza dado. Este límite depende de la relación entre la magnitud de la señal analítica y el valor de las fluctuaciones estadísticas de la señal del blanco. La mínima señal analítica distinguible o S_m se toma como la suma de la señal media del blanco S_{bl} más un múltiplo k (generalmente $k=3$) de la desviación estándar del mismo (s_{bl}). Donde: $S_m = S_{bl} + k s_{bl}$. Entonces, S_m puede determinarse realizando 20 o 30 mediciones del blanco a lo largo de un período de tiempo extenso. Luego S_m se utiliza para obtener el límite de detección en la siguiente ecuación: $C_m = (S_m - S_{bl})/m$. El límite de cuantificación o la concentración más pequeña con la que pueden realizarse medidas cuantitativas se toma, en general aquel que es igual a diez veces la desviación estándar del blanco o $10 \times s_{bl}$ (Skoog y Leary 1994).

Para el método desarrollado con metanol agua (50:50) como diluyente y acetonitrilo: solución tamponada de fosfato pH4.5 (65:35), las determinaciones del blanco se presentan en la Tabla No. 43.

Tabla No. 43, Resultados obtenidos de inyectar 27 veces el blanco metanol: agua (50:50) para el sistema de HPLC, para obtener la mínima señal analítica distinguible (S_m).

Blanco No.	Área	Tiempo de retención	Melatonina (mg/ml)
1	11.61718	2.131	1.4172×10^{-5}
2	14.29234	2.165	1.4398×10^{-5}
3	14.76526	2.165	1.4398×10^{-5}
4	11.53042	2.150	1.4298×10^{-5}
5	10.99395	2.140	1.4232×10^{-5}
6	10.23071	2.131	1.4172×10^{-5}
7	11.17031	2.140	1.4232×10^{-5}
8	10.06195	2.150	1.4298×10^{-5}
9	12.01615	2.140	1.4232×10^{-5}

Blanco No.	Área	Tiempo de retención	Melatonina (mg/ml)
10	11.44629	2.150	1.4298X10-5
11	10.46087	2.140	1.4232X10-5
12	8.44589	2.135	1.4199X10-5
13	8.72599	2.135	1.4199X10-5
14	10.75631	2.140	1.4232X10-5
15	11.41377	2.145	1.4265X10-5
16	12.60643	2.150	1.4298X10-5
17	11.75580	2.140	1.4232X10-5
18	9.68227	2.135	1.4199X10-5
19	10.39167	2.145	1.4265X10-5
20	12.85235	2.252	1.4977X10-5
21	9.20629	2.140	1.4232X10-5
22	10.26149	2.145	1.4265X10-5
23	9.28521	2.150	1.4298X10-5
24	11.52025	2.145	1.4265X10-5
25	8.19948	2.160	1.4365X10-5
26	10.65807	2.145	1.4265X10-5
27	15.06124	2.208	1.4684X10-5
Media			1.4304 x 10-5
DE			1.6765 x 10 -7

Y límite de detección y cuantificación de:

mínima señal analítica distinguible	Sm	1.48068X10-5 mg/ml
límite de detección	LOD	3.34476x10-12 mg/ml
límite de cuantificación	LOQ	1.6765X10-6 mg/ml

Por lo que el sistema es aplicable a las muestras con una concentración de 4×10^{-4} a 1×10^{-2} mg / ml.

3) Condiciones del sistema:

- Solvente de las muestras: metanol: agua (50:50).
- Fase móvil: acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5 (35:65).
- Flujo 0.5ml/min.
- Volumen de inyección 20µl (por inyección manual con loop de 20µl).
- Detector UV/VIS a 228nm
- Límite de detección: 3.34476×10^{-6} ng/ml
- Límite de cuantificación: 1.6765 ng/ml
- Precisión: del área bajo la curva 1.8589% y del tiempo de retención 0.121843037%.

- Tiempo de retención de la melatonina: 2.42 minutos
- Tiempo por análisis: 5.0 minutos.

Sabiendo que el sistema de HPLC acoplado a UV/VIS es adecuado para la determinación de las muestras se realizó el ensayo, los resultados se presentan en la Tabla No. 44.

Tabla No. 44, Ensayo, cuantificación de melatonina en las muestras analizadas (especificación: 85 – 115% de lo reportado en la etiqueta).

Muestra	Área bajo la curva	Tiempo de retención	Concentración real	mg melatonina en etiqueta	% de etiqueta
1	605.27625	2.191	1.9084	3	63.61
2	112.512	2.206	0.3734	0.2	186.71
3	226.82812	2.201	0.7533	1	75.33
4	806.896	2.218	2.6589	3	88.63
5	245.67976	2.207	0.7778	1	77.78
6	982.2771	2.216	3.2413	5	64.83

B. Certificado de análisis por muestra

1. Certificado de análisis de la Muestra 1 se presenta en la Tabla No. 45.

Tabla No. 45, Certificado de análisis Muestra 1

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple o no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media 130 -324mg: 2 con DER > 7.5% y 0 con DER > 15%	No aplica	Cumple 303.93mg DER 0.3561%
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 2 minutos
Friabilidad	Perdida ≤ 1%	Perdida ≤ 1%	Cumple 0.0933%
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	Cumple 8.10 kg fuerza DER 6.76%
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER ≤ 6% S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER ≤ 7.8%	No Cumple por % (menor 66.98%) y no cumple por DER (mayor DER 14.998%) ni siquiera en S2
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	No cumple 63.61%

2. Certificado de análisis de la Muestra 2 se presenta en la Tabla No. 46.

Tabla No. 46, Certificado de análisis Muestra 2

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple o no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple , homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media $\geq 324\text{mg}$: 2 con DER > 5% y 0 con DER > 10%	No aplica	Cumple 349.32mg DER 1.0927%
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 1 minuto
Friabilidad	Perdida $\leq 1\%$	Perdida $\leq 1\%$	Cumple 0.5748%
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER $\leq 10\%$	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER $\leq 10\%$	NO Cumple 6.1132 kg fuerza DER 13.38 %
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER $\leq 6\%$ S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER $\leq 7.8\%$	No cumple 1 fuera del rango a 198.22% No aplica a S2
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	No cumple 186.71 %

3. Certificado de análisis de la Muestra 3 se presenta en la Tabla No. 47.

Tabla No. 47, Certificado de análisis Muestra 3

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple o no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple , homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media 130-324mg: 2 con DER > 7.5% y 0 con DER > 15%	No aplica	Cumple 171.63mg DER 1.6572%
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 3 minuto
Friabilidad	Perdida ≤ 1%	Perdida ≤ 1%	Cumple 0.0943 %
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	Cumple 4.52 kg fuerza DER 8.02 %
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER ≤ 6% S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER ≤ 7.8%	No cumple por % (menor % 79.15%) y no cumple por DER (8.34%) no aplica para S2.
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	No cumple 75.33%

4. Certificado de análisis de la Muestra 4 se presenta en la Tabla No. 48.

Tabla No. 48, Certificado de análisis Muestra 4

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple o no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple , homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media 130 -324mg: 2 con DER > 7.5% y 0 con DER > 15%	No aplica	Cumple 174.51mg DER 0.9520 %
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 3 minuto
Friabilidad	Perdida ≤ 1%	Perdida ≤ 1%	Cumple 0.3199 %
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	Cumple 6.65 kg fuerza DER 9.94 %
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER ≤ 6% S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER ≤ 7.8%	No cumple el menor porcentaje es 57.67% y la DER mayor es 31.64% no aplica para S2.
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	Cumple 88.63%

5. Certificado de análisis de la Muestra 5 se presenta en la Tabla No. 49.

Tabla No. 49, Certificado de análisis Muestra 5

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple / no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple , homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media 130 -324mg: 2 con DER > 7.5% y 0 con DER > 15%	No aplica	Cumple 197.69mg DER 1.4858 %
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 9 minuto
Friabilidad	Perdida ≤ 1%	Perdida ≤ 1%	Cumple 0.2041 %
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	NO Cumple 6.6893 kg fuerza pero DER 15.7 %
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER ≤ 6% S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER ≤ 7.8%	No cumple ni por % (mayor 57.98%) ni por DER (mayor 22.26%). No aplica para S2.
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	No Cumple 77.78%

6. Certificado de análisis de la Muestra 6 se presenta en la Tabla No. 50.

Tabla No. 50, Certificado de análisis Muestra 6

Prueba	Especificaciones para suplemento dietético	Especificaciones para producto farmacéutico	Cumple / no cumple
Organolépticas	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Propias de la muestra, se evalúo homogeneidad	Cumple , homogénea
Variación de peso	De 20 tabletas con media 130 -324mg: 2 con DER > 7.5% y 0 con DER > 15%	No aplica	Cumple 202.44mg DER 1.0574%
Desintegración	≤ 30 minutos	≤ 30 minutos	Cumple ≤ 6 minuto
Friabilidad	Perdida ≤ 1%	Perdida ≤ 1%	Cumple 0.1193 %
Dureza	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	4.08 - 10.20 kg fuerza (40-100N) y DER ≤ 10%	Cumple 8.13 kg fuerza DER 7.40 %
Disolución	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	S1 6 tabletas Q=75% + 5%	<i>No se puede concluir</i>
Uniformidad de contenido	No aplica (ver variación de peso)	S1 de 10 tabletas 85-115% DER ≤ 6% S2 20 tabletas adicionales 1 fuera de 85-115%, ninguna fuera de 75-125% y la DER ≤ 7.8%	No cumple el menor porcentaje es 63.34% y la DER mayor es 54.05% no aplica para S2.
Identificación	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Tiempo de retención y absorción a 228nm	Cumple
Cuantificación de melatonina	85-115% de la dosis	85-115% de la dosis	No cumple 64.82%

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se analizó toda la población de suplementos dietéticos a base de melatonina cuya forma farmacéutica es tableta con o sin recubrimiento y de liberación simple que se encontró en el mercado nacional. Los suplementos dietéticos analizados provenían de cuatro laboratorios farmacéuticos distintos y tres países de origen por lo que se puede decir que los resultados obtenidos de los análisis son independientes del origen, del fabricante y de la materia prima.

Todas las tabletas de cada muestra correspondían al mismo lote. Esto para evitar la variación de lote a lote. Por lo que los resultados esperados son aplicables al lote analizado de cada muestra.

De las muestras adquiridas se compararon los empaques primarios y secundarios y se observó que solamente una marca (Muestras 5 y 6) tenía empaque primario y secundario. Las demás muestras presentaban únicamente empaque primario lo cual las hace más sensibles a los cambios de condiciones ambientales y a alterarse por mal manejo durante su transporte. Sin embargo, la Muestra 5 presentó resultados de dureza que no cumplen con las especificaciones de calidad requeridos por la farmacopea británica, por lo que no se observó la relación esperada entre el empaque y los resultados obtenidos.

Al analizar cada una de las muestras en sus características organolépticas, se observó que mantienen uniformes sus características dentro de las tabletas adquiridas para los análisis. Las características analizadas fueron color, olor, forma y tamaño por considerarse las pruebas organolépticas más representativas de la forma farmacéutica.

En los resultados de la prueba de friabilidad se observó que la falta de empaque secundario no afectó a las muestra para que cumpliera con los requisitos de calidad. Todas las muestras analizadas cumplían con los requerimientos de calidad para la friabilidad por lo que se concluyó que mantienen su integridad en condiciones normales de manejo.

Al efectuar la prueba de desintegración, en agua destilada, se observó que todas las muestras se desintegran a un tiempo menor de 10 minutos. Esto evidencia que la forma farmacéutica no impide que el principio activo pueda absorberse en el tracto gastrointestinal en menos de 10 minutos. Esto garantiza que la melatonina dentro de la forma farmacéutica podría disolverse en menos tiempo del que le toma a la forma farmacéutica recorrer el tracto gastrointestinal.

En las pruebas físicas, organolépticas, dureza, desintegración, friabilidad y variación de peso las Muestras 1, 3, 4 y 6 cumplen con las características de calidad requeridas tanto para suplementos dietéticos como para productos farmacéuticos. Se puede decir que durante el procesamiento del lote las condiciones de manufactura se mantuvieron estables.

Por medio de la evaluación de las especificaciones de calidad de los suplementos dietéticos a base de melatonina, se observó que de las seis muestras analizadas dos no cumplen con la característica física de dureza. Esta falta de cumplimiento en una característica física denota una

falta de estandarización del método de producción. De estos dos suplementos, uno está registrado como producto farmacéutico y el otro como producto farmacéutico dietético que en la legislación guatemalteca es un término que denota un suplemento dietético. La diferencia de registro le da un rango más amplio a la Muestra 2 para no cumplir con las especificaciones propuestas para producto farmacéutico pero, no permite que la Muestra 5 presente ese tipo de variaciones.

Las pruebas químicas representan un reto mayor al presente proyecto. Esto debido a que el método de cuantificación de la melatonina no es un método oficial y está aún en desarrollo. El método utilizado es el que presentó Vega *et al.* en la FDA proporcionado por el Dr. Joseph Bloom de la Universidad de Puerto Rico. Para determinar si el sistema era o no adecuado para las muestras a analizar se realizaron diferentes pruebas de adecuación del sistema. Estas pruebas incluyeron precisión, factor de coe, linealidad de la curva de calibración, límite de detección y límite de cuantificación. El sistema cumple con todas las pruebas de adecuación del sistema, presentando un límite de detección aproximadamente doscientas veces mayor a la solución de menor concentración, Muestra 2, cuya concentración es de 4×10^{-4} mg/ml. Por estas razones se consideró adecuado el sistema para la detección de melatonina en las muestras analizadas.

En el caso de los suplementos dietéticos, la valoración del principio activo dentro de la forma farmacéutica sólida puede realizarse por un análisis de variación de peso si el porcentaje de tableta que el principio activo abarque es mayor al 25% y que se pruebe que el método de fabricación es estandarizado y no presenta variaciones. En el caso de las muestras analizadas de suplementos dietéticos a base de melatonina, ninguna tableta cumplía con los requisitos para ser analizada por variación de peso. Sin embargo, se realizó esta prueba para determinar el grado de uniformidad de peso que presentaban las tabletas. Esta prueba fue satisfactoria para todas las muestras por lo que se concluye que si las muestras no cumplen con el ensayo o con la uniformidad de contenido no es porque las muestras presenten una variación de peso inadecuada.

Se analizaron las muestras de suplementos dietéticos y se observó que de las seis muestras únicamente una cumple con el ensayo de cuantificación de principio activo, melatonina, el cual se realiza sobre un homogeneizado de varias tabletas para eliminar variaciones individuales.

Al analizar las tabletas por uniformidad de contenido se observó que ninguna muestra cumple con los requerimientos solicitados por la USP. Cinco de las seis muestras presentan una concentración promedio menor al 85% de la etiqueta y una muestra presenta valores mayores al 115% aceptable. Pero, al analizar los resultados puede verse que los valores que se obtuvieron con las distintas tabletas dentro de una muestra son variados. En cuatro muestras la desviación estándar relativa es mayor al 10% y en todas es mayor al 6%. Al analizar la desviación estándar por tableta se observan desviaciones mayores del 40% de la media en tres muestras y ninguna posee desviaciones estándares relativas por tableta menores al 7.8% permitido en etapa dos. Por lo que se puede concluir que aunque el método de detección no está aprobado tiene la utilidad de reflejar variaciones en la cuantificación del principio activo.

En el análisis de uniformidad de contenido, las seis muestras poseen alguna tableta dentro del 85-115% de lo reportado en la etiqueta. La Muestra 3 posee todas sus tabletas dentro del rango de aceptabilidad en segunda etapa, donde 30 tabletas deben de tener un contenido de 75-125%. En las primeras cuatro muestras la mayoría de tabletas están dentro del rango de aceptabilidad de segunda etapa en cuanto a porcentaje de la etiqueta, pero las Muestras 5 y 6 poseen menos de la mitad de tabletas que están dentro de este rango. De las primeras cuatro muestras, solo la Muestra 2 posee la mayoría de tabletas dentro del rango de aceptación de primera etapa y la Muestra 3 posee exactamente la mitad dentro del rango de aceptación de primera etapa y de segunda etapa. También puede observarse que únicamente la Muestra 3 posee todas sus tabletas dentro de rango de aceptación ya sea en primera o en segunda etapa pero dos de estas tabletas no cumplen con el porcentaje de desviación estándar relativa especificado en la farmacopea.

Al observar los resultados de uniformidad de contenido y de ensayo de cuantificación del principio activo estos son concordantes en el sentido de que las muestras que presentan valores menores en la cuantificación del principio activo, sus medias en el ensayo de uniformidad de contenido son menores a lo aceptado según las especificaciones de calidad. La Muestra 2, presenta una cuantificación del principio activo y una media de uniformidad de contenido mayor al 100% de lo reportado en la etiqueta, mientras que las otras cinco muestras presentan concentraciones menores al 90% y similares a las obtenidas en la uniformidad de contenido.

Además del ensayo de cuantificación del principio activo y la uniformidad de contenido, la prueba de disolución representó un reto al estudio. Debido a que la melatonina no se incluye en ninguna farmacopea oficial, los estudios de disolución empleados son propios de cada fabricante. Sin embargo, el análisis debería de cumplirse para cualquier metodología utilizada siempre y cuando ésta cumpla con las características propias de este tipo de análisis. Para realizarlo se tuvo en consideración el tipo de liberación que presentaban las muestras analizadas, liberación inmediata. Este tipo de liberación permitía un estudio en agua y ácido clorhídrico 0.1N y tiempos de toma de muestra de media hora y una hora. En ambas soluciones es soluble la melatonina, en ambas soluciones a una concentración mayor de la que se uso en el análisis de disolución por lo que se pueden excluir los problemas relativos a saturación del sistema. Se optó utilizar un método con medio de disolución de ácido clorhídrico.

Se adecuó el sistema para inyectar directamente la solución de ácido clorhídrico 0.1N y melatonina de la disolución. Se excluye la interferencia de la mayoría de los excipientes debido a que estos son filtrados por la columna de cromatografía líquida de alta resolución por la que pasa el sistema antes de ser analizado por el detector UV/VIS.

No se puede concluir sobre las pruebas de disolución. El estudio de disolución pareciera no ser el adecuado para el análisis de las muestras debido a varios factores. El principio activo está presente en el medio de disolución a una concentración más baja en la Muestra 2 que la detectable por el sistema. Además se puede observar que la detección de las muestras no es repetible dentro

del mismo sistema presentando una DER de 4.47% por lo que los resultados obtenidos no son estables durante el tiempo de la corrida. El sistema utilizado de HPLC acoplado a UV/VIS si es adecuado para detectar la melatonina en el medio de disolución de ácido clorhídrico 0.1N, sin embargo, no es el adecuado para realizar cuantificaciones analíticas del principio activo. Esto puede observarse en las tablas de resultados debido a que no se obtuvieron resultados consistentes con la información proporcionada por el ensayo de cuantificación del principio activo y la prueba de uniformidad de contenido.

Al hacer una comparación entre los sistemas utilizados para la detección de melatonina por HPLC UV/VIS los parámetros de adecuación del sistema varían al cambiar el solvente. Al utilizar el solvente de metanol: agua (50:50) se obtiene un sistema de cuantificación con un límite de cuantificación 200 veces más bajo que la concentración menor de melatonina por lo que puede utilizarse para la cuantificación de las muestras. Al realizar la curva de calibración se obtiene una linealidad (coeficiente de correlación 99.25%) esto indica que el área es un parámetro que puede relacionarse a la concentración de la solución analizada en mg/ml de una forma lineal y estadísticamente significativa. Al observar la precisión obtenida durante la corrida, la cual fue menor al 2%, esto indica que las variaciones de la detección de área son consistentes durante el tiempo de corrida. Si se observan los mismos parámetros para el solvente de ácido clorhídrico 0.1N se puede observar que el límite de cuantificación es aproximadamente dos veces más alto que la concentración obtenida con la Muestra 2, y 40% de la concentración de la Muestras 3 y 5 por lo que para cantidades menores de esto el sistema es adecuado para la detección pero no para la cuantificación. En la curva de calibración con solvente de ácido clorhídrico (coeficiente de correlación del 96%) es menor que para la del solvente (metanol: agua) con residuales de hasta el 100% en las concentraciones más bajas de solución, equivalentes a la concentración de Muestra 2. Sin embargo, el parámetro más significativo para determinar que el sistema no es adecuado es la precisión, se observa que en las inyecciones sucesivas se obtuvo una variación de 5% lo que indica que el sistema no es lo suficientemente estable dentro de la misma corrida, para obtener valores significativos.

Al obtener los resultados de los análisis se puede observar una deficiencia en el cumplimiento de las especificaciones que se relacionan con la cuantificación del principio activo. Puede ser que esta variación, se presente únicamente en los lotes analizados. Sin embargo, debido a que sus orígenes, métodos de manufactura y empaques son distintos puede decirse que el azar anula la posibilidad de que únicamente el lote analizado de cada una de las seis muestras no cumpla con las especificaciones de calidad. Puede ser que esta variación sea el resultado de que la normativa no exige controles más estrictos sobre la cuantificación del principio activo en suplementos dietéticos.

VII. CONCLUSIONES

- A. Ninguna muestra analizada de suplemento dietético a base de melatonina distribuido en Guatemala cumple con todas las especificaciones de calidad evaluadas.
- B. La metodología analítica utilizada para la evaluación de suplementos dietéticos incluye los siguientes análisis:
1. Organolépticos
 2. Físicos: variación de peso, desintegración, friabilidad, dureza, disolución y uniformidad de contenido.
 3. Químicos: identificación y cuantificación del principio activo.
- C. El 60% de los productos analizados están registrados como medicamentos.
- D. Todas las muestras cumplen con las especificaciones de calidad para las características organolépticas y físicas de friabilidad, desintegración y variación de peso.
- E. Las Muestras 2 y 5 no cumplen con las especificaciones de dureza.
- F. El método de inyección directa de HPLC acoplado detector UV/VIS no es adecuado para la detección del principio activo en las condiciones de disolución.
- G. El método propuesto por Vega *et al.* resultó adecuado de acuerdo a los parámetros del sistema para la cuantificación de melatonina en las seis muestras analizadas.
- H. Únicamente la Muestra 4 cumple con las especificaciones del ensayo de cuantificación del principio activo, melatonina.
- I. Ninguna muestra cumple con las especificaciones de uniformidad de contenido en etapa 1 y solamente una muestra podría cumplir con las especificaciones en la etapa 2.
- J. Para los lotes analizados ninguna muestra cumple con las especificaciones de calidad.

VIII. RECOMENDACIONES

- A. Hacer estudios de estabilidad de la molécula de melatonina para asegurarse su integridad al someterla a las condiciones de disolución.
- B. Adecuar los parámetros del sistema varias veces más, debido a que el método de cuantificación de la melatonina no es un método oficial se debe para asegurar que efectivamente se obtiene la concentración presente en las muestras.
- C. Al momento de hacer la fase móvil de acetonitrilo: solución tamponada de fosfatos pH 4.5 (35:65) se observó que filtrar independientemente ambas soluciones, el acetonitrilo con filtro orgánico y el solución tamponada de fosfatos con filtro acuoso y mezclarlo un día antes de utilizarlo ayuda a estabilizarlo y a que tenga menos burbujas.
- D. El método de disolución utilizado se encontró que no es el adecuado y no se han analizado otras condiciones para hacerlo. Realizar estudios de disolución para determinar las condiciones adecuadas de medio, tiempo de disolución y concentración es más adecuado el estudio y que permitan una cuantificación más exacta del principio activo.
- E. Para sustentar los análisis se recomienda que otro laboratorio realice los mismos estudios para ver si los resultados son consistentes.
- F. Se observó que los resultados de área bajo la curva tienden a variar de un día a otro por lo que para cada día de análisis colocar una curva de calibración.

IX. ANEXO

A. Siglas

1. ASCH	American Council on Science and Health
2. BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
3. csp	cantidad suficiente para
4. DER	Desviación Estándar Relativa
5. DGRVCS	Dirección general de regulación, vigilancia y control de la salud
6. DSHEA	Dietary Supplement Health and Information Act
7. FDA	Food and Drug Administration (Estados Unidos)
8. ff	Forma farmacéutica
9. HP	Hewlett Packard
10. LNS	Laboratorio Nacional de Salud (Guatemala)
11. ODS	Office of Dietary Supplements
12. rpm	Revoluciones por minuto
13. USP	United States Pharmacopoeia
14. UVG	Universidad del Valle de Guatemala

B. Abreviaturas de unidades

1. MB	Megabyte	1 x 10 ⁶ byte
2. GB	Gigabyte	1 x 10 ⁹ byte
3. g	gramo	
4. mg	miligramo	1 x 10 ⁻³ gramos
5. µg	microgramo	1 x 10 ⁻⁶ gramos
6. ng	nanogramo	1 x 10 ⁻⁹ gramos
7. pg	picogramo	1 x 10 ⁻¹² gramos
8. MHz	MegaHertz	1 x 10 ⁶ Hertz
9. l	litro	
10. ml	mililitro	1 x 10 ⁻³ litros
11. cm	centimetro	1 x 10 ⁻² metro

12. mm	milimetro	1×10^{-3} metro
13. μm	micrometro	1×10^{-6} metro
14. nm	nanometro	1×10^{-9} metro
15. N	Newton	

X. BIBLIOGRAFÍA

- Bellipanni G, *et al.*. 2001. *Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal women: a randomized and placebo controlled study*. Feb, Exp Gerontol.;36(2):297-310.
- Blumberg *et al.*. 2001. *Melatonin: Dietary Supplements*. [en línea] Cott, J. *et al.* USA. 2001/2005 <<http://www.supplementinfo.org/>> [Consulta: junio 2005].
- Buscemi N, *et al.*. 2004. *Melatonin treatment of sleep disorders*. . [en línea]Vandermeer, B. *et al.* USA. 2004. Office of Dietary supplements: Evidence Report/Technology Assessment: Number 108. <<http://www.ahrq.gov/clinic/epcsums/melatsum.htm>> [Consulta: junio 2005].
- British Pharmacopoeia. 2004 *Adendum*. [en línea] Inglaterra 2004/2005 <<http://www.pharmacopoeia.org.uk/>> [Consulta: junio 2005].
- Chapman and Hall. 1885. Melatonin and the mammalian pineal gland. London.
- Consuegra, K., D de Enríquez, E. Recinos de Posadas. 2003. *Manual para registros sanitarios de productos Farmacéuticos*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guatemala. 26 Págs.
- Coopermann T *et al.*. 2005. *Melatonin*. . [en línea] Obermeyer, W. *et al.* USA. 2005. Enlace electrónico: < www.consumerlab.com> [Consulta: junio 2005].
- Danforth DN Jr, *et al.*. 1985 . *Plasma Melatonin and the Hormone-dependency of Human Breast Cancer*. J Clin Oncol;3(7):941-48.
- Dietary Supplement Health and Education Act. 1994. Public Law. E.E.U.U. 417 pags.
- Dirección general de regulación, vigilancia y control de la salud (DGRVCS) 2003. *Norma sanitaria para registro de productos denominados como alimentos con propósitos médicos especiales, suplementos dietéticos y productos de origen animal y vegetal No 004-2003*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guatemala.
- Food & Drug Administration (FDA). 2004 [en línea] USA. 2004.<<http://www.fda.gov/>> [Consulta: junio 2005]
- Gordon N. 2000. *The therapeutics of melatonin: a pediatric perspective*. Brain Dev; 22(4):213-7.
- Haimov I, *et al.*. 1994. *Sleep Disorders and Melatonin Rhythms in Elderly People*.. BMJ.;309(6948):167.
- Kolata G. 2003. *Vitamins: More May be too Many*, (Entrevista con el Dr. Caballeros director del Center for Human Nutrition del John Hopkin`s Institute). [en línea] USA. 2005CHN Faculty in the News The New York Times Company. <<http://www.jhsph.edu/CHN/Resources/vitaminwarning.html>> [Consulta: junio 2005]
- Kunz D, *et al.*. 2004. *Melatonin in patients with reduced REM sleep duration: two randomized*

- controlled trials*. J Clin Endocrinol Metab.;89(1):128-34
- Kurtzweil P. 1999. *An FDA Guide to Dietary Supplements U. S. Food and Drug Administration FDA Consumer*. [en línea] USA. 1999/2005 <<http://www.nal.usda.gov/fnic/etext/000015.html>> [Consulta: junio 2005]
- Leone RM y RE Silman. 1984. *Melatonin can be differentially metabolized in the rat to produce N-acetylserotonin in addition to 6-hydroxymelatonin*. Endocrinology; 114(5):1825-32.
- Lester M y D.V.M. Crawford,, 2002. *Deputy Commissioner Dietary Supplement Strategic Plan Cost Out (Report To The Congress)* [en línea] USA.2002/2005 <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-stra2.html>> [Consulta: junio 2005]
- Lissoni P, *et al.* 1994. *Efficacy of the Concomitant Administration of the Pineal Hormone Melatonin in Cancer Immunotherapy with Low-dose IL-2 in Patients with Advanced Solid Tumors who had Progressed on IL-2 Alone*. Oncology.;51(4):344-47
- The Merck Index, 1983.10th ed. Rahway, New Jersey: Merck and Co.,.
- Molis T.M., *et al.* 1995. *Melatonin Modulation of Estrogen-regulated Proteins, Growth Factors, and Proto-oncogenes in Human Breast Cancer*. J Pineal Res.18(2):93-103
- Nalley, A. 2002 *Molecule of the week. Melatonin*. [en línea]USA. 2002/2005 En el Website de American Chemical Society. <<http://www.chemistry.org/portal/a/c/s/1/acdisplay.html?id=6e7b0968167411d7e1fa6ed9fe800100>> [Consulta: junio 2005].
- Office of Dietary Supplements (ODS) 2005., [en línea] Nacional Institute of Health. USA. 2005 <<http://ods.od.nih.gov/>> [Consulta: junio 2005]
- Oxenkrug G, P. Requentina y S. Bachurin. 2001. *Antioxidant and antiaging activity of N-acetylserotonin and melatonin in the in vivo models*. Ann N Y Acad Sci.;939:190-9.
- Rosenberg SI, *et al.* 1998. *Effect of Melatonin on Tinnitus*. Laryngoscope.108(3):305-10.
- Rovner, S. 2004. *Depression*. [en línea] USA 2004/2005. Chemical And Engineering News 82(06):33-40 <<http://pubs.acs.org/cen/coverstory/8206/8206depression.html>>[Consulta: junio 2005]
- United States Pharmacopea (USP). 2005. *General Chapters*. USA.2005 <www.uspnf.com>[Consulta: junio 2005]
- Vega J., J. Moreno , J. Bloom, 2005. *FDA Melatonin Analysis in Dietary Supplements by HPLC using UV-VIS detector*. [en línea] USA. 2005. FDA Abstract Research Category I Analytical Chemistry: Methods Development and Applications. <www.accessdata.fda.gov>[Consulta: junio 2005]
- Vijayalaxmi, T. , R. Reiter y T. Herman 2002. *Melatonin: from basic research to cancer treatment*

clinics. J Clin Oncol; 20(10):2575-601.

Young I.M *et al* 1985. *Melatonin is metabolized to N-acetyl serotonin and 6-hydroxymelatonin in man*. J Clin Endocrinol Metab 60(1):114-19.