

24134



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
"ZARAGOZA"

ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CAPSULAS  
DE ESTOLATO DE ERITROMICINA EN  
PRODUCTOS DEL MERCADO NACIONAL.

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

P R E S E N T A N :

ILDEFONSA MARIA DEL ROCIO  
PEREZ IZQUIERDO

LEONOR ESTHER VIDALS VAZQUEZ

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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

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

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

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

## C O N T E N I D O

1. INTRODUCCION
2. FUNDAMENTACION DEL TEMA
  - 2.1 Generalidades del estolato de eritromicina
  - 2.2 Propiedades farmacológicas
  - 2.3 Disolución
  - 2.4 Aspectos farmacocinéticas
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
4. OBJETIVOS
5. HIPOTESIS
6. PARTE EXPERIMENTAL
  - 6.1 Pruebas de control de calidad
  - 6.2 estudio "in vitro": Disolución de los productos de estolato de eritromicina
    - 6.2.1 Material y equipo
    - 6.2.2 Reactivos
    - 6.2.3 Método espectrofotométrico para estolato de eritromicina
    - 6.2.4 Evaluación estadística de la técnica espectrofotométrica
    - 6.2.5 Perfil de disolución de los productos

6.3 Estudio "in vivo"

6.3.1 Determinación de eritromicina en plasma

6.3.2 Material y equipo

6.3.3 Reactivos

6.3.4 Método microbiológico de difusión en agar  
utilizando sensidiscos

6.3.5 Evaluación estadística del método micro-  
biológico

6.3.6 Estudios de bioequivalencia

7. RESULTADOS

7.1 Pruebas de control de calidad

7.2 Evaluación estadística de la técnica espectro-  
fotométrica

7.3 Perfil de disolución de los productos estudiados

7.4 Evaluación estadística de la técnica micro-  
biológica

7.5 Estudios de bioequivalencia

8. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

9. CONCLUSIONES

10. APENDICES

11. BIBLIOGRAFIA

## LISTA DE TABLAS

- I. Sensibilidad "in vitro" de algunas especies bacterianas susceptibles a la eritromicina.
- II. Productos farmacéuticos de estolato de eritromicina estudiados (cápsulas de 250 mg)
- III. Diseño de bloques incompletos balanceado para el primer estudio de bioequivalencia de las cápsulas de estolato de eritromicina.
- IV. Diseño de bloques incompletos balanceado para el segundo estudio de bioequivalencia de las cápsulas de estolato de eritromicina.
- V. Resultados de las pruebas de control de calidad de las cápsulas de estolato de eritromicina.
- VI. Datos obtenidos de cinco curvas de calibración de eritromicina, en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, realizadas el mismo día.
- VII. Datos obtenidos de cinco curvas de calibración de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, realizadas en diferentes días.

- VIII. Porcentaje disuelto promedio ( $\pm$  D.E.) de las cápsulas de estolato de eritromicina de diferentes proveedores.
- IX. Porcentaje remanente de eritromicina por disolverse de cada producto.
- X. Datos obtenidos de dos curvas de dosis-respuesta de eritromicina en plasma, realizadas el mismo día.
- XI. Datos obtenidos de cinco curvas de dosis-respuesta de eritromicina en plasma, realizadas en diferentes días.
- XII. Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Primer estudio.
- XIII. Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Segundo estudio.
- XIV. Concentración plasmática máxima, tiempo máximo y área bajo la curva, después de la administración de las cápsulas de estolato de eritromicina. Primer estudio.

- XV. Concentración plasmática máxima, tiempo máximo y área bajo la curva, después de la administración de las cápsulas de estolato de eritromicina. Segundo estudio.
- XVI. Análisis de varianza para el porcentaje disuelto de eritromicina a los 60 minutos.
- XVII. Análisis de varianza para eficiencia de disolución (DE<sub>120</sub>).
- XVIII. Valores promedio de las constantes de velocidad de disolución, coeficiente de correlación y vida media de los productos (n= 11).
- XIX. Análisis de varianza para las constantes de disolución.
- XX. Análisis de varianza para los datos de concentración plasmática máxima (mcg/ml).
- XXI. Análisis de varianza para los datos de tiempo máximo ( horas ).
- XXII. Análisis de varianza para los datos de área bajo la curva (mcg/ml x h).

- XXIII. Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de ABC de 0 a 8 horas. Primer estudio de bioequivalencia.
- XXIV. Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de ABC de 0 a 8 horas. Segundo estudio de bioequivalencia.
- XXV. Parámetros farmacocinéticos medios ajustados por efecto de sujeto y día de estudio.
- XXVI. Biodisponibilidad relativa para los productos del primer estudio de bioequivalencia.
- XXVII. Biodisponibilidad relativa para los productos del segundo estudio de bioequivalencia.
- XXVIII. Datos de tiempo de residencia medio para los productos estudiados. Primer y segundo estudio.
- XXIX. Análisis de varianza para tiempo de residencia medio. Primer estudio.
- XXX. Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de tiempo de residencia medio. Primer estudio.



XXXI. Análisis de varianza para tiempo de residencia medio.  
Segundo estudio.

XXXII. Análisis de varianza para determinar diferencias de los  
productos. Datos de tiempo de residencia medio. Segun  
do estudio.

XXXIII. Análisis de regresión lineal para encontrar la correla-  
ción "in vitro"- "in vivo". Primer estudio.

XXXIV. Análisis de regresión lineal para encontrar la correla-  
ción "in vitro"- "in vivo". Segundo estudio.

## LISTA DE FIGURAS

1. Procesos que ocurren cuando una tableta o cápsula es expuesta a fluidos en condiciones "in vivo" o "in vitro".
2. Curva patrón de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos al 0.5% y pH 7.0.
3. Perfil de disolución de las cápsulas de estolato de eritromicina.
4. Cinética de disolución de los productos comerciales de estolato de eritromicina.
5. Curva patrón de eritromicina en plasma. Método microbiológico de difusión en agar utilizando sensibilizadores.
6. Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Primer estudio.
7. Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Segundo estudio.

## LISTA DE APENDICES

1. Evaluación Estadística de las Técnicas Analíticas.
2. Concentración plasmática de eritromicina en los voluntarios después de la administración oral de los productos.
3.  $K_a$ ,  $K_d$ ,  $t_{1/2}$  y  $t_{lag}$  para sujeto y formulación estudiada.
4. Análisis de varianza para el diseño de bloques incompletos balanceado.
5. Carta de aceptación para participar en los estudios de bioequivalencia.

## INTRODUCCION

Hasta hace algunos años se pensaba que si un fármaco se encontraba en la cantidad correcta y en forma pura, la preparación resultante tenía que ser terapéuticamente efectiva. Sin embargo en la actualidad se ha demostrado que el efecto biológico producido por el fármaco contenido en una determinada forma farmacéutica, no es una simple función de la actividad farmacológica intrínseca del principio activo, ya que el inicio, la intensidad y la duración del efecto farmacológico, están sujetos a grandes variaciones y dependen de muchos factores inherentes tanto al sistema biológico como a los elementos que componen la forma farmacéutica (1).

La biodisponibilidad de un medicamento es un concepto relativamente nuevo de la calidad de éste. Todas las definiciones coinciden en que el concepto de biodisponibilidad abarca dos componentes: la cantidad de fármaco absorbido y la velocidad de absorción.

La biodisponibilidad se define como una medida de la cantidad relativa del fármaco que llega a la circulación general y la velocidad a la cual éste ocurre (2). Por lo consiguiente, un estudio de bioequivalencia implica la comparación de dos o más productos basados en la velocidad y magnitud de la absorción, es decir se compara su biodisponibilidad.

Las características de liberación del fármaco a partir de su forma farmacéutica, pueden influir notoriamente en la rapidez y magnitud de la absorción. El proceso de disolución tiene enorme importancia en la absorción de los fármacos dado que la velocidad de disolución puede ser un paso determinante para que este fenómeno ocurra. De ahí que las pruebas de velocidad de disolución sean pruebas "in vitro" que puedan correlacionarse con pruebas "in vivo", para establecer un patrón de bioequivalencia "in vitro" para los medicamentos (3).

## 2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

### 2.1 Generalidades del Estolato de Eritromicina

La eritromicina fue descubierta en 1952 por McGuirre y colaboradores en los productos metabólicos de una cepa de Streptomyces erythreus, obtenida en el Archipiélago Filipino. La eritromicina es un antibiótico del grupo de los macrólidos llamado así por poseer un anillo macrocíclico de lactona (macrólido) unido a dos fracciones de azúcar, uno de los cuales es por lo menos un -- aminoazúcar (4).

La eritromicina base es poco soluble en agua, tiene un sabor amargo persistente y se inactiva rápidamente en medio ácido fuerte como el del estómago, por tal motivo su administración oral es inapropiada. Una mejor absorción y subsecuentes niveles de eritromicina en -- sangre, se logran si se siguen cualquiera de los dos métodos siguientes:

- a) Proteger a la eritromicina base con una cubierta en térica para evitar la degradación ácida en su paso por el tracto gastrointestinal superior.
- b) Modificar la estructura química de la molécula para disminuir la pérdida de su actividad en medio ácido, ésto se puede llevar a cabo preparando una sal (estearato de eritromicina) o una sal del éster (lauril sulfato del éster propiónico de eritromicina, mejor

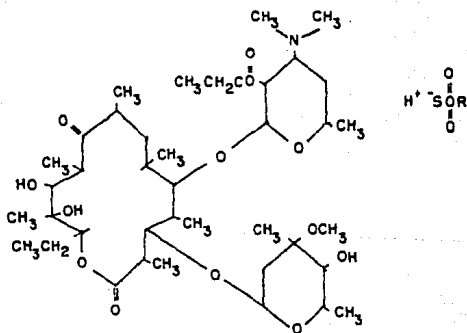
conocido como estolato de eritromicina). Otras moléculas del antibiótico son: glucoheptonato de eritromicina, lactobionato de eritromicina y propionato de eritromicina.

Los sinónimos del estolato de eritromicina son: lauril sulfato propionato de eritromicina, dodecil sulfato propionato de eritromicina y sal del lauril sulfato del éster propiónico de eritromicina (5).

Fórmula condensada:  $C_{52}H_{97}NO_{18}S$

Peso molecular: 1056.43

Fórmula desarrollada:



R- en la fórmula desarrollada representa el "lauril", el cual es predominante un hidrocarburo alifático C<sub>12</sub>.

Descripción: es un compuesto cristalino blanco, prácticamente inodoro, de sabor amargo.

Punto de fusión: los cristales funden a 135-140°C

Solubilidad: solubilidad en agua 0.024 mg/ml, soluble en alcohol, acetona.

## 2.2 Propiedades Farmacológicas

La eritromicina puede tener actividad bactericida o bacteriostática dependiendo de su concentración y del microorganismo sobre el que actúe. Su actividad se favorece cuando el pH del medio es de 5.5 a 8.5. Su espectro de actividad incluye cocos y bacilos gram positivos teniendo moderada actividad "in vitro" sobre algunos gram negativos.

En la Tabla 1, aparece la sensibilidad "in vitro" de algunas especies bacterianas susceptibles a la eritromicina (6).



TABLA I

Sensibilidad "in vitro" de algunas especies bacterianas susceptibles a la eritromicina.

Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria (mcg/ml)	
	Media	Rango
<u>Streptococcus pneumoniae</u>	0.030	0.003-0.40
<u>Corynebacterium diphtheriae</u>	1.600	0.003-3.12
<u>Streptococcus pyogenes</u>	0.040	0.007-0.62
<u>Staphylococcus aureus</u>	0.400	0.005-7.00
<u>Clostridium tetani</u>	0.600	0.200-0.70
<u>Haemophilus influenzae</u>	3.120	0.100-5.25
<u>Bordetella pertussis</u>	0.290	0.020-1.56
<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	1.000	0.004-6.25
<u>Neisseria meningitidis</u>	3.120	0.200-6.25

### 2.2.1 Mecanismo de Acción

La eritromicina igual que otros antibióticos macrólidos inhibe la síntesis de proteínas uniéndose a la subunidad ribosomal 50 S de los microorganismos sensibles.

La asociación entre la eritromicina y el ribosoma es reversible y sólo se produce cuando la subunidad 50 S, está libre de moléculas de ARN de transferencia, portadores de cadenas péptidicas recién formadas (7).

### 2.2.2 Usos Terapéuticos

Numerosos estudios sobre la aplicación clínica de la eritromicina han demostrado su utilidad en diversas infecciones ocasionadas por bacterias gram positivas y solamente algunas gram negativas, por lo que se puede utilizar en el tratamiento de las siguientes enfermedades (8): faringitis, otitis media, neumonía.

### 2.2.3 Reacciones Adversas

Generalmente se considera a la eritromicina como el antibiótico menos tóxico para los niños. La incidencia de efectos adversos reportados es del 2 al 3%; con frecuencia se presentan náuseas, vómito, diarrea, ocasionalmente erupciones cutáneas o algún tipo de respuesta hipersensible.

La hepatitis colestática es el efecto indeseable más notable, comienza después de 10 a 20 días de tratamiento.

to con estolato de eritromicina, cuyos síntomas y signos pueden ser ligeros como náusea, vómito y dolor abdominal en diferente grado y evolucionar con fiebre e ictericia, en algunos casos éstos pueden ser más severos y causar colecistitis aguda; al retirar el medicamento los síntomas desaparecen (9,10).

## 2.3 Disolución

### 2.3.1 Consideraciones Teóricas

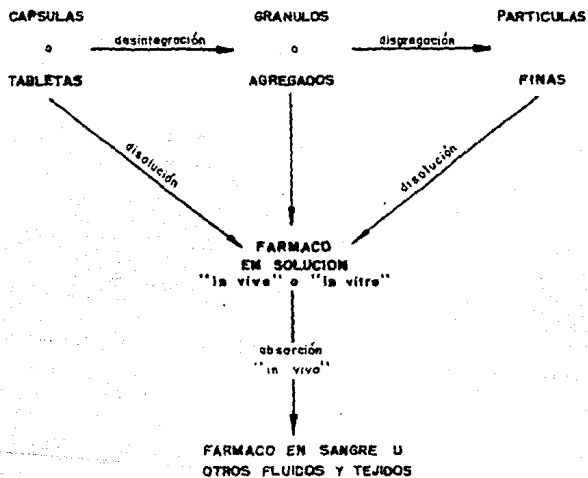
Hasta hace algunos años la prueba de desintegración fue tomada como parámetro "in vitro" para predecir la absorción "in vivo" de formas farmacéuticas sólidas administradas oralmente, sin embargo Nelson y otros, demostraron que el proceso de absorción de fármacos a nivel del tracto gastrointestinal está controlado por la velocidad con que éstos se disuelven en los medios fisiológicos (11).

En la Figura 1, se muestra el proceso de disolución de una tableta o cápsula, donde se observa que si el proceso de disolución se encuentra bloqueado, la absorción del fármaco no tiene lugar lo que origina fallas terapéuticas, si la velocidad de disolución es lenta o incompleta el nivel sanguíneo alcanzado resulta bajo e insuficiente para lograr un efecto terapéutico adecuado.

Con el objeto de predecir el comportamiento "in vivo" de las formas farmacéuticas sólidas orales, se realizan estudios de disolución.

FIGURA 1

PROCESOS QUE OCURREN CUANDO UNA TABLETA o  
CAPSULA ES EXPUESTA A FLUIDOS EN CONDICIONES  
"in vivo" o "in vitro"



### 2.3.2 Estudios de Disolución efectuados para estolato de eritromicina

Garzón, A. y Román, F. (12) realizaron un estudio de correlación "in vivo - in vitro" para cápsulas de estolato de eritromicina.

El trabajo se inició con un estudio de biodisponibilidad comparando 5 formulaciones de estolato de eritromicina en cápsulas existentes en el mercado nacional, a partir de estos resultados se diseñó un sistema de disolución.

La prueba de disolución se llevó a cabo en las 5 formulaciones comerciales, así como en una sexta formulación diseñada por los autores; el equipo de disolución fue el aparato de canastilla rotatoria USP XIX, a una velocidad de agitación de 200 rpm, el medio de disolución fue ácido clorhídrico 0.1 N, pH 1.2, cambiando el pH del medio hasta 7.3, al agregar alícuotas sucesivas de solución de trietanolamina al 40%, manteniendo la temperatura a 37°C; las muestras fueron analizadas por el método microbiológico de cilindro en placa.

Los resultados "in vivo - in vitro" fueron correlacionados estadísticamente.

Card, M. (13) efectuó un estudio de disolución en formas farmacéuticas sólidas de estolato de eritromicina.

El estudio se realizó en 5 formulaciones farmacéuticas (4 son cápsulas y una tableta) procedentes de 4 diferentes proveedores, con el objeto de ver si hay diferencias entre formulaciones y de lote a lote de una misma formulación.

Para el estudio de estas formas farmacéuticas se utilizó el equipo de disolución USP XX y dos métodos de agitación: canastilla rotatoria a 100 rpm y paletas a 75 rpm, la temperatura fue a 37°C, utilizando como medio de disolución solución amortiguadora de fosfatos al 0.5%, pH 7.0 - metanol en una proporción 60:40.

Encontró que ambos tipos de agitación diferencian el perfil de disolución de los productos, observando diferencias en la velocidad de disolución que notan los efectos de diferentes formulaciones empleadas, así como la fabricación de los productos.

En todos los casos la cinética de disolución fue de primer orden para las formulaciones estudiadas.

## 2.4 Aspectos Farmacocinéticos

### 2.4.1 Consideraciones Teóricas

El propósito de la farmacocinética, es el estudio de las velocidades de cambio de la concentración de fármacos y sus metabolitos en los fluidos biológicos, tejidos y excretas, así como también el de la respuesta far

macológica y la construcción de modelos adecuados para la interpretación de tales datos (14).

Los modelos farmacocinéticos son representaciones matemáticas, utilizadas para describir, interpretar y resumir el curso de un fármaco en el organismo, desde su administración hasta su eliminación. Estos modelos están basados en conceptos fisiológicos de absorción, -- distribución, metabolismo y eliminación; se construyen en base a compartimentos en el organismo y en los cuales se supone que se distribuye el fármaco una vez ingresado a él.

Un compartimento puede ser un grupo de tejidos con características fisiológicas similares, tales como flujo sanguíneo, afinidad por fármacos, etc...

De este modo el fármaco puede presentar modelos de un compartimento, dos compartimentos, etc..., eligiendo siempre el más sencillo que se ajuste a nuestros datos experimentales.

#### 2.4.1.1 Modelo Abierto de un Compartimento (MAUC)

El modelo más simple es el llamado modelo abierto de un compartimento. El término "abierto" se refiere al hecho de que existe un sentido unidireccional de entrada y salida (absorción y eliminación). Este modelo supone al organismo como una unidad homogénea, esto no



significa necesariamente que la concentración de fármaco en todo el cuerpo a cualquier tiempo sea la misma.

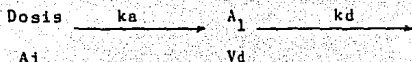
El fármaco se distribuye rápidamente en el plasma y otros fluidos y tejidos corporales, después de que entra en la circulación sistémica.

La administración de un fármaco puede ser de orden cero por medio de una inyección intravenosa, o de primer orden en los procesos de absorción. Cuando existe un proceso de absorción, éste puede ser un factor limitante para la cantidad total de fármaco que llega a la circulación sanguínea.

A continuación se dan los supuestos en los que se basa el MAUC, con proceso de absorción de primer orden:

- a) El proceso de absorción sigue una cinética aparente de primer orden y está caracterizada por una constante de velocidad  $k_a$ .
- b) La dosis ( $D$ ) se deposita instantáneamente en el sitio de absorción, de donde se transfiere al torrente circulatorio en una magnitud  $F$  (biodisponibilidad).
- c) El proceso de eliminación sigue una cinética aparente de primer orden y está caracterizado por una constante de velocidad  $k_d$ .

La representación esquemática del modelo con sus constantes de velocidad características es el siguiente:



La ecuación diferencial que describe este modelo (por balance de masas) es:

$$\frac{dA_1}{dt} = ka A_i - kd A_1 \quad [1]$$

donde:

$\frac{dA_1}{dt}$  = Variación de la cantidad de fármaco en el organismo  $A_1$

$ka$  = Constante de velocidad de absorción de primer orden

$A_i$  = Cantidad de fármaco en el sitio de absorción

$kd$  = Constante de velocidad de eliminación de primer orden

Integrando esta ecuación tenemos:

$$A_1 = \frac{A_i ka}{ka - kd} ( e^{-kd t} - e^{-ka t} ) \quad [2]$$

Si se dividen ambos términos por el volumen de distribución, se obtiene la misma ecuación expresada en términos de concentración. Como  $A_i$  corresponde a la dosis administrada, es preciso tomar en cuenta que no toda puede ser absorbida, ya que existe siempre la posibilidad de que una parte de ella no se absorba, por ésto es más apropiado y más exacto emplear el término fracción de la

dosis absorbida, FD

Conforme a estas consideraciones la ecuación (2), puede expresarse de la siguiente manera:

$$C_p = \frac{k_a \cdot FD}{V_d (k_a - k_d)} (e^{-k_d t} - e^{-k_a t}) \quad [3]$$

La mayoría de las veces  $k_a \gg k_d$ , por lo que en un periodo de tiempo finito  $e^{-k_a t}$  adquiere un valor nulo y la ecuación 3 se reduce a:

$$C_p = \frac{k_a \cdot FD}{V_d (k_a - k_d)} (e^{-k_d t}) \quad [4]$$

ecuación que puede expresarse en forma logarítmica:

$$\ln C_p = \ln \frac{k_a \cdot FD}{V_d (k_a - k_d)} - k_d t \quad [5]$$

La ecuación 5 expresa la evolución de la concentración plasmática respecto al tiempo una vez que la absorción cesa y el único proceso de velocidad involucrado es el de eliminación, por lo cual la constante de velocidad de eliminación ( $k_d$ ) puede ser calculada de una gráfica semilogarítmica de la concentración plasmática contra el tiempo, por medio de la pendiente de la fase terminal de la curva.

Por tanto la ecuación 3 representa todo el proceso de absorción y eliminación.

Si la ecuación 4 se resta a la ecuación 3, se obtiene la concentración residual,  $C_R$  :

$$C_R = \frac{k_a \cdot FD}{V_d (k_a - k_d)} (e^{-k_d t}) \quad [6]$$

o bien:

$$\ln C_R = \ln \frac{k_a \cdot FD}{V_d (k_a - k_d)} - k_d t \quad [7]$$

Esto significa que el gráfico semilogarítmico de  $C_R$  contra  $t$  origina una línea recta cuya pendiente es  $-k_d$ , de donde es posible calcular la constante de absorción de un fármaco ( $k_a$ ), este método de calcular la constante de absorción se conoce como el método de los residuos.

Otros parámetros útiles que pueden determinarse son:

a) Tiempo máximo ( $t_{m\acute{a}x}$ )

Es el tiempo en el cual se alcanza la concentración plasmática máxima, el cual se calcula con la ecuación:

$$t_{m\acute{a}x} = \ln(k_a/k_d) / (k_a - k_d) \quad [8]$$

b) Concentración plasmática máxima ( $C_{p_{m\acute{a}x}}$ )

Como su nombre lo indica representa la más alta concentración del fármaco en la sangre o plasma, después de su administración oral. Puede obtenerse de la ecuación 3, sólo sustituyendo el tiempo ( $t$ ) por  $t_{m\acute{a}x}$ , calculando según ecuación 3. Este parámetro es direc

tamente proporcional a la fracción absorbida del fármaco.

c) Area Bajo la Curva (ABC)

Es el parámetro más importante en la determinación -- de la biodisponibilidad ya que representa la fracción de la dosis absorbida, el ABC es directamente proporcional a la cantidad de fármaco que entra a la circulación y es independiente de la velocidad de absorción. La determinación del ABC, puede hacerse por el método de los trapecios, en donde la curva de concentración plasmática-tiempo, se divide en secciones que se aproximan a trapecios en su forma y se calcula el área de cada uno de ellos mediante la fórmula siguiente:

$$\text{área del trapecio} = \frac{y_1 + y_2}{2} (x_2 - x_1) \quad [9]$$

el ABC hasta tiempo  $t_n$  sería:

$$(\text{ABC})_0^{t_n} = \frac{C_0 + C_1}{2} (t_1 - t_0) + \frac{C_1 + C_2}{2} (t_2 - t_1) + \dots$$

$$\frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1}) \quad [10]$$

donde:

$C_0$  : concentración plasmática al tiempo  $t_0$

$C_1$  : concentración plasmática al tiempo  $t_1$

- $C_2$  : concentración plasmática al tiempo  $t_2$   
 $C_{n-1}$  : concentración plasmática al tiempo  $t_{n-1}$   
 $C_n$  : concentración plasmática al tiempo  $t_n$

d) Biodisponibilidad

El área bajo la curva (ABC) representa un excelente parámetro para establecer las cantidades relativas absorbidas si en la comparación se toma como referencia el ABC obtenida después de una administración IV, puede conocerse exactamente la fracción absorbida. Esta comparación proporciona lo que se denomina biodisponibilidad (F) absoluta.

$$\% F_{\text{absoluta}} = \frac{\left[ \int_0^{\infty} C \, dt \right]_{\text{oral}}}{\left[ \int_0^{\infty} C \, dt \right]_{\text{IV}}} \times 100 \quad [11]$$

Si se comparan dos formas farmacéuticas A y B, donde se toma como patrón o estándar el producto B, se obtiene la biodisponibilidad relativa del producto A:

$$\% F_{\text{relativa}} = \frac{\left[ \int_0^{\infty} C \, dt \right]_A}{\left[ \int_0^{\infty} C \, dt \right]_B} \times 100 \quad [12]$$

e) Tiempo de vida media

Otro parámetro útil es el tiempo de vida media de un fármaco  $t_{1/2}$ . Es el tiempo requerido para eliminar el 50% de la cantidad de fármaco remanente en el cuer

po, puede calcularse por uso de la ecuación:

$$t_{1/2} = 0.693 / kd \quad [13]$$

#### 2.4.2 Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción del Estolato de Eritromicina

El estolato de eritromicina a diferencia de la base o el estearato, es estable en medio ácido y su absorción no se modifica por los alimentos. El estolato de eritromicina se absorbe principalmente como el propionil éster, el cual no posee actividad antimicrobiana hasta que es hidrolizado a la base (15).

Una dosis oral de 250 mg de estolato de eritromicina produce concentraciones plasmáticas máximas de 1.5 mcg/ml después de 2 hr y una dosis de 500 mg, de 4.0 mcg/ml. La vida media del propionil eritromicina es de 1.6 a 1.7 hr. Los niveles de eritromicina después de una administración intravenosa se describen en términos de un modelo abierto de dos compartimentos; mientras que los niveles después de una dosis única oral se describen como un modelo abierto de un compartimento con una absorción de orden cero y de primer orden cuando se administran dosis múltiples -- (16,17).

El estolato de eritromicina se une del 90 al 99% a las proteínas plasmáticas en forma de propionato de eritromi

cina (15,18).

La eritromicina difunde fácilmente por el líquido intracelular y su actividad antimicrobiana puede lograrse --- prácticamente en todas las partes del cuerpo excepto en el cerebro y el líquido cefalorraquídeo, atraviesa las - membranas placentarias.

La eritromicina se concentra en el hígado, donde se desmetila y forma des-N-metil eritromicina y formaldehído. La propionil eritromicina puede también desmetilarse a propionil des-N-metil eritromicina y puede subsecuentemente convertirse a des-N-metil eritromicina (5).

Sólo del 2 al 5% de la eritromicina administrada por vía oral y del 12 al 15% de la administrada intravenosamente se excreta en forma activa por la orina; las heces y la bilis pueden contener hasta 0.5 mg/g y 250 mcg/ml respectivamente.



### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La eritromicina se introdujo en la terapéutica desde hace más de 20 años (19) y a partir de entonces se han desarrollado varios derivados y formulaciones de la misma, en un intento por mejorar la absorción gastrointestinal de la eritromicina base. Un ejemplo de ésto lo constituye el estolato de eritromicina el cual es estable en medio ácido y su absorción no se modifica por la presencia de alimento en el estómago.

Actualmente la eritromicina es el antibiótico más importante del grupo de los macrólidos, su espectro de actividad es muy similar al de la penicilina G(7), por lo tanto constituye el antibiótico de elección en pacientes -- alérgicos a este último antibiótico.

En el momento actual no existe una prueba de disolución farmacopeica para cápsulas de estolato de eritromicina - (20,21) y en la literatura aparecen informes de bioequivalencia de formas farmacéuticas que contienen eritromicina base y sus derivados (22,23).

En México, dado el uso tan amplio de la eritromicina, --- existen numerosos fabricantes de las distintas formas -- farmacéuticas de estolato de eritromicina: cápsulas, ta bletas, polvo para suspensiones (24).

En base a estos antecedentes se consideró importante de-

sarrollar una prueba de disolución para cápsulas de estolato de eritromicina, estudiar la bioequivalencia de esta forma farmacéutica y en base a los resultados obtenidos establecer si es posible la correlación de los estudios "in vitro - in vivo".

#### 4. OBJETIVOS

- 4.1 Determinar la equivalencia farmacéutica de las cápsulas de estolato de eritromicina estudiadas.
- 4.2 Comprobar que la prueba de disolución para las cápsulas de estolato de eritromicina, propuesta por Card, M. es apropiada para los productos estudiados.
- 4.3 Estudiar la biodisponibilidad de las cápsulas de estolato de eritromicina de cinco proveedores diferentes para evaluar la bioequivalencia de estos productos con respecto al de referencia.
- 4.4 Tratar de establecer la correlación entre los estudios "in vitro - in vivo" para que en el futuro en base a los resultados de la prueba de disolución se pueda predecir la biodisponibilidad de estos productos.

5. HIPOTESIS

- 5.1 La biodisponibilidad relativa de las cápsulas de estolato de eritromicina de cinco diferentes proveedores con respecto al producto de referencia estarán en el rango del 80% al 120%.
- 5.2 La prueba de disolución suponen será adecuada para establecer los diferentes comportamientos de disolución de los productos estudiados.

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### Selección de medicamentos

Se estudiaron cápsulas de un mismo lote de estolato de eritromicina equivalente a 250 mg de eritromicina base, de 9 laboratorios nacionales y el producto innovador - "Ilosone" (Ely Lilly & Co., E.U.A.).

En la Tabla II se presentan los 10 productos que fueron estudiados "in vitro".

### 6.1 Pruebas de control de calidad

Para determinar la equivalencia farmacéutica de las cápsulas se les efectuaron las siguientes pruebas de control de calidad, establecidas en la USP XXI

Determinación de agua

Variación de peso

Valoración microbiológica

Uniformidad de contenido

Además se consideró útil realizar las pruebas de:

Identificación

(espectro de absorción infrarrojo) (25)

Desintegración

(20, 26)

TABLA II.

Productos farmacéuticos de estolato de eritromicina estudiados  
(cápsulas de 250 mg.)

No. de lote	Fabricante
S/N	Eli Lilly & Co., E.U.A. (1)
331004	Atlantis, S. A.
36639 W	Eli Lilly y Compañía de Mexico, S. A. de C. V.
5183	Farmacéuticos Rayere, S. A.
7685	Buffington's de México, S. A.
50919	Productos Farmacéuticos Chinoin, S.A.
510359	Laboratorios Galen, S. A.
5073907	Corporación Farmacéutica, S. A.
60128	Casa Keyerson
601 E16	Productos Mavi, S. A.

(1) Producto innovador

6.2 Estudio "in vitro": disolución de los productos de estolato de eritromicina.

El estudio de disolución de los 10 lotes de estolato de eritromicina se realizó con el objeto de caracterizar - su perfil de disolución y seleccionar de éstos, dos productos de alta, dos de media y un producto de baja velocidad de disolución, para utilizarse en los estudios de bioequivalencia.

6.2.1 Material y equipo

Aparato de disolución USP, Hanson Research, Mod. 72 RL  
Potenciómetro, Orion Research, Mod. 701 A

Espectrofotómetro, Beckman DU-7

Baño de temperatura controlada, MAPSA, Mod. BMT-4

Swinnex (jeringa con equipo de filtración Millipore)

Cronómetro

Jeringas

Papel filtro Whatman No. 40

Material usual de laboratorio

6.2.2 Reactivos

Estándar secundario de eritromicina base (donado por --  
Abbott Laboratories de México, S. A. )

Solución 0.5 N de ácido sulfúrico

Solución 0.5 N de hidróxido de sodio

Solución amortiguadora de fosfatos al 0.5% pH 7.0

Mezcla metanol-solución amortiguadora de fosfatos (0.5% pH 7.0) al 30% v/v

Reactivo alcalino

#### 6.2.2.1 Preparación de soluciones

Solución amortiguadora de fosfatos al 0.5% y pH 7.0; disolver 2.71 g de fosfato de potasio dibásico en agua destilada, llevar a un litro.

Medio de disolución; mezcla al 30% v/v de metanol-solución amortiguadora de fosfatos al 0.5% y pH 7.0, degasificar al vacío y enfriar a temperatura ambiente.

Reactivo alcalino; a 42 g de fosfato de sodio tribásico dodecahidratado agregar 125 ml de solución 0.5 N de hidróxido de sodio y 100 ml de agua destilada, calentar en baño de agua agitando hasta que la solución sea transparente y diluir a 250 ml con agua destilada, agitar y filtrar.

#### 6.2.3 Método espectrofotométrico para estolato de eritromicina

Para la cuantificación de estolato de eritromicina se utilizó el método espectrofotométrico desarrollado por Kuzel y colaboradores (27). Debido a que la actividad farmacológica la ejerce la eritromicina base, se preparó la curva patrón partiendo de una solución conteniendo eritromicina base, la comprobación de la equivalencia del comportamiento químico del estolato de eritromicina y la eritro



micina base ha sido reportada (13).

#### Curva patrón de eritromicina base

Solución de referencia de eritromicina base: transferir 125 mg de eritromicina base pesados exactamente (eritromicina base secada a  $60^{\circ}\text{C}$  y 5 mm de Hg, por 3 horas) a un matraz volumétrico de 100 ml, disolver en 40 ml de metanol y llevar a volumen con solución amortiguadora de fosfatos al 0.5% y pH 7.0, obteniéndose una concentración de 1.25 mcg/ml. A partir de la solución de referencia, se realizan diluciones en solución amortiguadora de fosfatos al 0.5%, pH 7.0, para obtener concentraciones de 50, 125, 200, 275, 350, 425 y 500 mcg/ml.

#### Procedimiento

De cada una de las soluciones anteriores tomar dos alícuotas de 5 ml y transferir individualmente a matraces volumétricos de 25 ml.

Para las muestras blanco tomar uno de los matraces con alícuota de 5 ml, adicionar 1.0 ml de solución 0.5 N de ácido sulfúrico, agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante una hora, adicionar 1.0 ml de hidróxido de sodio 0.5 N; en este punto tanto a la muestra blanco como a la muestra problema adicionar 2 ml de reactivo alcalino, calentar en baño de agua a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos; enfriar rápidamente en baño de hielo, aforar a --

25 ml con agua destilada y determinar la absorbancia a 236 nm. Como blanco de ajuste utilizar agua destilada a la absorbancia de cada muestra problema restar la absorbancia de su respectivo blanco. Las concentraciones de la curva patrón obtenidas finalmente son: 10, 25, 40, 55, 70, 85 y 100 mcg/ml.

El uso de la muestra blanco durante el análisis es necesario para hacer la corrección de aquellos excipientes que absorban a la misma longitud de onda.

#### 6.2.4 Evaluación estadística de la técnica espectrofotométrica.

Con el objeto de observar si la relación entre las concentraciones de eritromicina y las absorbancias correspondientes es lineal, se prepararon el mismo día y de manera independiente cinco curvas patrón de eritromicina base en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, las cuales se sometieron al procedimiento descrito anteriormente.

Los resultados obtenidos de las cinco curvas de referencia se utilizaron para evaluar si este método es repetible en el mismo día de análisis.

Para determinar la repetibilidad del método en diferentes días de trabajo bajo condiciones idénticas de operador, aparatos, laboratorio, etc.... se preparó y ana

lizó una curva patrón en cinco días diferentes.

La sensibilidad del método es la menor cantidad detectable de eritromicina.

#### 6.2.5 Perfil de disolución de las cápsulas de estolato de eritromicina.

Dadas las características de solubilidad del estolato de eritromicina y de acuerdo a los estudios realizados ver 2.3.2; el estudio de disolución se realizó en el aparato de disolución con canastillas rotatorias descrito en la USP XXI utilizando como medio de disolución una mezcla de metanol-solución amortiguadora de fosfatos al 30% v/v. Se disminuyó la proporción de metanol en el medio de disolución de un 40% a un 30%, debido a que no se tenían diferencias entre los productos dada su rápida disolución. La prueba se efectuó por duplicado, con un total de 12 cápsulas analizadas por cada lote.

#### Procedimiento

Depositar 900 ml de medio de disolución en cada uno de los seis vasos del sistema el cual deberá mantenerse a la temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Introducir una cápsula en cada una de las canastillas, sumergirlas en el medio de disolución e iniciar la agitación a 100 rpm. Tomar 12 ml de muestra a los 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120

minutos, por medio de una jeringa unida a un swinnex -- preparado con papel whatman No. 40 e inmediatamente después de cada toma de muestra reponer el volumen con medio de disolución a  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ; hidrolizar las muestras en un baño de agua a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 2 hr. y analizar por el método espectrofotométrico ya descrito. Interpoliar las absorbancias obtenidas en la curva patrón a fin de determinar la concentración de eritromicina base en los diferentes tiempos.

### 6.3 Estudio "in vivo"

#### 6.3.1 Valoración microbiológica de eritromicina en plasma

Para la cuantificación de eritromicina base en plasma se utilizó el método microbiológico de difusión en agar utilizando sensidiscos (28).

#### 6.3.2 Material y equipo

Potenciómetro, Orion Research, modelo 701 A

Baño de temperatura controlada, Mapsa, modelo BMT-4

Comparador óptico, LS 803 D 8225, Dr. J. Heidenhain

Autoclave

Centrífuga

Congelador

Refrigerador

Estufa de cultivo, Thelco, modelo GM

Micropipeta

Cajas de petri desechables

Discos de papel absorbente, de 1/4 de pulgada de diámetro.

### 6.3.3 Reactivos

Estándar secundario de eritromicina base (donado por Abbott Laboratories de México, S. A.)

Medio para antibiótico No. 1, Bioxon de México, S. A.

Medio para antibiótico No. 11, Bioxon de México, S. A.

Solución salina al 0.9% estéril

Plasma humano libre de medicamentos

Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0

Solución amortiguadora de fosfatos-glicerol pH 7.0

#### 6.3.3.1 Preparación de soluciones

Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0: 4 g de fosfato de potasio dibásico y 13.6 g de fosfato de potasio monobásico, disolver y diluirlos en 1000 ml de --- agua destilada.

Solución amortiguadora de fosfatos-glicerol, pH 7.0: 0.79 g de fosfato de potasio dibásico con 1.0 g de fosfato de potasio monobásico disolver y agregar 150 ml - de glicerol, llevar a 1000 ml con agua destilada.

### 6.3.4 Método microbiológico de difusión en agar utilizando sensidiscos.

#### 6.3.4.1 Microorganismo de prueba

Micrococcus luteus ATCC 9341

#### 6.3.4.2 Preparación del inóculo

Inocular el microorganismo de prueba, Micrococcus luteus en un tubo de agar inclinado del medio de antibiótico No. 1, incubar durante 24 horas a 37°C, después del período de incubación recuperar el crecimiento con 3 ml de agua destilada estéril, con esta suspensión inocular una botella de Roux conteniendo 150 ml de medio para antibiótico No. 1 (adicionando 7 g de agar por cada litro de medio) incubar durante 24 horas a 37°C, después de este período recuperar el crecimiento con 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos-glicerol pH 7.0 y ajustar la suspensión para que una dilución 1:200 de una transmitancia del 45% a 640 nm, la suspensión se conserva en congelación a ---70°C, distribuida en volúmenes pequeños hasta su utilización. La suspensión de prueba se prepara diluyendo la suspensión concentrada 1:10 con solución salina al 0.9% estéril, utilizar 3 ml de esta suspensión para inocular un litro de medio nutriente.

#### 6.3.4.3 Curva patrón de eritromicina en plasma

Pesar el equivalente a 50 mg de eritromicina base del estándar previamente desecado a 60°C, durante 3 horas a --5 mm de Hg, transferir a un matraz volumétrico de 50 ml

y disolver en metanol para obtener una concentración de 1000 mcg/ml; esta solución mantenida en refrigeración es estable durante una semana, a partir de esta solución obtener las siguientes concentraciones 0.25, 2.5 y 10 mcg/ml con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0. Estas soluciones se diluyen con plasma humano para obtener los puntos de la curva: 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mcg/ml.

#### 6.3.4.4 Preparación de las placas

Inocular al 0.3% la suspensión del microorganismo de prueba en el medio para antibiótico No. 11, previamente esterilizado y mantenido a una temperatura entre 45-48°C, homogeneizar y distribuir porciones de 6 ml del medio inoculado en cajas de petri desechables. Utilizar un total de 24 placas para la curva, una serie de 4 placas para cada uno de los 6 puntos de la misma, exceptuando el punto central (0.5 mcg/ml) el cual se coloca en cada una de estas series. Colocar en cada placa 4 discos de papel filtro en forma equidistante e inmediatamente después impregnarlos con 10 µl de cada una de una de las soluciones de estándar y el problema, alternando en cada placa el punto central o de referencia con el resto de los puntos de la curva y los problemas. Después de un período de incubación de 18 a 20 hr a 32°C, medir los diámetros de los halos de inhibición, promediar las lec

turas del punto central o de referencia de todas las placas de la curva estándar (48 medidas), este promedio se usa para ajustar la variación de las placas en las concentraciones de 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.0 y 4.0 mcg/ml; trazar la curva en papel semilogaritmo de 3 ciclos graficando en la escala aritmética los diámetros de las zonas de inhibición ajustadas y las concentraciones del estándar en escala logarítmica. Las muestras problema son -- tratadas de igual forma y el valor ajustado es interpolado en la curva patrón (realizada al mismo tiempo) para obtener la concentración de eritromicina en plasma.

- 6.3.5 Evaluación estadística del método microbiológico
- Con el objeto de determinar si la relación existente entre las concentraciones de eritromicina y los diámetros de los halos de inhibición es lineal, se realizaron dos curvas de referencia en plasma utilizando las siguientes concentraciones de eritromicina: 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mcg/ml. Los resultados obtenidos se utilizaron para evaluar la repetibilidad del método en el mismo día de análisis.

Así mismo se prepararon y analizaron cinco curvas de referencia en días diferentes para evaluar si el método es repetible bajo condiciones idénticas de análisis.

La sensibilidad del método es la menor cantidad detectable de eritromicina.



### 6.3.6 Estudios de bioequivalencia

A partir del perfil de disolución de los productos estudiados se seleccionaron dos productos de alta, dos de media y un producto de baja velocidad de disolución, para evaluar su biodisponibilidad con respecto al producto innovador.

#### 6.3.6.1 Protocolo del estudio

Para evaluar la bioequivalencia de los seis productos de estolato de eritromicina farmacéuticamente equivalentes, se realizaron dos estudios independientes empleando para cada uno de ellos un diseño de bloques incompletos balanceado (29, 30).

El primer estudio se efectuó en 12 voluntarios, para determinar la bioequivalencia de 4 productos (de estolato de eritromicina); los sujetos se asignaron aleatoriamente y cada uno de ellos recibió dos de los cuatro tratamientos posibles, ver Tabla III.

El segundo estudio se realizó con 6 voluntarios (procedentes del primer estudio) y se evaluó la bioequivalencia de 3 productos (de estolato de eritromicina); asignando los sujetos aleatoriamente; cada sujeto recibió dos de los tres tratamientos posibles, ver Tabla IV.

En estos estudios se utilizó al Ilosone (E.U.A.) como el producto de referencia. Los dos estudios se lleva-

ron a cabo por separado, dejando una semana entre cada administración y dos semanas entre cada estudio; el diseño fue balanceado sobre semanas.

TABLA III.

Diseño de bloques incompletos balanceado para el primer estudio de bioequivalencia de cápsulas de estolato de eritromicina.

Sujetos	Semana I	Semana II
1	A	B
2	D	C
3	C	A
4	B	C
5	D	A
6	D	B
7	B	A
8	B	D
9	C	D
10	A	D
11	A	C
12	C	B

TABLA IV.

Diseño de bloques incompletos balanceado para el segundo estudio de bioequivalencia de cápsulas de estolato de eritromicina.

Sujetos	Semana I	Semana II
1	A	E
2	E	A
3	F	A
4	A	F
5	E	F
6	F	E

### 6.3.6.2 Selección de los sujetos

En los estudios participaron 12 voluntarios del sexo masculino, cuyas edades fluctuaron entre los 20 y 30 años y un peso promedio entre los 60 y 70 kg, tomando el siguiente criterio para considerarlos sanos:

- a) Historia clínica (interrogatorio y examen físico) que permitiera detectar manifestaciones clínicas de padecimientos renales o hepáticos, así como cualquier otra enfermedad que pudiera afectar los resultados.
- b) Exámenes de laboratorio hematológico y urinario (química sanguínea, biometría hemática completa, transaminasas y examen general de orina).

Después de ser informados del propósito, protocolo y riesgos del estudio, cada sujeto dio su consentimiento por escrito para participar en el mismo. Los sujetos no tomaron ningún medicamento o bebidas alcohólicas por lo menos una semana antes y durante los estudios.

El protocolo fue el siguiente:

Cada sujeto en ayuno, ingirió una dosis única de 500 mg (dos cápsulas de estolato de eritromicina equivalente a 250 mg de eritromicina base), con 100 ml de agua; a las 4 horas después de la ingestión del medicamento, todos los voluntarios tomaron un alimento ligero consistente en: un sandwich, una gelatina, ensalada de verduras y

agua de sabor, durante los estudios la ingestión de agua después de las 4 horas de ayuno es a libre demanda, al final del estudio se da un postre.

Se obtuvieron 5 ml de sangre venosa a través de un catéter del tipo punzocat No. 17 a las 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 hr., las cuales se depositaron en tubos de ensayo previamente heparinizados e identificados. El plasma se separó por centrifugación a 2500 rpm, durante 10 min. y fue congelado a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. El día del análisis las muestras se colocan en baño maría a  $60^{\circ}\text{C}$  durante una hora para hidrolizarse, el análisis cuantitativo de las muestras se realizó utilizando el método microbiológico de difusión en agar utilizando sensidiscos, ya descrito en la sección 3.3.4, realizando al mismo tiempo una curva patrón de eritromicina en plasma. La muestra al tiempo cero se trató de igual forma que las otras, para asegurarse que los sujetos no ingirieron medicamento alguno que pudiera interferir en el análisis.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Pruebas de control de calidad

En la tabla V se muestran los resultados obtenidos al efectuar el control de calidad a los 10 medicamentos estudiados.

La prueba de uniformidad de contenido sólo se realizó a los seis productos seleccionados para el estudio -- "in vivo".

TABLA V.

Resultados de las pruebas de control de calidad de las cápsulas de estolato de eritromicina.

CLAVE	IDENTIDAD	AGUA	VARIACION DE		DESINTEGRACION		VALORACION DEL	UNIFORMIDAD DE
			PESO	DER	MINUTOS	DE	PRINCIPIO ACTIVO	CONTENIDO
		%	$\bar{X}$		$\bar{X}$	DE	%	%
A	+	3.36	497.17	1.00	7.15	1.77	98.93	94.31
B	+	4.16	483.53	1.56	7.47	0.78	100.53	98.50
C	+	4.36	473.82	5.24	8.06	0.86	112.24	109.98
D	+	4.22	404.06	5.48	4.10	0.63	106.28	93.96
E	+	3.47	406.45	3.13	4.22	0.69	101.90	96.38
F	+	3.85	494.62	3.32	6.40	0.79	109.38	95.49
G	+	4.26	388.98	8.93	4.22	0.52	101.52	*
H	+	4.73	371.44	4.24	4.10	0.71	89.12	*
I	+	4.40	543.52	5.23	2.48	0.34	112.77	*
J	+	4.27	437.10	2.51	7.03	0.68	105.17	*

$\bar{X}$  Promedio  
 DE Desv. estándar  
 DER Desv. estándar relativa  
 \* No se determinó



7.2 Determinación cuantitativa de eritromicina en solución - amortiguadora de fosfatos pH 7.0.

7.2.1 Evaluación estadística del método espectrofotométrico para la determinación de eritromicina

La evaluación de la linealidad del método espectrofotométrico se obtuvo a partir de los datos de las cinco curvas de calibración (Tabla VI), considerando los siguientes parámetros:

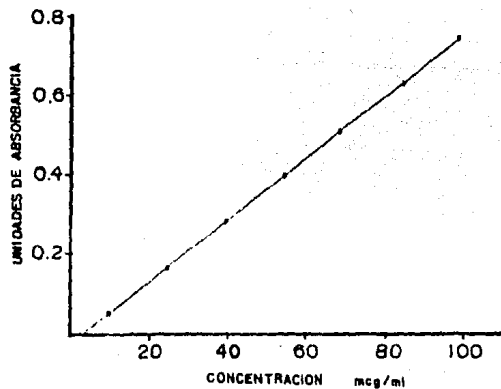
- a. Ecuación de regresión
- b. Coeficiente de correlación
- c. Error típico de estimación modificado
- d. Sensitividad
- e. Inferencia acerca de la pendiente
- f. Inferencia acerca de la ordenada al origen

Los datos de las 5 curvas de calibración se promedian, la gráfica correspondiente de la curva patrón promedio de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, se muestra en la Figura 1, puede observarse la linealidad del método entre las concentraciones de 10 a 100 mcg/ml. y los intervalos de confianza del 95%.

Con los datos de la Tabla VI se determinó la repetibilidad en el mismo día y con los datos de la Tabla VII, la repetibilidad en días diferentes, utilizando la prueba estadística de  $X^2$  (ji - cuadrada).

FIGURA 2

CURVA PATRON DE ERITROMICINA EN  
SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS, 0.5% Y pH 7.0  
METODO ESPECTROFOTOMETRICO.



INTERVALOS DE CONFIANZA

x (mcg/ml)	y	s ±
10	0.056	0.011
25	0.170	0.008
40	0.284	0.007
55	0.398	0.006
70	0.512	0.007
85	0.627	0.008
100	0.741	0.011

TABLA VI

Datos obtenidos de cinco curvas de calibración de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, realizadas el mismo día.

Concentración de eritromicina (mcg/ml)	Curvas de calibración				
	1	2	3	4	5
	Unidades de absorbancia				
10	0.0673	0.0748	0.0794	0.0743	0.0650
25	0.1600	0.1755	0.1676	0.1779	0.1743
40	0.2466	0.2882	0.2859	0.2758	0.2751
55	0.3524	0.3942	0.3843	0.3694	0.4006
70	0.5166	0.4897	0.5160	0.5080	0.5384
85	0.6354	0.5910	0.6420	0.6345	0.6379
100	0.7270	0.7641	0.7682	0.7534	0.7493

TABLA VII

Datos obtenidos de cinco curvas de calibración de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, realizadas en diferentes días.

Concentración de eritromicina (mcg/ml)	Curvas de calibración				
	1	2	3	4	5
	Unidades de absorbancia				
10	0.0789	0.0650	0.0787	0.0731	0.0715
25	0.1903	0.1743	0.1750	0.1800	0.1783
40	0.2980	0.2751	0.2826	0.2894	0.2901
55	0.4374	0.4006	0.4077	0.4110	0.4159
70	0.5594	0.5384	0.5404	0.5506	0.5503
85	0.6676	0.6374	0.6549	0.6421	0.6638
100	0.7856	0.7493	0.7516	0.7697	0.7580

## 1. Linealidad

a. Ecuación de regresión lineal:

$$y = -0.01944 + 0.00760 x$$

b. Coeficiente de correlación:

$$r = 0.99645$$

c. Error típico de estimación modificado:

$$\hat{S}_{y/x} = 0.01836$$

d. Sensitividad:

$$= 0.41432$$

e. Inferencia acerca de la pendiente:

$$0.00739 < \beta < 0.00782$$

f. Inferencia acerca de la ordenada al origen:

$$-0.02688 < \alpha < -0.01201$$

## 2. Repetibilidad en el mismo día de estudio

Estadígrafo de contraste  $\chi^2_1$  (ji-cuadrada)

Hipótesis de contraste:

$$\begin{aligned} H_0 &: \sigma^2 = \sigma_0^2 \\ &\quad \sigma^2 = (5)^2 \end{aligned}$$

$$H_1 : \sigma^2 > \sigma_0^2$$

$$\chi^2_1 \text{ calculado} = 0.07124$$

$$\chi^2_1 (0.95) = 49.802$$

Como  $\chi^2_1$  calculado (0.07124) <  $\chi^2_1$  (0.95) (49.802) se acepta que el método es repetible en el mismo día.

Repetibilidad en días diferentes

Estadígrafo de contraste  $\chi^2_1$  (ji-cuadrada).

Hipótesis de contraste

$$H_0 : \sigma^2 = \sigma_0^2$$

$$\sigma^2 = (5)^2$$

$$H_1 : \sigma^2 > \sigma_0^2$$

$$\chi^2_1 \text{ calculado} = 0.0747$$

$$\chi^2_1 (0.95) = 49.802$$

Como  $\chi^2_1$  calculado (0.07470) <  $\chi^2_1$  (0.95) (49.802), se acepta que el método es repetible en diferentes días.

3 Perfil de disolución de las cápsulas de estolato de eritromicina.

De acuerdo a los lineamientos ya especificados se efectuaron los estudios de disolución, los datos de absorban-  
cia para cada tiempo de muestreo del producto en estudio se interpolaron en la curva de referencia, para obtener el porcentaje disuelto se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ disuelto} = \frac{C}{CT \times FD \times 1000} \times 100$$

C = concentración interpolada de la curva de referencia

FD = factor de dilución, igual a  $2.222 \times 10^{-4}$

$$FD = \frac{5}{(25) (900)}$$

CT = contenido del principio activo en las cápsulas

Los datos promedio (n=12) del porcentaje disuelto se presentan en la Tabla VIII y en la Figura 3.

Con el objeto de determinar la cinética de disolución de los productos estudiados, se determinó el porcentaje remanente de eritromicina por disolverse a los diferentes tiempos de muestreo, Tabla IX y Figura 4.

FIGURA 3

PERFIL DE DISOLUCION DE LAS CAPSULAS  
DE ESTOLATO DE ERITROMICINA  
DE LOS 10 PROVEEDORES

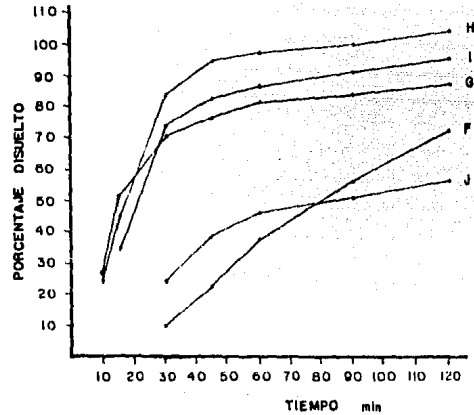
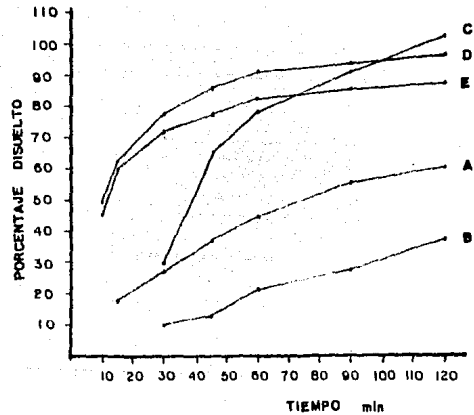




TABLA VIII

Porcentaje disuelto promedio ( $\pm$  D.E.) de las cápsulas de estolato de eritromicina de diferentes proveedores (n=12)

Tiempo Minutos	P R O D U C T O S				
	A	B	C	D	E
	Porcentaje disuelto ( $\pm$ D.E.)				
5	-	-	-	-	-
10	-	-	-	48.95(6.61)	44.46( 9.19)
15	17.76( 5.24)	-	-	62.36(2.99)	60.28(11.02)
30	26.95( 9.04)	10.22(2.54)	29.45(11.09)	79.77(4.80)	71.78(10.86)
45	37.56(12.91)	12.71(3.73)	64.55( 7.82)	85.82(5.04)	77.59( 9.02)
60	43.74(13.84)	20.72(6.29)	77.59( 7.03)	89.47(3.70)	81.99( 8.41)
90	54.85(13.27)	28.44(7.64)	91.48( 7.30)	92.58(4.07)	84.70( 7.73)
120	59.78( 9.05)	36.73(8.94)	101.62( 6.57)	96.27(4.27)	86.98( 8.26)

D.E. desviación estándar

TABLA VIII  
CONTINUACION

Tiempo Minutos	P R O D U C T O S				
	F	G	H	I	J
	Porcentaje disuelto ( $\pm$ D.E.)				
5	-	-	-	-	-
10	-	26.31( 9.24)	24.11(15.62)	-	-
15	-	50.66( 8.17)	44.20(19.30)	34.60(12.54)	-
30	9.95( 4.06)	71.27(10.69)	83.81( 8.32)	73.59( 6.41)	24.78(6.51)
45	22.22(13.36)	75.94( 9.34)	94.20( 5.23)	81.72( 6.74)	38.06(7.58)
60	37.22(17.81)	80.69(11.13)	97.10( 4.33)	86.22( 6.24)	45.89(5.66)
90	56.48(17.36)	84.07(11.28)	100.00( 3.72)	91.00( 6.24)	50.83(3.76)
120	71.52(18.35)	87.14(10.91)	103.95( 7.41)	94.78( 5.78)	54.99(4.05)

FIGURA 4

56

CINETICA DE DISOLUCION DE LOS PRODUCTOS  
COMERCIALES DE ESTOLATO DE ERITROMICINA

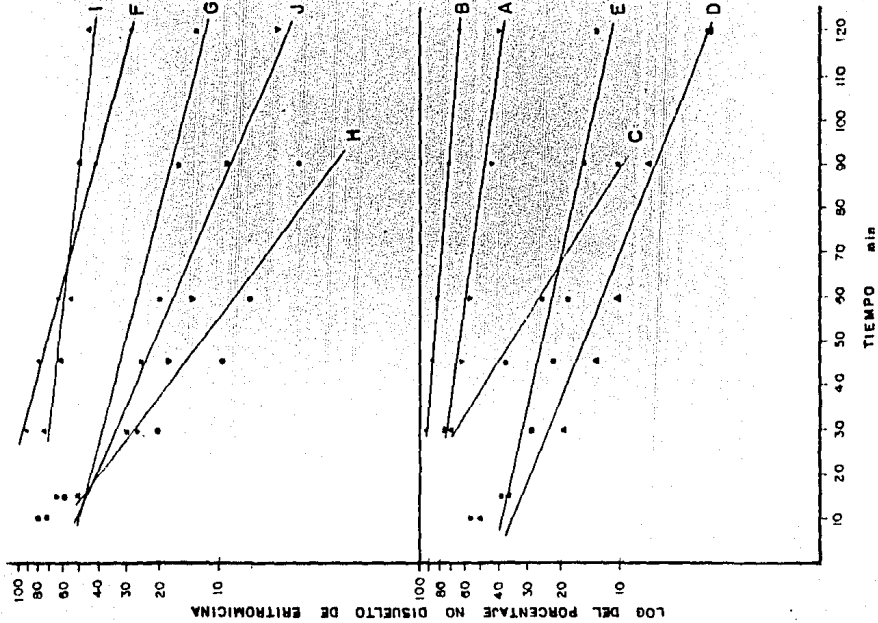


TABLA IX

Porcentaje remanente de eritromicina por disolverse de cada producto (n=12)

Tiempo Minutos	P R O D U C T O S									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
	Porcentaje remanente de eritromicina por disolverse									
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	51.05	55.54	-	73.69	79.84	-	-
15	-	-	-	37.64	39.72	-	49.34	59.75	65.40	-
30	73.05	89.78	72.17	20.23	28.22	90.05	28.73	20.14	26.41	75.22
45	62.44	87.29	37.07	14.18	22.41	77.78	24.06	9.75	18.28	61.94
60	56.26	79.28	24.03	10.53	18.01	62.78	19.31	6.85	18.78	54.11
90	45.15	71.56	10.14	7.42	15.30	43.52	15.93	3.95	9.00	49.17
120	40.22	63.27	0.00	3.73	13.02	28.48	12.86	0.00	5.22	45.01

#### 7.4 Determinación cuantitativa de eritromicina en plasma

##### 7.4.1 Método de difusión en agar utilizando sensidiscos para la determinación de eritromicina en plasma.

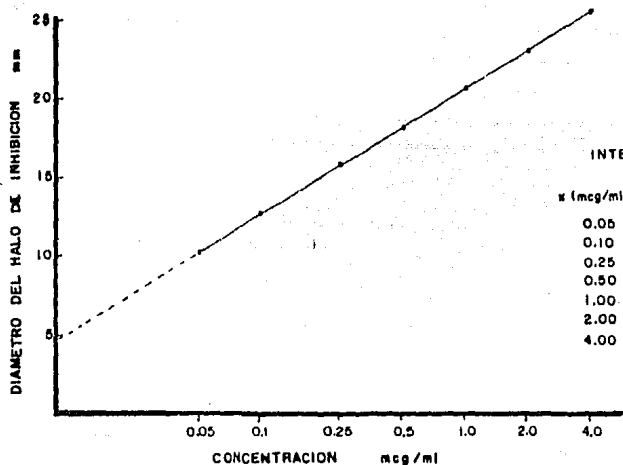
La evaluación de la linealidad del método microbiológico se obtuvo a partir de los datos de dos curvas de calibración, Tabla X, considerando los parámetros mencionados en la sección 7.2.1.

Los datos de las 2 curvas de dosis-respuesta se promediaron y la gráfica correspondiente a la curva promedio de eritromicina en plasma se muestra en la Figura 4; se puede observar la linealidad del método entre las concentraciones de 0.05 a 4.00 mcg/ml, obteniéndose los intervalos de confianza del 95%.

Con los datos de la Tabla X se determinó la repetibilidad en el mismo día y con los datos de la Tabla XI la repetibilidad en diferentes días de estudio, utilizando para tal fin la prueba estadística  $\chi^2_1$  (ji - cuadrada).

FIGURA 5

CURVA PATRON DE ERITROMICINA EN PLASMA  
 METODO MICROBIOLÓGICO DE DIFUSION EN  
 AGAR UTILIZANDO SENSIDISCOS



INTERVALOS DE CONFIANZA

x (mcg/ml)	y	± s
0.05	10.346	0.722
0.10	12.746	0.593
0.25	15.921	0.423
0.50	18.323	0.299
1.00	20.724	0.185
2.00	23.126	0.117
4.00	25.528	0.107

TABLA X

Datos obtenidos de dos curvas de dosis-respuesta de eritromicina en plasma. Realizadas el mismo día.

Concentración de eritromicina (mcg/ml)	1	2
	Diámetro del halo de inhibición ( mm )	
0.05	9.65271	10.82854
0.10	12.50646	13.31354
0.25	15.25896	16.40896
0.50	18.02146	18.27771
1.00	20.76146	21.03146
2.00	22.93896	23.95646
4.00	24.99771	25.47896

TABLA XI

Datos obtenidos de 5 curvas de dosis-respuesta de eritromicina en plasma. Realizadas en diferentes días.

Concentración de eritromicina (mcg/ml)	1	2	3	4	5
	Diámetro del halo de inhibición ( mm )				
0,05	9.88458	8.52750	9.50750	8.34833	10.82854
0,10	12.46958	11.33125	11.06250	10.61208	13.31354
0,25	15.58488	14.15250	15.10375	14.55208	16.40896
0,50	18.50458	17.33625	17.82125	17.42958	18.27771
1,00	20.46583	19.88875	20.00500	19.79083	21.03146
2,00	23.36083	22.68875	22.53250	22.61458	23.95646
4,00	25.36083	24.76625	24.27250	24.31333	25.47896



## 1. Linealidad

a. Ecuación de regresión lineal:

$$y = 20.72494 + 7.97813 \log x$$

b. Coeficiente de correlación:

$$r = 0.99593$$

c. Error típico de estimación modificado:

$$S_{x/y} = 0.54953$$

d. Sensitividad

$$= 14.51850$$

e. Inferencia acerca de la ordenada al origen:

$$19.97325 < \beta < 21.47663$$

f. Inferencia acerca de la pendiente

$$7.65589 < \alpha < 8.30037$$

## 2. Repetibilidad

Estadígrafo de contraste  $\chi^2_1$  (ji- cuadrada)

Hipótesis de contraste

$$H_0 : \sigma^2 = \sigma_0^2$$

$$\sigma^2 = (5)^2$$

$$H_1 : \sigma^2 > \sigma_0^2$$

$$\chi^2_1 \text{ calculada} = 13.55029$$

$$\chi^2_1 (0.95) = 23.685$$

Como  $\chi^2_1$  calculada (13.55029) <  $\chi^2_1 (0.95)$  (23.685), se acepta que el método es repetible en el mismo día de estudio.

Repetibilidad en diferentes días

Estadigrafo de contraste  $\chi^2_1$  (ji-cuadrada)

Hipótesis de contraste:

$$H_0 : \sigma^2 = \sigma_0^2$$

$$\sigma^2 = (5)^2$$

$$H_1 : \sigma^2 > \sigma_0^2$$

$$\chi^2_1 \text{ calculado} = 38.70621$$

$$\chi^2_1 (0.95) = 49.802$$

Como  $\chi^2_1$  calculado (38.70621) <  $\chi^2_1 (0.95)$  (49.802), se acepta que el método es repetible en diferentes días.

## 7.5 Estudios de Bioequivalencia

De acuerdo a los lineamientos ya establecidos se efectuaron los estudios de bioequivalencia. Para los cuales se seleccionaron los productos A, B, C, D, E y F que presentaron diferentes comportamientos de disolución (baja, -- media y alta disolución en metanol-solución amortiguadora de fosfatos al 30% v/v por lo cual se consideró que pudieran tener biodisponibilidades diferentes. Los productos B, C y D fueron comparados en el primer estudio y los productos E y F en el segundo estudio, en ambos casos el producto A fue el de referencia.

Los niveles de eritromicina base en plasma se determinaron microbiológicamente por el método de difusión en --- agar utilizando sensidiscos como se indica en la sección 6.3.1.

Los resultados obtenidos al seguir el curso temporal de la concentración plasmática de eritromicina contra tiempo aparecen en el apéndice II.

Los niveles promedio de eritromicina base en plasma después de una dosis única, para el primer estudio son presentados en la Tabla XII y Figura 6; los del segundo estudio son presentados en la Tabla XIII y Figura 7. Debe enfatizarse que los niveles de eritromicina promedio en plasma en la Figura 5 y 6 no pueden compararse directa-

mente por que el diseño experimental impidió que cada uno de los voluntarios recibieran todos los tratamientos.

Para calcular los parámetros farmacocinéticos, la curva de concentración plasmática contra tiempo de cada sujeto se analizó mediante el programa propuesto por Manno y Brown (31) y utilizando una computadora Hewlett Packard 85. Los criterios utilizados para elegir el mejor modelo farmacocinético fueron el coeficiente de determinación y la suma de cuadrados. En la mayoría de los casos se observó que los datos se ajustaron a un modelo abierto de un compartimiento. La constante de eliminación, la constante de absorción y el tiempo de retardo, fueron obtenidos directamente de los datos de la computadora y el tiempo de vida medio fue calculado de acuerdo a la ecuación correspondiente.

La estimación de la concentración plasmática máxima, el tiempo máximo y el área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo para cada sujeto y formulación estudiadas se muestran en las Tablas XIV y XV.

CONCENTRACION PLASMATICA PROMEDIO DE  
ERITROMICINA DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE  
CAPSULAS DE ESTOLATO DE ERITROMICINA  
PRIMER ESTUDIO

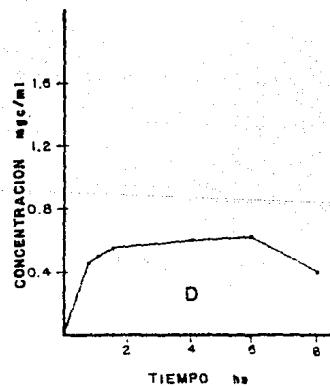
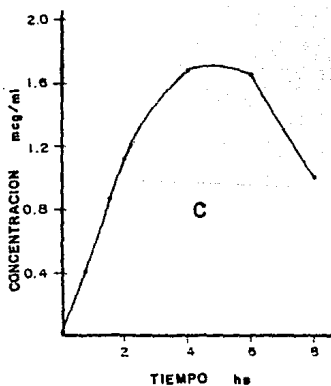
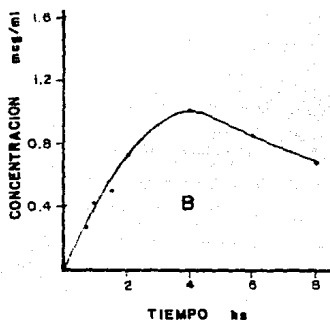
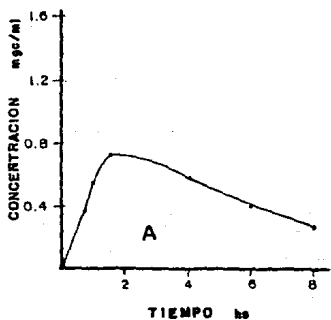


TABLA XII

Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Primer estudio.

Tiempo horas	P R O D U C T O S			
	A	B	C	D
	Concentración (mcg/ml $\pm$ D. E.)			
0.75	0.36083(0.15800)	0.26404(0.25627)	0.39972(0.52127)	0.45505(0.08894)
1.00	0.54167(0.33904)	0.41965(0.36252)	0.80227(0.99555)	0.50508(0.28241)
1.5	0.72488(0.48574)	0.49888(0.39745)	0.86582(0.87423)	0.55153(0.30762)
2.0	0.78252(0.59077)	0.73545(0.47104)	1.12244(0.80729)	0.50630(0.27756)
4.0	0.58139(0.41328)	1.15531(0.00325)	1.68082(0.94137)	0.60085(0.87777)
6.0	0.39299(0.25572)	0.86182(0.82665)	1.66288(0.80798)	0.63148(1.12108)
8.0	0.26776(0.18248)	0.67810(0.78820)	1.04322(0.58191)	0.40714(0.63980)

D.E. desviación estándar

CONCENTRACION PLASMATICA PROMEDIO DE  
ERITROMICINA DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE  
CAPSULAS DE ESTOLATO DE ERITROMICINA  
SEGUNDO ESTUDIO

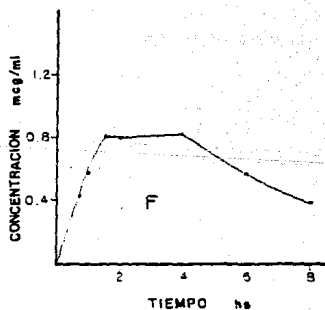
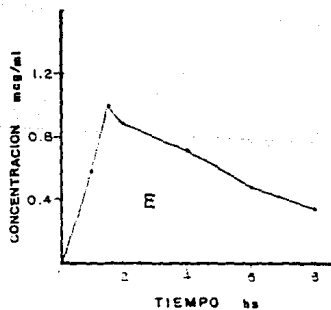
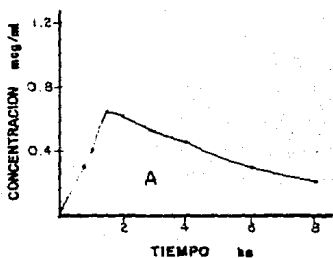


TABLA XIII

Concentración plasmática promedio de eritromicina después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Segundo estudio.

Tiempo Horas	P R O D U C T O S		
	A	E	F
	Concentración (mcg/ml $\pm$ D.E.)		
0.75	0.30515(0.27256)		0.43910(0.42620)
1.00	0.41620(0.21222)	0.58276(0.76421)	0.57836(0.37333)
1.5	0.63712(0.37676)	0.98890(0.63628)	0.80868(0.51849)
2.0	0.61727(0.27194)	0.87967(0.50043)	0.80122(0.57244)
4.0	0.47803(0.25761)	0.71837(0.37024)	0.83410(0.57227)
6.0	0.29196(0.14500)	0.49344(0.24760)	0.57645(0.39507)
8.0	0.22168(0.17620)	0.35715(0.25515)	0.40300(0.29559)

D.E. desviación estándar



TABLA XIV

Concentración plasmática máxima, tiempo máximo y área bajo la curva después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Primer estudio.

Día de estudio		I			II			
Producto	Sujeto	Cp <sub>máx</sub> (mcg/ml)	T <sub>máx</sub> (hr)	ABC <sub>0</sub> <sup>6</sup> (mcg/mlxh)	Sujeto	Cp <sub>máx</sub> (mcg/ml)	T <sub>máx</sub> (hr)	ABC <sub>0</sub> <sup>6</sup> (mcg/mlxh)
A	1	0.45689	1.91950	3.25700	3	1.13094	0.68122	6.09146
	10	0.36745	1.43390	2.27225	5	0.20229	1.64138	0.98504
	11	1.52430	3.05413	7.58380	7	0.53134	1.00552	2.30303
B	4	1.29265	1.25137	6.47128	1	0.51563	2.29438	2.39342
	7	0.03725	0.17326	3.46658	6	2.03216	4.85119	14.05043
	8	0.34524	0.89362	1.69573	12	1.30164	3.75738	9.61033
C	3	0.81381	7.16215	12.36559	2	0.33642	0.96595	1.52406
	9	1.39371	3.58540	9.49936	4	1.46628	1.91047	7.70736
	12	2.19821	3.05413	13.71334	11	2.46423	2.49499	15.53091
D	2	0.35058	0.79625	1.84375	8	0.36012	0.27209	1.55023
	5	0.38683	1.43500	1.91590	9	0.62920	0.90099	2.63088
	6	1.68676	5.84083	14.41459	10	0.64501	0.67855	2.25319

TABLA XV

Concentración plasmática, tiempo máximo y área bajo la curva, después de la administración de cápsulas de estolato de eritromicina. Segundo estudio.

Dia de estudio		I			II			
Producto	Sujeto	Cp <sub>máx</sub> (mcg/ml)	T <sub>máx</sub> (hr)	ABC <sub>0</sub> (mcg/mlxh)	Sujeto	Cp <sub>máx</sub> (mcg/ml)	T <sub>máx</sub> (hr)	ABC <sub>0</sub> (mcg/mlxh)
A	1	0.69634	2.10483	4.07588	2	0.74353	1.71684	3.79781
	4	0.56562	0.67969	2.04253	3	0.42473	1.79801	2.10309
E	2	1.74385	0.53218	8.29449	1	0.87965	0.95501	4.02650
	5	0.29215	1.62630	1.92936	6	0.25777	0.59933	4.29540
F	3	1.01231	3.22239	6.62006	4	0.97147	0.42233	3.68048
	6	1.68023	1.60872	7.83708	5	0.24946	0.40627	1.49354

## 8. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

### 8.1 Pruebas de control de calidad

#### 8.1.1 Valoración microbiológica

De acuerdo a los límites establecidos por la USP XXI, del 90 a 115% de la cantidad equivalente de eritromicina especificada en el marbete, sólo el producto H está por abajo de estos límites.

#### 8.1.2 Variación de peso

De los resultados de la prueba de variación de peso para las cápsulas de estolato de eritromicina, se puede observar que el producto G se encuentra fuera del límite especificado (desviación estándar relativa 6%) por la USP XXI.

#### 8.1.3 Uniformidad de contenido

Se utilizó el método espectrofotométrico para determinar eritromicina en metanol-solución amortiguadora de fosfatos al 30% v/v. Esta prueba sólo se realizó a los 6 productos seleccionados para los estudios de bioequivalencia, y todos ellos cumplieron con la especificación.

#### 8.1.4 Desintegración

De acuerdo a la FNEUM y a la Norma del IMSS, el tiempo de desintegración para cápsulas de estolato de eritromicina en ácido clorhídrico al 0.6% v/v, debe ser menor de

15 minutos, bajo estas condiciones de prueba todos los productos cumplieron con la especificación.

Los productos A, B, D, C, E, F, I y J cumplen con las pruebas de control de calidad por lo cual son farmacéuticamente equivalentes, sin embargo los productos G y H no cumplen con lo establecido en la prueba de variación de peso y valoración microbiológica respectivamente, -- por lo tanto no son medicamentos farmacéuticamente equivalentes, siendo productos que no deberían haber salido al mercado.

## 8.2

Evaluación estadística de la técnica espectrofotométrica

La determinación de eritromicina en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, mostró linealidad satisfactoria en el rango de concentración de 10 a 100 mcg/ml, con un coeficiente de correlación de 0.99695, obteniendo que sólo el 0.6% de la variabilidad de la recta de regresión no puede ser explicada por el modelo.

La dispersión de los datos alrededor de la recta de regresión y la sensibilidad del método, se evaluó con el error típico de estimación modificado  $S_{y/x}$ , el cual tuvo un valor de centésimas lo cual resulta ser apropiado.

Dado que la variación de los datos se estableció a partir del estadístico de prueba  $X^2$  (ji-cuadrada) y éste fue menor al 5%, se concluye que el método es repetible

en el mismo día y en diferentes días de estudio.

### 8.3 Estudio "in vitro": Disolución de los productos de estolato de eritromicina.

Al realizar el perfil de disolución de las cápsulas de estolato de eritromicina por el método propuesto en este trabajo se observó gráficamente, Figura 2, que existen diferencias entre los productos, por lo que se realizó un análisis de varianza para el porcentaje disuelto a los 60 minutos, Tabla XVI, donde se comprobó que existen diferencias significativas en el comportamiento de disolución de los productos estudiados.

Para establecer específicamente cuales son los productos que difieren entre sí en forma significativa se realizó la prueba de la mínima diferencia significativa para el porcentaje disuelto a los 60 minutos. La prueba de la mínima diferencia significativa (DMS) es la diferencia entre 2 medias, basadas en la prueba t de student, empleando el valor de la varianza del error. Este valor se encuentra referido a la distribución de t por la siguiente relación (32):

$$DMS_{\alpha/2} = t_{\alpha/2, gl} \frac{2 s^2}{n}$$

DMS = diferencia mínima significativa para un riesgo determinado

$t_{\alpha/2}$  = valor de la tabla para  $\alpha/2$  y el número de grados de libertad asociado con la media de los cuadrados del error en la tabla del análisis de varianza.

$s^2$  = media de los cuadrados del error residual en la tabla de ANADEV

$n$  = número de observaciones implícito en cada media de tratamientos

$\frac{2s^2}{6}$  = error típico de la media y el factor 2 es por que se están comparando dos medias

Para un nivel de significancia de 0.05 los resultados son los siguientes, en donde los productos bajo una línea común no muestran diferencias significativas:

B	F	A	J	C	G	E	I	D	H
20.72	37.21	40.32	45.89	77.59	80.69	81.98	86.19	89.46	97.17

También se determinó la eficiencia de disolución que es una medida de la velocidad de disolución y de la cantidad disuelta; se obtiene determinando el área bajo la curva del porcentaje disuelto contra tiempo y el área del rectángulo formado en el 100% del tiempo cero al tiempo  $t$  predeterminado:

$$ED = \frac{ABC}{ADR} \times 100$$

ED = eficiencia de disolución

ABC = área bajo la curva

ADR = área del rectángulo

A partir de los porcentajes disueltos de cero a 120 minutos se determinó la eficiencia de disolución de los productos y el análisis de varianza correspondiente se presenta en la Tabla XVII, donde se determinó nuevamente que existen diferencias significativas en el compartimiento de disolución de los productos y al aplicar la prueba de la mínima diferencia significativa con un nivel de significancia de 0.05, los resultados son los siguientes, en donde los productos bajo una línea común no muestran diferencias significativas.

B	F	J	A	C	G	I	E	D	H
17.81	33.80	36.04	38.08	61.02	70.79	73.05	73.20	80.25	82.61

Estos resultados indican que el método es capaz de discriminar entre los productos y pueden ser agrupados en producto de baja velocidad de disolución B; de disolución intermedia A, F y J; y alta velocidad de disolución C, D, E, G, H e I.

Para determinar la cinética de disolución de los productos se obtuvo el porcentaje por disolverse de eritromicina a los diferentes tiempos, obteniendo que todos los productos siguen una cinética de primer orden, Tabla -- XVIII, los resultados son los datos promedios de las -- constantes de disolución individuales. También se realiza un análisis de varianza y la prueba de la mínima diferencia significativa para estos datos, encontrando diferencias significativas entre los productos, Tabla XIX.

J	B	A	E	F	G	H	I	D	C
5.41	7.08	7.69	15.0	15.20	22.60	23.20	30.90	31.33	36.47



TABLA XVI

Análisis de varianza para el porcentaje disuelto de eritromicina a los 60 minutos.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Entre los productos	9	77683.62	8631.513	107.919 b
Dentro de los productos	110	8797.93	79.981	
Total:	119	86481.55		

a. valor crítico:  $F_{0.05}(9,60) = 2.04$  ;  $F_{0.05}(9,120) = 1.96$

b. valor de F significativo al nivel 0.05

gl = grados de libertad

SC = suma de cuadrados

MC = media de cuadrados

F<sub>cal</sub> = la razón de la varianza calculada

TABLA XVII

Análisis de varianza para eficiencia disolución (  $DE_{120}$  )

Fuente de variación	gl	SC	MC	$F_{cal}$
Entre los productos	9	57518.62	6390.9467	141.06804 b
Error dentro de grupo	110	4983.45	45.3040	
Total:	119	62502.07		

Valor crítico:  $F_{0.05(9,60)} = 2.04$  ;  $F_{0.05(9,120)} = 1.96$

b valor de F significativo al nivel 0.05

TABLA XVIII

Valores promedio de las constantes de disolución, coeficiente de correlación y vida media de los productos ( n=11 )

Producto	$K_{\text{disolución}} \times 10^{-3}$ (1/min)	Coefficiente de correlación	$t_{1/2}$ (min)
A	7.69	0.96131	90.12
B	7.08	0.95273	97.88
C	36.47	0.97270	19.00
D	31.33	0.94739	22.12
E	15.00	0.89896	49.20
F	15.20	0.97734	45.59
G	26.6	0.91978	26.05
H	23.2	0.89800	29.87
I	30.90	0.92401	22.43
J	5.41	0.92050	128.10

TABLA XIX

Análisis de varianza para las constantes de disolución.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Entre los productos	9	$1.22 \times 10^{-2}$	$1.36 \times 10^{-3}$	8.56 b
Dentro de los productos	110	$1.59 \times 10^{-2}$	$1.59 \times 10^{-4}$	
Total:	119	$2.81 \times 10^{-2}$		

Valor crítico:  $F_{0.05(9,60)} = 2.04$  ;  $F_{0.05(9,120)} = 1.96$

b valor de F significativo al nivel 0.05.

#### 8.4 Evaluación estadística del método microbiológico

En la determinación de eritromicina en plasma se estableció una relación lineal satisfactoria entre el diámetro del halo de inhibición medio y el logaritmo de la concentración de eritromicina en el rango de 0.05 a 4.0 mcg/ml, con un coeficiente de correlación de 0.99593, obteniendo que sólo el 0.81% de la variabilidad de la recta de regresión no puede explicarse por el método.

A partir del estadístico de prueba  $\chi^2$  (ji-cuadrada) se estableció la variación de los datos y como éste fue menor al 5% se consideró que el método es repetible en el mismo día y en días diferentes de estudio.

#### 8.5 Estudios de bioequivalencia

El análisis de varianza se utilizó para determinar si hay diferencias en la biodisponibilidad de los 6 productos estudiados, en los dos estudios de bioequivalencia.

Cada parámetro de biodisponibilidad; área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (ABC), tiempo al que se alcanza la concentración plasmática máxima ( $t_{m\acute{a}x}$ ) y concentración plasmática máxima ( $C_{p\ m\acute{a}x}$ ), se maneja como la respuesta en un análisis de varianza univariado.

El análisis de varianza para  $ABC$ ,  $t_{\text{máx}}$  y  $Cp_{\text{máx}}$  para el primero y segundo estudio de bioequivalencia se presentan en la tabla XX, XXI, XXII.

El análisis de varianza revela que no hay diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos --- (productos) basados en  $t_{\text{máx}}$  y  $Cp_{\text{máx}}$ . Sin embargo, el análisis de varianza realizado sobre los datos de  $ABC$  de 0 a 8 horas, demostró en ambos estudios diferencias significativas entre los productos.

Debido a lo anterior se efectuó un análisis de varianza entre pares de productos Tabla XXIII donde se observa que hay diferencias significativas entre los productos A y C; B y C; C y D.

Asimismo se realizó un análisis de varianza entre pares de productos probados en el segundo estudio, Tabla XXIV, el cual demuestra diferencias estadísticamente significativas entre los productos A-E, A-F, E-F.

El análisis de varianza para  $ABC$ ,  $t_{\text{máx}}$  y  $Cp_{\text{máx}}$  para el primero y segundo estudio de bioequivalencia se presentan en la tabla XX, XXI, XXII.

El análisis de varianza revela que no hay diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos --- (productos) basados en  $t_{\text{máx}}$  y  $Cp_{\text{máx}}$ . Sin embargo, el análisis de varianza realizado sobre los datos de ABC de 0 a 8 horas, demostró en ambos estudios diferencias significativas entre los productos.

Debido a lo anterior se efectuó un análisis de varianza entre pares de productos Tabla XXIII donde se observa que hay diferencias significativas entre los productos A y C; B y C; C y D.

Asímismo se realizó un análisis de varianza entre pares de productos probados en el segundo estudio. Tabla XXIV, el cual demuestra diferencias estadísticamente significativas entre los productos A-E, A-F, E-F.

TABLA XX

Análisis de varianza para los datos de concentración plasmática máxima (mcg/ml).

Primer estudio					
Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	11	9.504	0.864		
Día de estudio	1	0.024	0.024	0.212	5.32 b
Tratamientos	3	0.510	0.170	1.504	4.07 b
Error	8	0.907	0.113		
Total	23	10.945			

Segundo estudio					
Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	5	1.026	0.205		
Día de estudio	1	0.506	0.506	3.693	10.13 b
Tratamientos	2	0.867	0.433	3.164	9.55 b
Error	3	0.412	0.137		
Total	11	2.811			

b valor de F no significativo al nivel 0.05



TABLA XXI

Análisis de varianza para los datos de tiempo máximo (horas).

## Primer estudio

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	11	45.806	4.164		
Día de estudio	1	2.733	2.733	1.445	5.32 b
Tratamientos	3	9.632	3.211	1.698	4.07 b
Error	8	15.215	1.891		
Total	23	73.296			

## Segundo estudio

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	5	4.456	0.891		
Día de estudio	1	1.252	1.252	2.036	5.32 b
Tratamientos	2	0.566	0.283	0.460	9.55 b
Error	3	1.846	0.615		
Total	11	8.120			

b valor de F no significativo al nivel 0.05

TABLA XXII

Análisis de varianza para los datos de área bajo la curva de 0 a 8 horas (mcg/ml x h)

## Primer estudio

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	11	469.076	42.643		
Día de estudio	1	5.870	5.879	2.510	5.32
Tratamientos	3	61.053	20.351	8.701	4.07 a
Error	8	18.715	2.339		
Total	23	554.714			

## Segundo estudio

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Sujetos	5	29.844	5.969		
Día de estudio	1	10.835	10.835		
Tratamientos	2	16.664	8.332	47.885	9.55 a
Error	3	0.522	0.174		
Total	11	57.865			

a valor de F significativo al nivel 0,05

TABLA XXIII

Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de ABC de 0 a 8 horas. Primer estudio de bioequivalencia.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Productos A-B	1	3.235	3.235	1.383	5.32
Productos A-C	1	53.928	53.928	23.056	5.32 a
Productos A-D	1	3.134	3.134	1.34	5.32
Productos B-C	1	30.745	30.745	13.144	5.32 a
Productos B-D	1	0.0008	0.0008	0.0003	5.32
Productos C-D	1	31.061	31.061	13.279	5.32 a
Error	8	18.716	2.339		

a valor de F significativo al nivel 0.05

TABLA XXIV

Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de ABC de 0 a 8 horas. Segundo estudio de bioequivalencia

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Productos A-E	1	5.944	5.944	34.16	10.13 a
Productos A-F	1	16.439	16.439	94.48	10.13 a
Productos E-F	1	2.613	2.613	15.02	10.13 a
Error	3	0.522	0.174		

a valor de F significativo al nivel 0.05

TABLA XXIV

Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de ABC de 0 a 8 horas. Segundo estudio de bioequivalencia

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>0.05</sub>
Productos A-E	1	5.944	5.944	34.16	10.13 a
Productos A-F	1	16.439	16.439	94.48	10.13 a
Productos E-F	1	2.613	2.613	15.02	10.13 a
Error	3	0.522	0.174		

a valor de F significativo al nivel 0.05

Estos resultados se corroboraron al realizar el análisis de la mínima diferencia significativa, para el primer estudio tenemos:

$$DMS_{0.025,8} = \frac{2.306 \cdot 2(2.339)}{6} = 2.03616$$

$$\begin{aligned} A-B &= 4.11797-5.38982 = 1.27185 \\ A-C &= 4.11797-9.31066 = 5.19269 + \\ A-D &= 4.11797-5.36978 = 1.25181 \\ B-C &= 5.38982-9.31066 = 3.92084 + \\ C-D &= 9.31066-5.36978 = 3.94088 + \\ B-D &= 5.38983-5.36978 = 0.02004 \end{aligned}$$

Para el segundo estudio:

$$DMS_{0.025,3} = 3.1825 \frac{2(0.174)}{4} = 0.938703$$

$$\begin{aligned} A-E &= 2.41598-4.40659 = 1.99061 + \\ A-F &= 2.41598-5.72648 = 3.3105 \\ E-F &= 4.40659-5.72648 = 1.31198 + \end{aligned}$$

De esta manera se encuentra otra vez, que el producto C difiere significativamente de A, B y D, asimismo A es diferente de E y de F y E también difiere significativamente de F.

Considerando que se utilizó un diseño de bloques incompleto balanceado, se determinaron los parámetros farmacocinéticos medios los cuales fueron ajustados por efecto de sujeto y día de estudio, Tabla XXV. En base a -- los parámetros farmacocinéticos medios ajustados para los valores de  $C_{p_{máx}}$  y ABC de 0 a 8 horas, para el producto A, se observa que hay diferencias significativas entre los datos del primero y segundo estudio de bioequivalencia.

TABLA XXV

Parámetros farmacocinéticos medios ajustados por efecto de sujeto y día de estudio.

Primer estudio

Producto	$C_{p\text{máx}}$ (mcg/ml)	$T_{\text{máx}}$ (horas)	$\frac{ABC}{O}$ (mcg/ml x h)
A	0.85486	1.42334	4.11797
B	0.78941	2.00680	5.38982
C	1.24169	3.41097	9.31066
D	0.85916	1.62677	5.36978

Segundo estudio

Producto	$C_{p\text{máx}}$ (mcg/ml)	$T_{\text{máx}}$ (horas)	$\frac{ABC}{O}$ (mcg/ml x h)
A	0.43025	1.50057	2.41598
E	0.7604	0.95202	4.40659
F	1.18863	1.14660	5.27648



El estudio se diseñó considerando el producto A como el de referencia, dado que éste es el innovador, por lo -- tanto se calculó la biodisponibilidad relativa con respecto a éste, asimismo se determinó la biodisponibilidad relativa con respecto al producto C, ya que en los análisis estadísticos realizados, difiere de los demás productos del primer estudio, Tabla XXVI. Para el segundo estudio se consideró la biodisponibilidad relativa con respecto al producto A y el producto F, Tabla XXVII.

TABLA XXVI

Biodisponibilidad relativa para los productos del primer estudio de bioequivalencia.

Producto	$ABC_0^8$ ajustada mcg/ml x h	Biodisponibilidad relativa %
A	4.11797	130.88
B	5.38982	
A	4.11797	
C	9.31066	226.10
A	4.11797	
D	5.36978	130.40
C	9.31066	
A	4.11797	44.23
C	9.31066	
B	5.38982	57.89
C	9.31066	
D	5.36978	57.67

TABLA XXVII

Biodisponibilidad relativa para los productos del segundo estudio de bioequivalencia.

Producto	$\frac{A \cdot B \cdot C}{D}$ ajustada mcg/ml x h	Biodisponibilidad relativa %
A	2.41598	182.39
E	4.40659	
A	2.41598	
F	5.72648	237.03
F	5.72648	
A	2.41598	42.19
F	5.72648	
E	4.40659	76.95

## 8.6 Momentos estadísticos (33, 34, 35)

El procedimiento más común para comparar la velocidad de absorción de un fármaco es el uso de la concentración plasmática máxima ( $C_{p_{máx}}$ ) y tiempo máximo ( $t_{máx}$ ), estos parámetros no son bien definidos para fármacos que muestran concentraciones máximas múltiples.

El análisis de momentos estadísticos puede ser útil al ternativa a  $C_{máx}$  y  $t_{máx}$  para evaluar la velocidad de absorción de diferentes formulaciones con el mismo principio activo ya que los momentos estadísticos son independientes de cualquier modelo farmacocinético y los va lores pueden ser calculados directamente de los datos experimentales.

Por lo antes mencionado se calculó el tiempo de residen cia medio TRM (segundo momento estadístico) para los -- productos estudiados, Tabla XXVIII.

Asimismo se realiza un análisis de varianza para los da tos de TRM, Tablas XXIX, XXXI y un análisis entre par de formulaciones, Tabla XXX, XXXII.

El análisis de varianza para el primer estudio muestra diferencias significativas entre los productos A-B y A-C.

Para el segundo estudio no se encuentran diferencias sig nificativas entre los productos.

TABLA XXVIII

Datos de tiempo de residencia medio para los productos estudiados. Primer estudio.

Día de estudio	I		II			
	Producto	Sujeto	TRM	Producto	Sujeto	TRM
A		1	3.51539		3	3.91866
		10	3.69716	A	5	4.82152
		11	3.71913		7	3.42916
B		4	3.71808		1	4.93016
		7	4.21993	B	6	4.93887
		8	3.08148		12	4.85615
C		3	5.18404		2	3.19440
		9	4.93217	C	4	4.89092
		12	4.35277		11	4.00637
	2	3.95911		8	3.32732	
	5	4.21658		9	3.04027	
	6	4.93691		10	2.78369	

TABLA XXVIII

Datos de tiempo de residencia medio para los productos estudiados. Segundo estudio.

Día de estudio	I		II		
Producto	Sujeto	TRM	Producto	Sujeto	TRM
A	1	3.66171	A	2	3.94404
	4	2.81214		3	5.56800
E	2	3.66492	E	1	3.82276
	5	4.34251		6	3.74549
F	3	4.54769	F	4	3.22515
	6	3.87166		5	3.99915

TABLA XXIX

Análisis de varianza para tiempo de residencia medio. Primer estudio.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Sujetos	11	7.13241	0.64849	
Día de estudio	1	0.04132	0.04132	3.73261
Tratamientos	3	5.32209	0.66526	60.0957
Error	8	0.08858	0.01107	
Total	23	12.58440		

a valor crítico  $F_{(3,8)} = 4.07$  ;  $F_{(1,3)} = 10.13$

TABLA XXX

Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de tiempo de residencia medio. Primer estudio.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Producto A-B	1	0.38530	0.38530	34.80573
Producto A-C	1	1.11296	1.11296	100.53839
Producto A-D	1	0.00989	0.00989	0.89340
Error	8	0.08858	0.01107	

a valor crítico  $F_{0.05(1,8)} = 5.32$



TABLA XXXI

Análisis de varianza para tiempo de residencia. Segundo estudio.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Sujetos	5	1.6229	0.34458	
Día de estudio	1	0.0296	0.0296	0.22031
Tratamientos	2	0.25136	0.12568	0.93547
Error	3	0.40306	0.13435	
Total	11	2.30692		

a valor crítico  $F_{(2,3)} = 9.55$ ;  $F_{(1,3)} = 10.13$

TABLA XXXII

Análisis de varianza para determinar diferencias de los productos. Datos de tiempo de residencia medio. Segundo estudio.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F <sub>cal</sub>
Producto A-E	1	0.07863	0.07863	0.58526
Producto A-F	1	0.25014	0.25014	1.86185
Error	3	0.40306	0.13435	

a valor crítico  $F_{(1,3)} = 10.13$

### 8.7 Correlación "in vitro" - "in vivo"

Para determinar si las diferencias encontradas en la velocidad de disolución de las formulaciones estudiadas con el método descrito en la sección 3.2.5, pueden correlacionarse con los parámetros de biodisponibilidad, los análisis de regresión lineal de los datos se presentan en las Tablas XXXIII y XXXIV.

TABLA XXXIII

Análisis de regresión lineal, para encontrar la correlación "in vitro" - "in vivo". Primer estudio.

Producto	ABC <sub>0</sub> <sup>B</sup>	Porcentaje disuelto (min)			DE <sub>120</sub>	K <sub>dis</sub> x 10 <sup>-3</sup>
		60	90	120		
A	4.11797	43.74	54.85	59.78	38.09	7.69
B	5.38982	20.72	28.44	36.73	17.81	7.08
C	9.31066	77.59	91.48	101.62	61.02	36.47
D	5.36978	89.47	92.58	96.27	80.25	31.33
r		0.44467	0.53036	0.60890	0.33974	0.66175

Producto	Cp <sub>máx</sub>	Porcentaje disuelto (min)			DE <sub>120</sub>	K <sub>dis</sub> x 10 <sup>-3</sup>
		60	90	120		
A	0.85486	43.74	54.85	59.78	38.09	7.69
B	0.78941	20.72	28.44	36.73	17.81	7.08
C	1.24169	77.59	91.48	101.62	61.02	36.47
D	0.85916	89.47	92.58	96.27	80.25	31.33
r		0.52417	0.63369	0.69626	0.40083	0.7385

TABLA XXXIII

## Continuación

Producto	TRM	DE <sub>120</sub>
A	3.77514	38.09
B	4.21406	17.81
C	4.52112	61.02
D	3.70482	80.25
r		0.20478

TRM tiempo de residencia medio.

DE<sub>120</sub> eficiencia de disolución a los 120 minutos.

r coeficiente de correlación.

TABLA XXXIV

Análisis de regresión lineal, para encontrar la correlación  
"in vitro - "in vivo". Segundo estudio.

Producto	ABC <sub>0</sub> <sup>B</sup>	Porcentaje disuelto (min)			DE <sub>120</sub>	K <sub>dis</sub> x 10 <sup>-3</sup>
		60	90	120		
A	2.41598	43.74	54.85	59.78	38.09	7.69
E	4.40659	81.99	84.70	86.98	73.20	15.00
F	5.72648	37.22	56.48	71.52	33.80	15.20
r		-0.32673	0.16427	0.53224	0.01704	0.92725

Producto	ABC <sub>0</sub> <sup>B</sup>	Porcentaje disuelto (min)			DE <sub>120</sub>	K <sub>dis</sub> x 10 <sup>-3</sup>
		60	90	120		
A	0.43025	43.74	54.85	59.84	38.09	7.69
E	0.7604	81.99	84.70	86.98	73.20	15.00
F	1.18863	37.22	56.48	71.52	33.80	15.20
r		-0.20819	-0.02594	0.36052	-0.17305	0.83932

TABLA XXXIV

Continuación

Producto	TRM	DE <sub>120</sub>
A	3.55466	38.09
E	3.78362	73.20
F	3.96302	33.80
r		-0.29044

## 9. CONCLUSIONES

- 9.1 De los diez productos estudiados, únicamente ocho son farmacéuticamente equivalentes.
- 9.2 La prueba de disolución propuesta en este trabajo es capaz de discriminar el comportamiento de disolución entre los productos de estolato de eritromicina. Encontrándose formulaciones de baja (B) media (A, F y J) y alta (C, D, E, G, H e I) velocidad de disolución.
- 9.3 Los productos estudiados son bioequivalentes con respecto al  $t_{\text{máx}}$  y a la  $C_{\text{p máx}}$ .
- 9.4 Los productos estudiados son bioinequivalentes con respecto al ABC de 0 a 8 horas. Para el primer estudio no se encontraron diferencias entre los productos A-B, A-D y B-D, mientras que sí existen diferencias significativas entre A-C, B-C y C-D. Para el segundo estudio se encontraron diferencias significativas entre A-E, A-F y E-F.
- 9.5 De acuerdo al tiempo de residencia medio para el primer estudio existen diferencias significativas entre los -- productos A-B y A-C, sin embargo, para el segundo estudio no hay diferencias entre los productos.
- 9.6 Por lo anterior al comparar los resultados obtenidos se puede observar que el análisis de varianza para el pará



metro de ABC de 0 a 8 horas discierne mejor la bioequivalencia de los productos estudiados, debido a que en algunos casos no está definida la porción final de la curva concentración plasmática-tiempo, por lo cual el TRM no se determinó a tiempo infinito como se propone en la literatura, ya que se introduciría un error grande.

9.7 El cálculo de la biodisponibilidad relativa con respecto al producto A en el primer estudio, demostró que -- los productos B, C y D tienen una biodisponibilidad mayor del orden del 130 al 226%. Al hacerlo con respecto al producto C, las formulaciones mostraron una biodisponibilidad menor, del 44 al 58%.

9.8 El cálculo de la biodisponibilidad relativa con respecto al producto A en el segundo estudio, demostró que los productos E y F tienen una biodisponibilidad mayor del 182 al 237%. Al hacerlo con respecto al producto F, las formulaciones mostraron una biodisponibilidad menor del 42 al 77%.

9.9 Los parámetros de  $C_{p_{máx}}$ ,  $t_{máx}$  y ABC de 0 a 8 horas, ajustados por efecto de sujeto y día de estudio se encuentran dentro del intervalo reportado en la literatura, excepto los valores encontrados para el producto A en el segundo estudio.

- 9.10 Por los resultados obtenidos se cuestiona el uso del producto innovador, como el producto de referencia, debido a que su biodisponibilidad fue menor a la de los otros productos.
- 9.11 Considerando que todos los productos estudiados están fuera del rango establecido para que se considere que no hay diferencias (80 a 120%) entre la formulación probada y la de referencia los productos son bioinequivalentes.
- 9.12 Aunque los productos son bioinequivalentes, éstos alcanzan niveles terapéuticos para su actividad antimicrobiana (concentración mínima inhibitoria) útil en el tratamiento de infecciones de las vías respiratorias y otorrinolaringeas.
- 9.13 No se encontró una correlación "in vitro" - "in vivo" estadísticamente significativa, a pesar de que fueron manejadas diferentes pares de parámetros y métodos, tales como: porcentaje disuelto (60, 90, 120 min)- $ABC_0^8$  horas; porcentaje disuelto (60, 90, 120 min)- $Cp_{máx}$ ; -- eficiencia de disolución a los 120 min-ABC de 0 a 8 horas; eficiencia de disolución a los 120 min- $Cp_{máx}$ ; --  $k_{dis}$ -ABC de 0 a 8 horas;  $k_{dis}$ - $Cp_{máx}$ ; eficiencia de disolución a los 120 minutos.

**RECOMENDACIONES**

Para corroborar las diferencias encontradas en la bio-disponibilidad se propone realizar un estudio con un diseño diferente al utilizado (diseño cruzado o diseño de cuadrado latino) y/o un número mayor de voluntarios.

Modificar la prueba de disolución por ejemplo: cambiar el medio de disolución, tipo de agitación. Con el fin de tratar de establecer una correlación "in vitro" - "in vivo". Lo anterior es necesario por el hecho de que los datos "in vivo" muestran diferencias significativas en los productos estudiados en la cantidad absorbida.

A P E N D I C E I

EVALUACION ESTADISTICA

DE TECNICAS

ANALITICAS

### Apéndice 1. Evaluación estadística de técnicas analíticas

#### 1. Linealidad

$$\hat{y} = Bx + A$$

$$A = \frac{\sum y \sum x^2 - \sum x \sum sy}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$B = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

#### 2. Coeficiente de correlación

$$r^2 = \frac{(\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}))^2}{(\sum (x_i - \bar{x})^2)(\sum (y_i - \bar{y})^2)}$$

$$r = \sqrt{r^2}$$

#### 3. Error típico de estimación modificado

$$\hat{s}_{y/x} = \sqrt{\frac{y^2 - A y - B xy}{n}} \cdot \sqrt{\frac{n}{n-2}}$$

#### 4. Sensitividad

$$f = \frac{B}{s_{y/x}}$$

## 5. Inferencia acerca de la pendiente

$$b \pm t_{\alpha/2} \frac{\hat{s}_{y/x}}{s_x \sqrt{n-1}}$$

$$s_x = 1/n \sum x_i^2 - 1/n (\sum x_i)^2$$

n-2 grados de libertad

## 6. Inferencia acerca de la ordenada al origen

$$a \pm t_{\alpha/2} \hat{s}_{y/x} \sqrt{\frac{x_i^2}{(\sum x_i - x)^2}}$$

n-2 grados de libertad

7. Repetibilidad ( estadígrafo de contraste  $x_1^2$  ).

$$x_{cal}^2 = (n-2) s_y^2 / \sigma_0^2$$

$$s_y = 1/n \left[ \sum y_i^2 - 1/n (\sum y_i)^2 \right]$$

$$\sigma_0^2 = (5)^2$$

n-2 grados de libertad

## A P E N D I C E II

CONCENTRACIONES PLASMATICAS  
DE ERITROMICINA  
EN VOLUNTARIOS SANOS

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "A"  
a seis voluntarios sanos del  
primer estudio

Voluntario	A <sub>1</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>7</sub>	A <sub>10</sub>	A <sub>11</sub>
Tiempo ( hr )	Concentración (mcg/ml)					
0.0	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-
0.5	0.35374	-	-	-	-	-
0.75	0.46279	0.36442	-	0.47966	-	0.13642
1.0	0.49840	1.00395	-	0.52349	0.05529	0.62724
1.5	0.54925	1.1190	-	0.70958	0.23733	1.35120
2.0	0.62353	0.99618	0.13832	0.36763	0.74502	1.82443
4.0	0.49098	0.98848	0.19437	0.33010	0.28643	1.19796
6.0	0.30209	0.68811	0.16212	0.20738	0.25282	0.74540
8.0	0.18158	0.51507	0.13374	0.15748	0.12998	0.48867



Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "B"  
a seis voluntarios sanos del  
primer estudio

Voluntario	B <sub>1</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>6</sub>	B <sub>7</sub>	B <sub>8</sub>	B <sub>12</sub>
Tiempo ( hr )	Concentración (mcg/ml)					
0.0	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	0.52045	-
0.75	-	0.63607	0.15860	0.05487	0.41942	0.05123
1.0	-	1.02009	0.19410	0.44835	0.34439	0.09132
1.5	0.14043	1.27049	0.33017	0.45866	0.33422	0.45488
2.0	0.14678	1.17980	1.31989	0.54317	0.33210	0.89097
4.0	0.51632	1.03712	2.80984	0.54623	0.15667	1.86564
6.0	0.44185	0.73621	2.20576	0.47981	0.13752	1.70380
8.0	0.25850	0.35259	2.11167	0.33123	0.09594	1.08964

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "C"  
a seis voluntarios sanos del  
primer estudio

Voluntario	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>11</sub>	C <sub>12</sub>
Tiempo ( hr )	Concentración (mcg/ml)					
0.0	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-
0.5	0.30861	-	-	-	-	0.17130
0.75	0.32877	0.08279	-	0.09987	1.31586	0.87210
1.0	0.37145	0.11829	-	0.13706	2.20113	1.51773
1.5	0.36370	0.21532	0.06240	0.69119	2.22710	1.65136
2.0	0.26762	0.38949	0.95865	1.02321	2.39518	1.70046
4.0	0.15605	2.74047	1.39326	1.25145	2.36518	2.17850
6.0	0.13913	2.21121	1.36812	2.17698	2.10585	1.96996
8.0	0.08116	1.81300	0.97068	0.95402	0.99767	1.44280

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "D"  
a seis voluntarios sanos del  
primer estudio

Voluntario	D <sub>2</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>9</sub>	D <sub>10</sub>
Tiempo (hr)	Concentración (mcg/ml)					
0.0	-	-	-	-	-	-
0.25	0.11334	-	-	-	-	-
0.5	0.29504	-	0.17756	0.21417	0.53577	0.19411
0.75	0.37007	-	0.45121	0.36428	0.54032	0.54937
1.0	0.40454	0.05895	0.63765	0.36859	0.74972	0.81100
1.5	0.39030	0.17520	0.96673	0.32666	0.61956	0.83074
2.0	0.25276	0.38477	1.01972	0.31232	0.57526	0.49294
4.0	0.22091	0.34208	2.36666	0.17589	0.31555	0.18403
6.0	0.19880	0.23258	2.91847	0.13206	0.17646	0.13056
8.0	0.16106	0.18337	1.71231	0.12453	0.13480	0.12675

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "D"  
a seis voluntarios sanos del  
primer estudio

Voluntario	D <sub>2</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>9</sub>	D <sub>10</sub>
Tiempo (hr)	Concentración (mcg/ml)					
0.0	-	-	-	-	-	-
0.25	0.11334	-	-	-	-	-
0.5	0.29504	-	0.17756	0.21417	0.53577	0.19411
0.75	0.37007	-	0.45121	0.36428	0.54032	0.54937
1.0	0.40454	0.05895	0.63765	0.36859	0.74972	0.81100
1.5	0.39030	0.17520	0.96673	0.32666	0.61956	0.83074
2.0	0.25276	0.38477	1.01972	0.31232	0.57526	0.49294
4.0	0.22091	0.34208	2.36666	0.17589	0.31555	0.18403
6.0	0.19880	0.23258	2.91847	0.13206	0.17646	0.13056
8.0	0.16106	0.18337	1.71231	0.12453	0.13480	0.12675

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "A"  
a cuatro voluntarios sanos del  
segundo estudio

Voluntario	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>
Tiempo (hr)	Concentración (mcg/ml)			
0.0	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-
0.5	0.10626	-	-	0.55142
0.75	0.21321	0.15522	0.14087	0.71129
1.0	0.52039	0.32212	0.17098	0.65131
1.5	1.17677	0.50650	0.30240	0.56282
2.0	0.93350	0.75039	0.43234	0.35283
4.0	0.66552	0.69972	0.39809	0.14880
6.0	0.45172	0.37093	0.21013	0.13506
8.0	0.32193	0.32507	0.11618	0.12353

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "E"  
a cuatro voluntarios sanos del  
segundo estudio

Voluntario	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>6</sub>
Tiempo (hr)	Concentración (mcg/ml)			
0.0	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-
0.75	-	1.52811	0.05613	-
1.0	0.32507	1.72077	0.10327	0.18192
1.5	0.83462	1.81199	0.27395	1.03498
2.0	0.75895	1.51517	0.30578	0.93877
4.0	0.75347	1.17732	0.27471	0.66798
6.0	0.42588	0.84767	0.27014	0.43008
8.0	0.22050	0.73820	0.20704	0.26286

Concentración plasmática de eritromicina después  
de la administración oral del producto "F"  
a cuatro voluntarios sanos del  
segundo estudio

Voluntario	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>6</sub>
Tiempo (hr)	Concentración (mcg/ml)			
0.0	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-
0.5	-	0.09531	0.0840	-
0.75	-	0.92591	0.25858	0.13295
1.0	0.40571	1.12615	0.29623	0.48537
1.5	0.64873	0.87699	0.23318	1.47581
2.0	0.79010	0.63254	0.20593	1.57589
4.0	1.26945	0.50700	0.19683	1.36311
6.0	0.94371	0.28965	0.18418	0.88828
8.0	0.78032	0.19271	0.17129	0.46808

## A P E N D I C E III

 $K_a$ ,  $K_d$ ,  $t_{1/2}$  y  $t_{lag}$ 

PARA CADA

SUJETO Y FORMULACION ESTUDIADA



Constante de absorción, constante de eliminación, tiempo de vida  
 media de eliminación, tiempo de retardo.

Primer estudio

Día de estudio		I				II				
Producto	Sujeto	Ka	Kd	T <sub>1/2</sub>	T <sub>1/lag</sub>	Sujeto	Ka	Kd	T <sub>1/2</sub>	T <sub>1lag</sub>
A	1	0.94323	0.24866	2.78694	0	3	5.92152	0.11325	6.11921	0.68992
	10	0.90677	0.26814	2.58447	0.89415	5	1.92001	0.09621	7.20299	1.52353
	11	1.60156	0.22132	3.13121	0.73199	7	2.84640	0.19862	3.48907	0.19955
B	4	2.07434	0.19830	3.49470	0.50153	1	0.71547	0.26802	2.58563	1.47820
	7	6.30941	5.26539	0.13161	0.73352	6	0.45159	0.07141	9.70452	0.81264
	8	3.37324	0.19750	3.50886	0	12	0.46437	0.13441	5.15587	0.82071
C	3	0.18363	0.10328	6.70991	0.56536	2	2.92180	0.21356	3.24499	0
	9	0.72991	0.06784	10.21521	0.77390	4	1.59215	0.09035	7.67017	1.47707
	12	0.59421	0.15571	4.45058	0.29031	11	0.66972	0.21579	3.21146	0
D	2	4.70430	0.12248	5.65807	0.17580	8	17.16475	0.16834	4.11667	0.45073
	5	1.89747	0.15588	4.44573	1.03768	9	3.02087	0.24849	2.78884	0.15030
	6	0.31199	0.08080	8.57673	0.16574	10	4.22077	0.29714	2.33223	0.43197

Constante de absorción, constante de eliminación, tiempo de vida  
 media de eliminación, tiempo de retardo

Segundo estudio

Día de estudio		I				II				
Producto	Sujeto	Ka	Kd	T <sub>1/2</sub>	T <sub>lag</sub>	Sujeto	Ka	Kd	T <sub>1/2</sub>	T <sub>lag</sub>
A	1	1.02451	0.16936	4.09188	0.27292	2	1.31218	0.19166	3.61578	0.70524
	4	4.42780	0.26068	2.65843	0	3	0.91159	0.30788	2.25088	0.62810
E	2	7.71558	0.13668	5.07024	0.59926	1	2.96772	0.21393	3.23938	0.87718
	5	3.25048	0.01691	40.98167	0.75979	6	6.22652	0.16459	4.21046	0.96959
F	3	0.72595	0.09506	7.29013	0.56292	4	8.79963	0.23650	2.93023	0.48943
	6	1.20183	0.26722	2.59337	0.79995	5	13.37647	0.05980	11.58863	0.47017

## A P E N D I C E IV

## ANALISIS DE VARIANZA

## PARA EL DISEÑO DE

## BLOQUES INCOMPLETOS BALANCEADO

Apéndice IV. Análisis de varianza para el diseño de bloques incompletos balanceado (DBIB).

Cuando en un estudio de biodisponibilidad o bioequivalencia, el número de formulaciones a ser comparado es grande (para fines prácticos grande puede ser mayor de dos o tres) hay varias razones por las que el diseño cruzado (comunmente utilizado en estudios de biodisponibilidad) puede ser impráctico tales razones son:

1. La necesidad de tener  $n-1$  periodos que permitan eliminar totalmente el fármaco, cuando hay  $n$  formulaciones.
2. Por razones médicas no es conveniente la toma de muchas muestras de sangre a cada sujeto.
3. Los sujetos son requeridos varias veces durante el estudio, por lo que la probabilidad de que el sujeto lo abandone antes de terminar es grande.

Por las consideraciones anteriores, cuando varias formulaciones van a compararse el diseño de bloques incompletos balanceado es conveniente, en tal diseño cada sujeto recibe igual número de formulaciones y cada par de formulaciones ocurre a un tiempo en un bloque (sujeto) el mismo número de veces.

Se puede construir un diseño consistente de dos réplicas de un DBIB y con formulaciones (número par) balanceadas sobre semanas. El número de sujetos requeridos es  $2n(2n-1)$ ;  $2n$

es igual a formulaciones.

En el DBIB hay tres factores principales que pueden afectar la cantidad de fármaco absorbido, éstos son el sujeto, la formulación y la semana de administración. El modelo a adoptar en el análisis es por lo tanto:

$$f \text{ (variable de respuesta)} = u + \text{efecto de sujeto} + \text{efecto de semana} + \text{efecto de formulación} + \text{error.}$$

f es la variable de respuesta (área bajo la curva, concentración plasmática máxima, tiempo máximo): u es la media general, se asume que hay q sujetos y s formulaciones y cada sujeto recibe r de las formulaciones.

Cada sujeto recibe un número igual de formulaciones. Cada par de formulaciones se administra una sola vez por bloque (sujeto), dicho par de formulaciones se administra a otro bloque, pero en sentido inverso, para balancear el diseño sobre semanas. El modelo toma la forma:

$$Y_{ijk} = u + S_i + P_j + F_k + E_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = valor asociado del i-ésimo sujeto en el j-ésimo día de estudio con la k-ésima formulación

u = media general

$S_i$  = efecto debido al i-ésimo sujeto,  $i = 1, 2 \dots q$

$P_j$  = efecto debido al j-ésimo día de estudio,  $j = 1, 2 \dots r$

$F_k$  = efecto debido a la  $k$ -ésima formulación,  $k = 1, 2 \dots s$

$E_{ijk}$  = error experimental (independiente y normalmente distribuido con media cero y varianza común).

Con estas suposiciones el análisis de varianza toma la forma -- mostrada en la Tabla 1.

Se utiliza la notación usual, por ejemplo:  $Y_{i..}$  denota la suma de todas las  $r$  observaciones en el  $i$ -ésimo sujeto y  $B_{..k}$  denota la suma de todas las observaciones en todos los sujetos que reciben la  $k$ -ésima formulación, para lo cual hay que considerar -- lo siguiente:

$$Q_k = Y_{..k} - \frac{1}{r} B_{..k}$$

$$\frac{1}{p} B_{..k} = \frac{1}{p} \sum_{ik} Y_{i..}$$

$ik = 1$  cuando el tratamiento aparezca en el bloque

$ik = 0$  de no ser lo anterior

$k = 0$

Regla de decisión: la media de cuadrados para las formulaciones puede ser evaluada contra la media de cuadrados del error

$$H_0 : F_k = 0$$

$$H_a : F_k \neq 0$$

$$F_{cal} = \frac{MC_F}{MC_E}$$

Si  $F_{cal} > F_{1-\alpha; (s-1), (q-1)(r-1)}$  se rechaza  $H_0$

Si  $F_{cal} \leq F_{1-\alpha; (s-1), (q-1)(r-1)}$  no se rechaza  $H_0$

La media de cuadrados para semanas puede ser evaluada contra la media de cuadrados del error de igual manera.

Diferencia entre cualquier par de formulaciones.

Con el análisis de varianza se puede determinar si hay diferencias en el efecto debido a formulaciones, pero no se indica cuando las diferencias específicas entre pares de formulaciones son máximas. En muchos casos son más interesantes -- las diferencias entre cada par de formulaciones, especialmente si uno de ellos es el estándar, o producto de referencia. La diferencia entre cualquier par de formulaciones (formulación A y B) puede determinarse fácilmente al evaluar:

$$\frac{(s-1)}{2(r-1)q} \left( \left( Y_{..A} - \frac{1}{r} B_{..A} \right) - \left( Y_{..B} - \frac{1}{r} B_{..B} \right) \right)^2$$

la cual tiene un grado de libertad contra la suma de cuadrados del error.

#### Cantidad Media Absorbida

Finalmente se puede obtener una estimación de la cantidad media de fármaco absorbido con cada formulación. En un diseño de cuadrado latino esta media se obtiene principalmente, pa-

ra una formulación dada promediando todos los casos de cada una de las formulaciones en el estudio. En el diseño de bloques incompletos balanceado este procedimiento no es válido, la media a determinar debe tomar en cuenta el efecto de sujeto y día de estudio.

La fórmula correcta para la cantidad media absorbida para la K-ésima formulación es:

$$\frac{1}{rq} Y \dots + \frac{(s-1)}{(r-1)q} \left( Y_{..k} - \frac{1}{r} B_{..k} \right)$$



TABLA I. ANALISIS DE VARIANZA PARA EL DISEÑO DE BLOQUES INCOMPLETOS BALANCEADO

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medio de cuadrados	F <sub>cal</sub>
S <sub>i</sub>	s - 1	$\sum_{i=1}^s \frac{Y_{i..}^2}{p} - \frac{Y_{...}^2}{ps}$	SC <sub>S</sub> / gl <sub>S</sub>	
P <sub>j</sub>	p - 1	$\sum_{j=1}^p \frac{Y_{.j.}^2}{s} - \frac{Y_{...}^2}{ps}$	SC <sub>P</sub> / gl <sub>P</sub>	MC <sub>F</sub> / MC <sub>E</sub>
F <sub>k</sub>	t - 1	$\frac{t-1}{s(p-1)} \sum_{k=1}^t (Y_{...k} - \frac{1}{p} B_{..k})^2$	SC <sub>F</sub> / gl <sub>F</sub>	MC <sub>F</sub> / MC <sub>E</sub>
E <sub>ijk</sub>	(s-1)(p-1)-(t-1)	por diferencia	SC <sub>E</sub> / gl <sub>E</sub>	
Total	ps - 1	$\sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^p Y_{ij.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{ps}$		

Como ejemplo se considera un diseño de bloques incompleto balanceado para cuatro formulaciones: A, B, C y D, cada sujeto recibe dos de las cuatro formulaciones en estudio. El diseño se muestra en la Tabla 2, obteniéndose un diseño balanceado de formulaciones sobre semanas de administración.

Tabla 2

Diseño de bloques incompletos balanceado para el estudio de biodisponibilidad de cápsulas de estolato de eritromicina.

Sujeto	Tratamientos	
	Semana I	Semana II
1	A	B
2	D	C
3	C	A
4	B	C
5	D	A
6	D	B
7	B	A
8	B	D
9	C	D
10	A	D
11	A	C
12	C	B

El análisis de varianza que se ejemplifica es para determinar si hay diferencias significativas en el parámetro de biodisponibilidad de área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (mcg/ml x h), Tabla 3.

Tabla 3

Datos de área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (mcg/ml x h) como una función de formulación, día de estudio y sujeto, después de la administración de cápsulas de estolato - de eritromicina (500 mg).

Día de estudio		I		II	
Producto	Sujeto	ABC <sub>0</sub> <sup>o</sup>	Sujeto	ABC <sub>0</sub> <sup>o</sup>	
A	1	3.25700	3	6.09146	
	10	2.27225	5	0.98504	
	11	7.58380	7	2.30303	
B	4	6.47128	1	2.39342	
	7	3.46658	6	14.05043	
	8	1.69573	12	9.61033	
C	3	12.36559	2	1.52406	
	9	9.49936	4	7.70736	
	12	13.71334	11	15.53061	
D	2	1.84375	8	1.55023	
	5	1.91590	9	2.63088	
	6	14.41469	10	2.25319	

Obteniéndose lo siguiente:

$Y_{i..}$  = Total asociado a cada sujeto

$Y_{1..}$  = 5.65042

$Y_{2..}$  = 3.36781

$Y_{3..}$  = 18.45705

$Y_{4..}$  = 14.17864

$Y_{5..}$  = 2.90094

$Y_{6..}$  = 28.46512

$Y_{7..}$  = 5.76961

$Y_{8..}$  = 3.24596

$Y_{9..}$  = 12.13024

$Y_{10..}$  = 4.52544

$Y_{11..}$  = 23.11441

$Y_{12..}$  = 23.32367

$Y_{.j.}$  = Total asociado a cada periodo

$Y_{.1.}$  = 78.49927

$Y_{.2.}$  = 66.63004

$Y_{..k}$  = Total asociado a cada tratamiento

$Y_{..1}$  = 22.49258

$Y_{..2}$  = 37.68777

$Y_{..3}$  = 60.34032

$Y_{..4}$  = 24.60864

$Y_{...}$  = 145.12931

$Y_{ij.}$  = 1432.31930

$$Y_{..1} - \frac{1}{r} B_{..1} = -7.716355$$

$$Y_{..2} - \frac{1}{r} B_{..2} = -2.62894$$

$$Y_{..3} - \frac{1}{r} B_{..3} = 13.05441$$

$$Y_{..4} - \frac{1}{r} B_{..4} = -2.709115$$

$$Y_{..k} - \frac{1}{r} B_{..k} = Q_k = 0$$

El análisis de varianza para los datos de ABC muestra:

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F <sub>cal</sub>
Sujetos	11	469.07559	42.64324	
Día de estudio	1	5.86994	5.86994	2.510
Tratamientos	3	61.05330	20.35110	8.699 b
Error	8	18.71651	2.33945	
Total	23	554.71444		

a valores críticos:  $F_{0.05(1,8)} = 5.32$ ;  $F_{0.05(3,8)} = 4.07$

b valor de F significativo al nivel 0.05

La media de tratamientos ajustada por efecto de sujeto y día de estudio para los datos del ABC de 0 a 8 horas (mcg/ml x h) es:

Formulación	A	4.11797
Formulación	B	5.38982
Formulación	C	9.31066
Formulación	D	5.36978

## A P E N D I C E V

CARTA DE ACEPTACION

PARA PARTICIPAR EN EL

ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
 SUBDIRECCION GENERAL DE ABASTECIMIENTO  
 JEFATURA DE CONTROL DE CALIDAD

AUTORIZACION PARA ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD

El suscrito \_\_\_\_\_  
 de \_\_\_ años de edad, en pleno uso de mis facultades, declaro haber  
 sido informado en forma amplia, clara y sin ningún tipo de coer-  
 ción, acerca de la naturaleza, objetivos y posibles riesgos del --  
 estudio titulado \_\_\_\_\_

Por lo mismo, expreso libremente mi deseo de participar en dicho -  
 estudio y otorgo el consentimiento correspondiente al investigador  
 responsable, en la inteligencia de que conozco mi capacidad y dere-  
 cho para retirar dicho consentimiento de participar en este estu-  
 dio en el momento que yo lo deseeare, sin que ello sea seguido de  
 ningún tipo de penalidad o coerción.

México, D. F., a \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
 Nombre y firma del Voluntario  
 o Paciente

\_\_\_\_\_  
 Nombre y firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
 Nombre y firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
 Nombre y firma del Testigo

## II. BIBLIOGRAFIA

1. Barr, W. H: Bioavailability of Oral Solid Dosage Forms and Clinical Response to Drug Therapy In Swarbrick J. (ed) --- Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences: Dosage -- Form Design and Bioavailability, Lea & Febiger, Philadelphia 1976, pág. 31-75.
2. Wagner, J. G.: Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publications Inc. Hamilton Illinois, -- Second Printing, USA, 1979, pág. 337.
3. Wagner, J. G.: Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics The Hamilton Press, USA 1971, pág. 1-6.
4. Garrot, P. L.; Lambert, H. P.; O'Grady, F.: Antibiotic and Chemotherapy, USA 1975, pág. 167-175.
5. Klaus, F.: Analytical Profiles of Drug Substance, Vol 1 -- Academic Press, USA 1972, pág. 102-117.
6. Meade, R. H.: Drug Therapeutic use of Erythromycin and its Derivatives, Am. J. Hosp. Pharm., 1979; 36:1185-1189.
7. Goodman, L. S.; Gilman, A.: Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Editorial Médica Panamericana, Sexta Edición, - México, 1981, pág. 1197-1200.
8. Ginsburg, C. M.; Eichenwald, H. F.: Erythromycin: A review of its uses in pediatric practice, J. Pediatrics, 1976; 89: 872-884.



9. Robinson, M. M.: Hepatic Dysfunction Associated with ----- Triacetyloleandomycin and Propionyl Erythromycin Ester --- Lauryl Sulfate, Am. J. Med. Sci. 1962; 243: 502-510.
10. Havens, W. P. Jr; Cholestatic Jaundice in Patients treated with Erythromycin Estolate, J.A.M.A. 1962; 180: 30-32.
11. Cid, E. Cárcamo: Cinética de Disolución de Medicamentos, - Monografía Científica No. 24, Serie de Química, Programa - de Desarrollo Científico y Tecnológico, Organización de -- los Estados Americanos, Washington, D. C., 1982, pág. 1-3.
12. Garzón, A.; Román, F.: Disolución Comparativa de Cápsulas de Estolato de Eritromicina y Correlación con Niveles Sanguíneos, Rev. Soc. Quim. Méx., 1980: 24 (2): 82-86.
13. Card, Martha E.: Estudio de Disolución de Formas Farmacéuticas Sólidas de Estolato de Eritromicina Existentes en el Mercado Nacional, Tesis de Licenciatura QFB, 1985.
14. Wagner, J. G.: Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics The Hamilton Press, USA 1971, pág. 98.
15. Wiegans, R. G.; Chun, A. H.: Serum Protein Binding of Erythromycin and Erythromycin 2' Propionate Ester, J. Pharm. Sci. 1972: 61 425-428.
16. Welling, P. G.; Elliot, R. L.; Pitterle, H. P.: Plasma Levels Following Single and Repeated Doses of Erythromycin Estolate and Erythromycin Stearate, J. Pharm. Sci., 1979; 68: 150-155.

17. Welling, P. A.; Craing, W. A.: Pharmacokinetics of Intravenous Erythromycin, *J. Pharm. Sci.*, 1978; 67: 1057-1059.
18. Gordon, R. S.; Regamey, C.; Kerby, W. M.: Serum Protein Binding of Erythromycin, Leucomycin and Clindamycin, *J. Pharm. Sci.*, 1973; 62 1074-1077.
19. Garrot, P. L.; Lambert, H. P.; O'Grady, F.: Antibiotic - and Chemotherapy, USA 1975, pág. 167-175.
20. Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, Cuarta Edición, Secretaría de Salubridad y Asistencia, México --- 1974, pág. 756.
21. The United States Pharmacopeia XXI, January 1, 1985, pág. 393.
22. Yakatan, G. J.; Poyner, W. J.; Harris, R. G.; et al.; --- Single-Dose Fasting Bioequivalence Assesment of Erythromycin Stearate Tablets in Man, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, -- 1979; 7: 355-368.
23. Fraser, D. G.: Selection of an Oral Erythromycin Product, *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1980; 37: 1199-1205.
24. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, PLM, Trigésima Edición, Ediciones P. L. M., S. A., México 1984.
25. Norma IMSS, Medicinas, Eritromicina (estolato) cápsulas -- 01/M1 365. 1971.

26. Norma IMSS, Métodos Generales para Análisis de Medicamentos. Prueba de Desintegración O1/M5.424.
27. Kuzel, R. N.; Woodside, J. M.; Concer, J. P.; Spectrophotometric Determination of Erythromycin in Pharmaceutical Products, *Ant. and Chemo.*, 1954; 4: 1234-1241.
28. Bell, S. C.; Hanman, J. W.; Grundy, W. E.: Micromethod -- for Assaying Serum Levels of Erythromycin, *Appl. Microbiol.* 1969; 17: 88-92.
29. Westlake, W. J.: The Use of Balanced Incomplete Block Designs in Comparative Bioavailability Trials, *Biometrics*, 1974; 30: 319-329.
30. Westlake, W. J.: The Design and Analysis of Comparative - Blood Level Trial In Swarbrick (ed) *Current Concepts Design and Bioavailability*, Lea & Febiger, Philadelphia --- 1976, pág. 149-179.
31. Brown, R.D.; Manno, J. E.: Estrip, a Basic Computer for - Obtaining Initial Polliexponential Parameter Estimates, *J. Pharm. Sci.*, 1978; 67: 1687-1691.
32. Cid, E. Cárcamo: Introducción a la Farmacocinética, *Monografía Científica No. 25, Serie Biología, Programa de Desarrollo Científico y Tecnológico. Organización de los - Estados Americanos Washington, D. C., 1982, pág. 93-95.*

33. Riegelman, S. Collier, P.: The Application of Statistical Moment Theory to the Evaluation of *in vivo* Dissolution -- Time and Absorption Time J. Pharmacokin. Biopharm., 1980; 8: 509-534.
34. Vila, J. L., Martínez, R.; Jiménez, I; Llabrés, M.: MANOVA of Statistical Moments in Biopharmaceutical Studies: A Numerical Example with Three Equally Spaced Doses of Amoxicillin, J. Pharmacokin Biopharm, 1980; 8: 411-420.
35. Jackson J.; Chen, M.: Application of Moment Analysis in - Assessing Rates of Absorption for Bioequivalency Studies, J. Pharm Sci., 1987; 76:6-9.