



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA CIUDAD UNIVERSITARIA

DISOLUCION COMPARATIVA DE FORMAS FARMACEUTICAS SOLIDAS CONTENIENDO CLORHIDRATO DE TETRACICLINA

293031

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA; DUARTE REYNOSO ELVIRA

ASESORA DE TESIS: DRA. HELGI HELEN JUNG COOK



MEXICO, D.F.



AÑO 2001

EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

JURADO ASIGNADO:

Presidente Dra. Helgi Helen Jung Cook.  
Vocal M. C. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado.  
Secretario M. C. José Manuel Morales Hernández  
1<sup>er</sup> Suplente M. C. Luis Jesús García Aguirre.  
2<sup>do</sup> Suplente M. C. Liz Jannet Medina Reyes.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Laboratorio de Biofarmacia  
Departamento de Farmacia, Edificio "E"  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

Sustentante:

Duarte Reynoso Elvira



Asesor del tema:

Dra. Helgi Helen Jung Cook



*Este trabajo lo dedico a mi esposo:*

*Fernando, gracias por todo el apoyo, cariño y comprensión, gracias por ayudarme a ser mejor cada día y gracias por amarme como yo te amo.*

*Y quiero agradecer:*

*A la Dra. Helgi Jung Cook, por todos sus consejos y ayuda que me brindo durante la realización de esta tesis.*

*A mis padres por enseñarme que el estudio es un tesoro que dura toda la vida.*

*A mis hermanas por su compañía y alegría.*

**ÍNDICE**

Lista de tablas	iv
Lista de figuras	v
<b>1.0 Introducción.</b>	<b>1</b>
<b>2.0 Generalidades.</b>	<b>2</b>
2.1 Monografía del clorhidrato de tetraciclina.	2
2.2 Propiedades fisicoquímicas	3
2.3 Propiedades farmacológicas	3
2.3.1 Uso clínico	3
2.3.2 Efectos colaterales	4
2.3.3 Interacciones	4
2.4 Propiedades farmacocinéticas	5
2.4.1 Absorción	5
2.4.2 Distribución	5
2.4.3 Metabolismo	6
2.4.4 Eliminación	6
2.4.5 Disolución y Biodisponibilidad	7
2.5 Disolución	8
2.5.1 Importancia de las pruebas de disolución	9
2.5.2 Factores que afectan la disolución	10
2.6 Pruebas de disolución para formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata	13
2.6.1 Determinación de la solubilidad de un fármaco	14
2.6.2 Determinación de la permeabilidad de un fármaco	17
2.6.3 Pruebas de disolución para productos de liberación inmediata	17

---

2.6.3.1 Características de la prueba de perfil de disolución	18
2.6.3.2 Comparación de perfiles de disolución	19
2.6.4 Excepciones de Biopharmaceutics Classification System (BCS)	19
2.7 Panorama actual	20
<b>3.0 Parte experimental</b>	<b>25</b>
3.1 Selección de los medicamentos	25
3.2 Pruebas de control de calidad	26
3.2.1 Uniformidad de dosis	26
3.2.2 Valoración	28
3.3 Estudios de disolución	30
3.3.1 Instrumentos y equipos	30
3.3.2 Reactivos y sustancias de referencia	31
3.3.3 Preparación del medio de disolución	31
3.3.4 Validación del método analítico para cuantificar el clorhidrato de tetraciclina en medio de disolución	31
3.3.5 Linealidad del método	34
3.3.6 Estabilidad del clorhidrato de tetraciclina en medio de disolución	36
3.3.7 Perfil de disolución	38
<b>4.0 Resultados</b>	<b>39</b>
4.1 Control de calidad	39
4.2 Validación del método analítico para la cuantificación de clorhidrato de tetraciclina en agua	40
4.3 Influencia del filtro	48
4.4 Estudios de perfil de disolución	47



<b>5.0 Análisis de resultados</b>	<b>50</b>
5.1 Control de calidad	50
5.2 Validación del método analítico para la cuantificación de clorhidrato de tetraciclina en agua	50
5.2.1 Linealidad del sistema	50
5.2.2 Precisión del sistema	51
5.2.3 Linealidad del método	51
5.2.4 % de recobro	52
5.2.5 Estabilidad del clorhidrato de tetraciclina en agua	52
5.3 Estudios del perfil de disolución	53
5.3.1 Perfiles de disolución	53
<b>6.0 Conclusiones</b>	<b>55</b>
<b>7.0 Bibliografía</b>	<b>56</b>



## LISTA DE TABLAS

Tabla I Medicamentos utilizados en el estudio	25
Tabla II Curva de calibración para clorhidrato de tetraciclina	33
Tabla III Curva patrón utilizando la técnica del estandar adicionado	35
Tabla IV Uniformidad de contenido	41
Tabla V Resultados de valoración	42
Tabla VI Linearidad del sistema	42
Tabla VII Linearidad del método	44
Tabla VIII % de recobro	44
Tabla IX Estabilidad del clorhidrato de tetraciclina	48
Tabla X Resultados de % disuelto contra tiempo	49
Tabla XI Análisis de varianza para la linealidad entre dos días	53
Tabla XII Valores de " f " comparando los lotes en estudio con el producto B	57

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Linearidad del sistema en medio de disolución (agua)	43
Figura 2. Linearidad del método para el producto A	45
Figura 3. Linearidad del método para el producto B	45
Figura 4. Linearidad del método para el producto C	46
Figura 5. Linearidad del método para el producto D	46
Figura 6. Linearidad del método para el producto E	45
Figura 8 Perfiles de disolución de los productos conteniendo clorhidrato de tetraciclina (lote 1)	50
Figura 9 Perfiles de disolución de los productos conteniendo clorhidrato de tetraciclina (lote 2)	51

# INTRODUCCIÓN



## 1.0 INTRODUCCIÓN

La prueba de disolución es un método de control aprobado en las Farmacopeas, para formas farmacéuticas sólidas. Es un proceso que refleja el comportamiento de la solubilidad de un fármaco en un medio de disolución y nos permite, junto a otras pruebas de control de calidad aceptar o rechazar un lote de medicamento. Esta prueba refleja de alguna manera, el comportamiento de solubilización del fármaco en el organismo y cuando existe correlación in vivo-in vitro puede ser un predictor de la biodisponibilidad. El clorhidrato de tetraciclina es uno de los fármacos cuya biodisponibilidad es susceptible a factores de formulación ; esto es muy importante ya que repercute directamente en la respuesta clínica del paciente. Así mismo en la literatura existen estudios que indican que la disolución es un indicador de la biodisponibilidad de este fármaco.

El clorhidrato de tetraciclina es utilizado en la terapia de diferentes enfermedades infecciosas. Entre las que se ha comprobado que es útil están: fiebre Q, psitacosis, algunas infecciones causadas por estreptococos y estafilococos, algunos tipos de peritonitis, gonorrea, infecciones oculares, actinomicosis y acné. También es eficaz también contra algunos microorganismos resistentes a antimicrobianos que son activos contra la pared bacteriana como *Rickettsia*, *Coxiella burnetti*, y *Mycoplasma pneumoniae*.

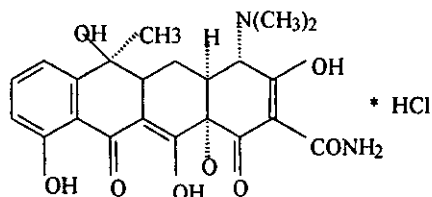
Considerando que en la actualidad existen seis diferentes marcas conteniendo este fármaco como único principio activo y una de ellas se comercializa en la Farmacia de Similares, se llevo a cabo el siguiente estudio, cuyo objetivo fue evaluar la equivalencia farmacéutica de los productos existentes en el mercado nacional.

# GENERALIDADES

## 2.0 GENERALIDADES.

### 2.1 MONOGRAFÍA DEL CLORHIDRATO DE TETRACICLINA.

#### CLORHIDRATO DE TETRACICLINA



Formula condensada:  $C_{22}H_{25}ClN_2O_8 \cdot (C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl)$

Peso molecular: 480.9

La tetraciclina se obtiene de la fermentación de especies *Strptomyces*; no obstante normalmente se produce a partir de la hidrólisis de la clortetraciclina

Es el antibiótico más popular del grupo de las tetraciclinas, debido a que su concentración sanguínea es mayor y más prolongada que la oxitetraciclina y la clortetraciclina. <sup>(23)</sup>

Nombres comerciales: Tetrex, Educiclina, Ambotetra, Quimocyclar, Tetra-Atlantis, Acromicina. <sup>(10)</sup>

Nombre genérico: Clorhidrato de tetraciclina. <sup>(10)</sup>

## 2.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS:

Es un polvo amarillo, cristalino, moderadamente higroscópico de sabor amargo. Los valores de pKa para el clorhidrato de tetraciclina en agua a 25 °C son 3.30, 7.68 y 9.69.

Solubilidad.- Es muy soluble en agua, soluble en carbonatos alcalinos y prácticamente insoluble en alcohol y éter.

Estabilidad.- Estable al aire, pero con la exposición a la luz y a la humedad produce soluciones alcalinas que contienen hidróxidos. <sup>(33)</sup>

## 2.3 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:

La tetraciclina es un compuesto con actividad bacteriostática. Se piensa que ejerce su acción por inhibición de la síntesis proteica de la bacteria. Su acción antimicrobiana es muy diversa y amplia. Actúa contra bacterias grampositivas y gramnegativas así como en microorganismos aerobios y anaerobios. <sup>(23)</sup>

2.3.1 USO CLÍNICO.- La tetraciclina es útil en el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas como: psotacosis, algunas infecciones causadas por estreptococos y estafilococos, algunos tipos de peritonitis, gonorrea, infecciones oculares, actinomicosis, acné y colera. <sup>(19, 23)</sup>

2.3.2 EFECTOS COLATERALES.- Al ser administrada oralmente puede producir irritación gastrointestinal en algunos individuos, presentándose síntomas como: anorexia, náuseas, glositis, disfagia, vómito y diarrea.

En la piel puede presentar exantema cutáneo o maculopapular y eritematoso. Con menor frecuencia se ha reportado dermatitis exfoliativa.

Si se administra por tiempo prolongado se produce daño hepático, lo cual se manifiesta mediante la formación de vacuolas pequeñas e incremento en grasa.

La tetraciclina se deposita en áreas calcificadas de dientes causando una coloración amarilla, también se deposita en huesos, por lo que no se recomienda su uso en niños. <sup>(23)</sup>

2.3.3 INTERACCIONES.- Tomando en consideración que los antibióticos bacteriostáticos pueden interferir con la acción bactericida de las penicilinas, es recomendable evitar la administración conjunta.

Debido a que las tetraciclinas han demostrado disminuir la actividad de la protrombina plasmática en aquellos pacientes que están bajo terapia anticoagulante, se recomienda disminuir la dosis de los anticoagulantes. Dado que la tetraciclina forma quelatos con metales divalentes como calcio, magnesio, zinc, etc. por lo que no se recomienda su administración conjunta con anti ácidos, leche y sus derivados. <sup>(19, 23)</sup>



## 2.4 FARMACOCINÉTICA

2.4.1 ABSORCIÓN.- La tetraciclina se absorben en el tracto gastrointestinal. Gran parte de la absorción se lleva a cabo en el estómago, duodeno y yeyuno. La absorción es mayor cuando se administra en ayunas. Conforme aumenta la dosis, el porcentaje no absorbido del fármaco se incrementa. <sup>(23)</sup>

El clorhidrato de tetraciclina se absorbe incompleta e irregularmente después de su administración oral. La absorción se reduce por iones metálicos como: calcio, magnesio, aluminio, zinc o hierro, ya que estos forman quelatos con la tetraciclina. La absorción también se ve disminuida en presencia de leche y productos lácteos que contienen cantidades considerables de calcio o magnesio. Mattila y cols. <sup>(25)</sup> reportaron que la ingestión de 300 mL de leche con 500 mg de tetraciclina reduce los niveles sericos en un 50-60%, así mismo Jung y cols. <sup>(22)</sup> demostraron que volúmenes pequeños de leche, (16 mL) añadidos a 200 mL de café o té, disminuyen los niveles sericos en un 40-50% .

2.4.2 DISTRIBUCIÓN.- Se distribuye en forma amplia en todo el cuerpo, en tejidos y secreciones, incluyendo orina y líquido prostático. Este fármaco se acumula en células reticuloendoteliales de hígado, bazo y médula ósea, y en huesos (23).

El volumen de distribución de las tetraciclinas es relativamente mayor que el agua corporal, indicando la reclusión del fármaco en algún tejido.  $V_d=1.5\pm 0.08$  L/kg El porcentaje de unión a proteínas plasmáticas está en el rango de  $65\pm 3$  % . <sup>(23)</sup>

Los niveles máximos en sangre se alcanzan de 2-4 hrs. después de una dosis única de 250 mg . Los niveles encontrados después de una dosificación múltiple fueron de 3-5 µg/mL, cuándo se administró inicialmente una dosis de 500 mg cada 8 hrs. por vía oral. <sup>(19)</sup>

2.4.3 METABOLISMO.- No se han encontrado datos reportados de los metabolitos formados en humanos.

2.4.4 ELIMINACIÓN.- La vía principal de eliminación es el riñón, en donde se elimina vía filtración glomerular y en menor cantidad por vía fecal. Se ha reportado que el valor de depuración es de  $1.67 \pm 0.24 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$  y el tiempo de vida media es de  $10.6 \pm 1.5$  hrs. (23). Se ha demostrado que la excreción urinaria ( $58 \pm 8\%$ ) de la tetraciclina es un indicador confiable de la biodisponibilidad de este antibiótico y puede ser directamente correlacionado con los niveles del fármaco en sangre. <sup>(19)</sup>

## 2.4.5 DISOLUCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD.

Estudios de disolución realizados con el clorhidrato de tetraciclina, muestran que la velocidad de disolución de este principio activo se ve modificada por los excipientes presentes en la formulación. En un estudio realizado en nuestro país Dorantes y cols. <sup>(11)</sup> llevaron a cabo un estudio en el cual se evaluaron 14 productos del mercado nacional que contenían 250 mg de tetraciclina como único principio activo, encontrando diferencias significativas en los perfiles de disolución, además de que el 53 % de los productos estudiados no cumplían con las especificaciones de la USP dado que su disolución fue inferior al 70% en 60 min. Así mismo se ha encontrado que la prueba de disolución es un indicador de la biodisponibilidad de este fármaco. <sup>(11,19)</sup>

Existen numerosos reportes en la literatura que indican el clorhidrato de tetraciclina presenta varios problemas de biodisponibilidad. <sup>(19,20,21,22;23 y 25)</sup> Estos pueden deberse a los efectos de los adyuvantes, las diferentes formas cristalinas o a los efectos de los iones metálicos, por tal motivo. Recientemente se han llevado a cabo estudios en los que se demuestra que los niveles plasmáticos de tetraciclina disminuyen con una dieta mexicana, debido principalmente a la gran cantidad de calcio que esta tiene. <sup>(21)</sup> Así mismo se llevo a cabo un estudio con café y jugo de naranja debido a la gran cantidad de calcio que contiene este ultimo,

pero no se observó una disminución en los niveles plasmáticos; debido a que el calcio del jugo de naranja se encontraba unido al ácido cítrico, por lo que la cantidad de calcio libre era muy pequeña. <sup>(20)</sup>

## 2.5 DISOLUCIÓN

La disolución puede definirse como "Pérdida de la cohesión de un sólido bajo la acción de un líquido, que conduce a la dispersión homogénea en estado molecular o iónico". <sup>(1)</sup>

Existen dos tipos de disolución: la intrínseca y la aparente. En la primera se determina la velocidad de disolución del fármaco puro, manteniendo una área de superficie constante, mientras que en la segunda se determina la velocidad de disolución del fármaco el cual se encuentra dentro de la forma farmacéutica, la cual se ve afectada por los excipientes presentes en la formulación. A la prueba de disolución intrínseca se le conoce también como prueba de disolución verdadera y es utilizada en la evaluación de nuevos fármacos y para lograr la optimización de nuevas formas farmacéuticas <sup>(1)</sup>. Mientras que la disolución aparente evalúa la cantidad de fármaco disuelto en función del tiempo. En la práctica, lo que interesa medir es el porcentaje de fármaco disuelto, lo cual proporciona información acerca de posibles problemas de absorción del fármaco a partir de la forma farmacéutica en el organismo.

### 2.5.1 IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS DE DISOLUCIÓN.

La creencia de que el principio activo es lo que asegura la efectividad biológica de un producto farmacéutico, ha disminuido notablemente, debido a que existen en la bibliografía varios estudios que comprueban que el efecto terapéutico de un fármaco, esta condicionado por la velocidad de liberación de este, por lo que se considera que la prueba de disolución es básica para asegurar la calidad de los medicamentos que finalmente llegan a las farmacias publicas, privadas y hospitales. <sup>(1,19 y 28)</sup>

La FEUM marca como prueba de disolución el tomar una muestra en un solo tiempo y determinar la cantidad de fármaco disuelto, pero esta prueba no proporciona suficiente información acerca de la velocidad de disolución de un fármaco por lo que se utiliza una prueba llamada perfil de disolución, en la cual se toman muestras a diferentes tiempos y se cuantifica la cantidad de fármaco, con el objeto de realizar un seguimiento de cómo se disuelve el fármaco a lo largo del tiempo bajo condiciones constantes de temperatura y velocidad. Esta prueba se utiliza principalmente para cumplir con Buenas Practicas de Manufactura en diferentes fases de estudio, tales como: <sup>(1,3,29)</sup>

-Desarrollo de nuevos fármacos: y de nuevas formulaciones con el fin de evaluar la liberación del fármaco de la forma farmacéutica.

-Control de calidad, para determinar si existen diferencias de lote a lote.

-Evaluación de bioequivalencia. La prueba de disolución no implica un sustituto ideal de la biodisponibilidad, pero ha llegado a ser la mejor arma disponible como indicador potencial de problemas en la absorción del fármaco. (28)

### 2.5.2 FACTORES QUE AFECTAN LA DISOLUCIÓN.

Se ha encontrado que para muchos fármacos disolución es el paso limitante de la absorción y se puede ver afectada por diferentes factores. A continuación se definen los más importantes: <sup>(1,3)</sup>

#### a) Propiedades fisicoquímicas del fármaco.

-TAMAÑO de partícula.- Existe una relación directamente proporcional entre el área superficial del fármaco y el porcentaje disuelto. Generalmente al incrementar el área superficial la disolución aumenta, lo cual fundamenta el uso de la técnica de micronización para fármacos poco solubles. Por ejemplo, la griseofulvina es insoluble en agua pero al micronizarla aumenta su área superficial y por lo tanto aumenta la velocidad de disolución.

-FORMA ANHIDRA O HIDRATADA.- Se ha demostrado que la forma anhidra se disuelve más rápidamente que la forma hidratada ya que tiene moléculas a su alrededor.

-POLIMORFISMO.- Se ha demostrado que el estado amorfo, cristalino, y la estructura polimórfica tienen una influencia significativa en el porcentaje disuelto. Se ha encontrado que las formas amorfas de novobiocina, griseofulvina, fenobarbital y cloramfenicol tienen una mayor disolución que las respectivas formas cristalinas.

b) Factores relativos a la forma farmacéutica.-

Existen varios factores que influyen en la disolución de las formas farmacéuticas. Los más importantes se describen a continuación:

-DILUYENTES: Se utilizan para ganar volumen, por ejemplo para producir tabletas de tamaño aceptable. Levy, estudio el efecto del diluyente sobre la disolución de tabletas de ácido salicílico y encontró que al aumentar el contenido de diluyente de un 5-20% la velocidad de disolución aumentaba.

-DESINTEGRANTES: Se utilizan para causar un efecto desintegrante en la tableta cuando esta se expone a ambientes acuosos. Bolluis en demostró la eficacia del almidón de papa ya que permite la penetración del agua dentro de la tableta lo cual da como resultado una rápida desintegración y disolución de la tableta.

-COMPACTADORES Y AGENTES GRANULANTES: Son sustancias que se adicionan para impartir cohesión a las moléculas de la formulación. Estas se pueden dividir en productos naturales como soluciones de gelatina, almidón, y

azúcar y productos sintéticos como goma de acacia, goma de tragacanto, polietilenglicol y carboximetilcelulosa.

-LUBRICANTES: reducen la fricción entre las moléculas y previenen la adhesión. Se utilizan en la mayoría de los casos para favorecer a las propiedades reológicas del principio activo. Los lubricantes se adicionan en cantidades pequeñas aproximadamente 1% o menos. Levy and Gumtow, investigaron el efecto de los diferentes lubricantes en la velocidad de disolución de tabletas de ácido salicílico. Ellos encontraron que el estearato de magnesio (lubricante hidrofóbico) retarda la velocidad de disolución de las tabletas.

-FACTORES DEL PROCESO DE FABRICACIÓN.- Los métodos de granulación, tamaño, densidad, así como la fuerza utilizada en la compresión contribuye a la velocidad de disolución del producto final. Marlowe y Shangraw estudiaron la disolución de tabletas de salicilato de sodio preparadas por granulación y por compresión directa; encontrando que las tabletas fabricadas por compresión directa presentaron una disolución más rápida que las preparadas por granulación.



## **2.6 PRUEBAS DE DISOLUCIÓN, PARA FORMAS FARMACEUTICAS SÓLIDAS DE LIBERACIÓN INMEDIATA.**

La liberación del principio activo de una forma farmacéutica sólida de administración oral depende de las siguientes condiciones fisiológicas: como la permeabilidad a través del tracto gastro intestinal y la solubilidad del fármaco a pH fisiológico. Es por ello que para algunos fármacos una prueba de disolución in vitro, puede ayudar a predecir la biodisponibilidad in vivo. Basándose en estas consideraciones la FDA ha publicado en agosto del 2000 la guía " Waiver of in vivo bioequivalence studies of immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system." <sup>(15)</sup>, la cual esta dirigida a los fabricantes que requieren una exención de los estudios in vivo, utilizando correlaciones con pruebas realizadas in vitro. Esta guía contiene los requisitos para clasificar un fármaco conforme al sistema de clasificación biofarmaceutica (BCS por sus siglas en ingles) y conocer si se le puede otorgar la exención del estudio in vivo. A continuación se presenta un resumen de la guía:

La clasificación es la siguiente: (15, 28)

CLASE	FÁRMACO	Correlación in vivo/in vitro
1	Alta solubilidad y alta permeabilidad	Buena absorción, se sustituye prueba en humanos por la de disolución in vitro.
2	Baja solubilidad y alta permeabilidad	El paso limitante es la disolución por lo tanto no se sustituye prueba en humanos PRUEBA DE DISOLUCIÓN
3	Alta solubilidad y baja permeabilidad	Permeabilidad limitada, no se sustituye prueba en humanos. PRUEBA DE BIODISPONIBILIDAD
4	Baja solubilidad y baja permeabilidad	Problemas de absorción, importante realizar prueba en humanos.

### 2.6.1 DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE UN FÁRMACO.

El objetivo de la clasificación BCS es determinar la solubilidad de un fármaco bajo las condiciones fisiológicas de pH, por lo que se determina el perfil de pH-solubilidad a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  en medios de disolución en el rango de pH 1-7.5

Por ejemplo: si el pKa de un fármaco está en el rango de 3-5, se debe determinar la solubilidad, del fármaco a,  $\text{pH} = \text{pKa} + 1$ ,  $\text{pH} = \text{pKa} - 1$ ,  $\text{pH} = 1$  y  $\text{pH} = 7.5$ . Se

deben realizar un mínimo de tres determinaciones en cada condición. Dependiendo de variabilidad del estudio, en algunos casos se requiere llevar a cabo una repetición adicional puede ser necesaria para proporcionar una estimación confiable de solubilidad. La concentración del fármaco en el buffer seleccionado se debe determinar usando un indicador de estabilidad, para distinguir los productos de degradación

CRITERIO: Un fármaco se considera altamente soluble cuando una dosis alta se solubiliza en 250 mL en el rango de pH= 1-7.5.

#### 2.6.1 DETERMINACIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE UN FÁRMACO IN SITU.

La permeabilidad de un fármaco se puede determinar en humanos usando un balance de masa. Otros métodos, incluyen estudios in vivo, in situ, o utilizando modelos animales convenientes, como ratas y/o usando métodos de permeabilidad in vitro, en los cuales se trabaja con tejidos intestinales o líneas mono-celulares del epitelio.

En muchos casos, es suficiente llevar a cabo un solo método, por ejemplo si el valor de la biodisponibilidad absoluta es mayor a 90%, y más del 90% del fármaco se recupera en orina.

Los siguientes estudios ayudan a determinar la permeabilidad del fármaco:

1. Estudios farmacocinéticos en humanos.
2. Determinación de la permeabilidad intestinal.

Para determinar la permeabilidad intestinal de un fármaco, pueden utilizarse los siguientes métodos:

- a) Estudios in vivo de perfusión intestinal en humanos.
- b) Estudios in vivo o in situ de perfusión intestinal, utilizando modelos animales.
- c) Estudios in vitro de permeabilidad, usando tejidos intestinales de animales o humanos.
- d) Estudios in vitro de permeabilidad, utilizando cultivos de líneas celulares, como por ejemplo la CACO<sub>2</sub>.

**CRITERIO:** Un fármaco se clasifica como altamente permeable cuando la absorción intestinal en humanos es de 90% o más, utilizando un balance de masa o bien cuando se compara contra la vía intravenosa.

## 2.6.2 PRUEBAS DE DISOLUCIÓN PARA PRODUCTOS DE LIBERACIÓN INMEDIATA.

Existen tres pruebas de disolución que marca la guía de la FDA:

1. Prueba de disolución de un solo punto.

Es una prueba rutinaria de control de calidad, para fármacos altamente solubles que se disuelven rápidamente.

2. Prueba de disolución de dos puntos.

Es una prueba rutinaria de control de calidad, para cierto tipo de productos como polvos solubles en agua y fármacos que se disuelven lentamente.

3. Comparación de perfiles de disolución.

La comparación de perfiles de disolución tiene varias aplicaciones como:

- a) Aprobación de productos, a los cuales se les han realizados cambios en la formulación y/o en su proceso de manufactura.
- b) Como un requisito para excentar de la prueba de bioequivalencia a fármacos de amplio margen terapéutico.

### 2.6.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA DE PERFILES DE DISOLUCIÓN.

Para llevar a cabo la prueba, se deben utilizar los aparatos marcados en la USP (<711> Disolución), en el Aparato I (canastilla), la prueba debe llevarse a cabo a 100 rpm y en el Aparato II (paletas) a 50 rpm. El volumen marcado es de 900 mL de los siguientes medios de disolución: 1.- HCl 0.1 N o el Fluido Gástrico Simulado sin las enzimas; 2.- un buffer pH 4.5; y 3.- un buffer pH 6.8 o el Fluido Intestinal Simulado sin enzimas. Para las cápsulas y tabletas recubiertas con gelatina, se utilizan fluidos gástricos e intestinales simulados con enzimas.

Para apoyar la exención de la prueba de bioequivalencia, se debe evaluar un mínimo de 12 unidades de dosificación de un producto. Para llevar a cabo el perfil de disolución se deberán tomar varias muestras a intervalos de tiempo suficientes para lograr caracterizar la disolución del producto.

### 2.6.3.2 COMPARACIÓN DE PERFILES DE DISOLUCIÓN.

Para comparar el producto de prueba con el de referencia, se deben comparar los perfiles de disolución, usando un factor de similitud ( $f_2$ ). El factor de similitud es una transformación de la raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma de los errores cuadrados y es una medida de la similitud en por ciento (%) de disolución entre las dos curvas.

$$f_2 = 50 \log \{ [1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0.5} * 100 \}$$

Los dos perfiles de disolución se consideran similares si el valor del  $f_2$  es mayor a 50. Para utilizar los datos de los perfiles, el coeficiente de variación no debe ser mayor al 20% en el primer punto, y al 10% en los siguientes puntos.

### 2.6.4 EXCEPCIONES DEL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN

La clasificación biofarmaceutica no se aplica en los siguientes casos:

- a.) Fármacos con estrecho margen terapéutico.
- b.) - Productos Diseñados para su absorción en la cavidad bucal.

## 2.7 PANORAMA ACTUAL

En 1998 la Secretaria de Salud (SS), publicó en el diario oficial de la federación, el Acuerdo por el que se relacionan las especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al catálogo de medicamentos genéricos intercambiables y se determinan las pruebas que deberán aplicárseles.

A continuación se describen los requisitos que deben cumplir los productos farmacéuticos: <sup>(2)</sup>

Los medicamentos que no requieren someterse a pruebas de disolución o bioequivalencia, son los siguientes :

- a) Las soluciones acuosas para uso parenteral, en las que se mantengan las condiciones del medicamento innovador.
- b) Las soluciones orales exentas de excipientes conocidos que modifiquen los parámetros farmacocinéticas.
- c) Los gases.
- d) Los medicamentos tópicos de uso no-sistémico, cuya absorción no implique riesgos.
- e) Los medicamentos para inhalación en solución acuosa.
- f) Los medicamentos para inhalación en suspensión, que demuestren que el tamaño de la partícula es equivalente con el innovador.



Los medicamentos que deben someterse a pruebas de perfil de disolución son todos los sólidos orales, con excepción de los que se encuentren en alguno o más de los supuestos señalados a continuación.

Los medicamentos que deberán someterse a pruebas de bioequivalencia son:

- a) Los medicamentos sólidos orales, con fármacos que requieran para su efecto terapéutico de una concentración estable y precisa, por tener un margen terapéutico estrecho.
- b) Los medicamentos empleados para enfermedades graves.
- c) Los medicamentos de los cuales se tenga conocimiento por reportes previos, que tienen problemas de biodisponibilidad, como es el caso cuando presentan una pobre absorción, un efecto de primer paso acentuado, metabolismo hepático mayor al 70%, eliminación presistémica; ventana de absorción y cinética no lineal.
- d) Los medicamentos que presenten propiedades fisicoquímicas adversas, como baja solubilidad, inestabilidad y otras similares.
- e) Los medicamentos que tengan una forma farmacéutica de liberación modificada.
- f) Los medicamentos que presenten una proporción elevada de excipientes respecto al principio activo.

- g) Los medicamentos que sean de administración tópica para efecto sistémico, supositorios, parches transdérmicos, geles de aplicación en mucosas y otros similares.
- h) Las combinaciones fijas de principios activos para acción sistémica.
- i) Los medicamentos que sean de administración tópica de efecto no sistémico, cuya absorción sea, los cuales deberán de demostrar mediante un estudio de biodisponibilidad su no absorción.
- j) Los antibióticos en presentación sólida con vía de administración oral, que previamente a la prueba de bioequivalencia deberán realizar, como parte de las pruebas de control de calidad un estudio de concentración mínima inhibitoria.

En el segundo artículo del Acuerdo se presentan los medicamentos y las pruebas que deben de realizarse para incorporarse al catálogo de genéricos intercambiables. En ellos las pruebas estan indicadas con una letra y se presentan a continuación:

CLASE	REQUISITOS
A	Buenas practicas de fabricación.
B	Perfil de disolución.
C	Bioequivalencia y perfil de disolución.

El clorhidrato de tetraciclina se encuentra dentro de los medicamentos que requieren un estudio de Bioequivalencia y perfil de disolución, para su inclusión en el grupo los genéricos intercambiables (2).

Los medicamentos que requieren perfil de disolución para su inclusión en el catálogo de genéricos intercambiables son los siguientes (clase B):

Generico	Forma farmaceutica
1. Acido acetil salicilico	Gragea o tableta con capa entera.
2. Acido acetil salicilico	Tableta.
3. Acido ascórbico	Tableta.
4. Acido folico	Tableta.
5. Alopurinol	Tableta de 300 mg.
6. Alopurinol	Tableta de 100 mg.
7. Ambroxol	Tableta.
8. Bezafibrato	Tableta.
9. Bromhexina	Tableta.
10. Clortalidona	Tableta.
11. Dimenhidrinato	Tableta de 50 mg.
12. Fenazopiridina	Tableta.
13. Furosemida	Tableta.
14. Indometacina	Capsula.
15. Ketoprofeno	Capsula.
16. Loratadina	Tableta o gragea.
17. Metamizol	Tableta.
18. Metocarbamol	Tableta.
19. Metronidazol	Tableta vaginal.
20. Naproxeno	Tableta.
21. Paracetamol	Tableta.
22. Penicilamina	Tableta.
23. Ranitidina	Gragea o tableta.
24. Sulindaco	Gragea o tableta.

# PARTE EXPERIMENTAL



### 3.0 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 SELECCIÓN DE MEDICAMENTOS

Para llevar a cabo el estudio, se evaluaron 10 lotes provenientes de cinco marcas conteniendo clorhidrato de tetraciclina como principio activo. La forma farmacéutica seleccionada fue cápsulas de 250 mg .

En la tabla I se muestran los medicamentos utilizados para la prueba los cuales se adquirieron por compra directa.

LABORATORIO	NOMBRE COMERCIAL	No. DE LOTE
Atlantis	Tetra-Atlantis	672505
	A	672509
Bristol	Tetrex	FC0022
	B	EL9100
Cilag de México	Ambotetra	003013
	C	006076
Tecnofarma (marca Aurrera)	Educiclina	CA0384
	D	FA0586
Grossman (farmacia de similares)	Quimocyclar	OC1492
	E	OB1454B

## **3.2 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD**

Las pruebas de control de calidad que se realizaron a los lotes fueron las siguientes:

\*Uniformidad de dosis

\*Valoración

### 3.2.1 UNIFORMIDAD DE DOSIS ( Uniformidad de contenido).

#### 3.2.1.1 Equipo.

Balanza Analítica. Sartorius Mod. A210p

Espectrofotómetro. Beckman UV/VIS. Mod DU68.

#### 3.2.1.2 Reactivos.

Agua destilada.

Clorhidrato de tetraciclina, sustancia de referencia, potencia 995 µg/mg, lote 040900. Distribuidor: Laboratorios Nacionales.

#### 3.2.1.3 Método

Dado que no se contaba con una de las sustancias de referencia 4-epianhidrotetraciclina, y a que el método espectrofotométrico ha demostrado ser

confiable y repetible, se utilizó este último para la cuantificación del clorhidrato de tetraciclina.

#### 3.2.1.3.1 Preparación de la solución de la muestra problema.

Tomar al azar 10 unidades de dosificación del producto y realizar el siguiente procedimiento para cada cápsula. Pesar el equivalente a 20 mg de clorhidrato de tetraciclina, transferir dicha masa a un matraz aforado de 100 mL y llevar a volumen utilizando agua destilada como disolvente. De la solución anterior tomar un mililitro y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL aforando con agua destilada.

La concentración resultante es de 20  $\mu\text{g}$  /mL.

#### 3.2.1.3.2 Preparación de la solución de referencia.

Pesar exactamente 20 mg de clorhidrato de tetraciclina, sustancia de referencia, transferir dicha masa a un matraz aforado de 100 mL y llevar a volumen utilizando agua destilada como disolvente, de la solución anterior tomar un mililitro y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL aforando con agua destilada.

La concentración resultante es de 20  $\mu\text{g}$  /mL.

#### 3.2.1.3.3 Procedimiento.

Determinar las absorbancias de la solución de la muestra problema y de la solución de referencia, en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 380 nm, utilizando una celda de cuarzo de 1 cm y como blanco agua destilada.



### 3.2.1.3.4 Cálculos

Para calcular los miligramos de clorhidrato de tetraciclina por unidad farmacéutica se utiliza la siguiente formula:

$$\text{mg de clorhidrato de tetraciclina/peso unitario} = \frac{(AP/AS) \times C \times FD \times P}{CM}$$

Donde:

AP= Absorbancia de la muestra problema.

AS= Absorbancia de la solución de referencia.

C= Concentración final de la sustancia de referencia.

FD= Factor de dilución.

P= Peso en mg de la cápsula.

CM= Cantidad de muestra en mg.

Nota: Para el % obtenido con respecto al marbete se utilizo la siguiente relación:

mg de clorhidrato de tetraciclina ( marbete ) ----- 100 %

mg de clorhidrato de tetraciclina (muestra) ----- X

## 3.2.2 VALORACIÓN

### 3.2.2.1 Equipo.

Igual al inciso 3.2.1.1

### 3.2.2.2 Reactivos.

Igual al inciso 3.2.1.2

### 3.2.2.2 Método

#### 3.2.2.3.1 Preparación de la solución de la muestra problema.

Tomar al azar 15 unidades de dosificación del producto a evaluar y realizar una mezcla homogénea de la cual se tomará el peso equivalente a 20 mg de clorhidrato de tetraciclina y continuar como se indica en el inciso 3.2.1.3.1. Para obtener la concentración de 20 µg/mL.

#### 3.2.2.3.2 Preparación de la solución de referencia.

Preparar la solución como se indica en el inciso 3.2.1.3.2.

#### 3.2.2.3.3 Procedimiento.

Proceder como se indica en el inciso 3.2.1.3.3

#### 3.2.2.3.4 Cálculos

Para calcular los miligramos de clorhidrato de tetraciclina por unidad farmacéutica se utilizó la siguiente fórmula:

mg de clorhidrato de tetraciclina/peso promedio  $\cdot \frac{(AP/AS) \times C_x}{FD \times PP}$

CM

Donde:

AP= Absorbancia de la muestra problema.

AS= Absorbancia de la solución de referencia.

C= Concentración final de la sustancia de referencia.

FD= Factor de dilución.

P= Peso promedio en mg de las cápsulas.

CM= Cantidad de muestra en mg.

Nota: Para el % obtenido con respecto al marbete se utilizo la siguiente relación:

mg de clorhidrato de tetraciclina ( marbete ) ----- 100 %

mg de clorhidrato de tetraciclina (muestra) ----- X

### **3.3 ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN**

#### **3.3.1 INSTRUMENTOS Y EQUIPO**

Balanza Analítica. Sartorius Mod. A210p

Espectrofotómetro. Beckman UV/VIS. Mod DU68.

Disolutor Vankel @800

Muestreadores de 9.0 cm de longitud. Milipore.

Filtros de teflón. Milipore.

### 3.3.2 Reactivos y sustancias de referencia

Clorhidrato de tetraciclina, sustancia de referencia, potencia 995  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , lote 040900. Distribuidor: Laboratorios Nacionales.

Agua destilada.

### 3.3.3 Preparación del medio de disolución.

Para la prueba de disolución se utilizó agua destilada, como lo marca la Farmacopea de los Estados Unidos USP 24.

### 3.3.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANÁLITICO PARA CUANTIFICAR EL CLORHIDRATO DE TETRACICLINA EN MEDIO DE DISOLUCIÓN

La validación del método analítico se divide en pruebas para sistema y pruebas para el método

Los parámetros empleados para validar el sistema fueron:

- \*Linealidad.
- \*Precisión evaluada como repetibilidad.

Los parámetros que se determinaron para la validación del método fueron:

- \*Linealidad
- \*Exactitud evaluada como % de recobro.

### 3.3.4.1 Linearidad del sistema

Para evaluar este parámetro, se prepararon tres curvas de calibración independientes con las siguientes concentraciones de clorhidrato de tetraciclina 2, 10, 20, 40, 60  $\mu\text{g/mL}$ . Teniendo como criterio de aceptación un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo no mayor al 3%.

#### 3.3.4.1.1 Procedimiento

Preparación de la solución concentrada:

Pesar con exactitud 20 mg de sustancia de referencia de clorhidrato de tetraciclina, colocarlos en un matraz de 100 mL y llevar a volumen utilizando agua destilada. La concentración de esta solución es de 200  $\mu\text{g/mL}$ .

Preparar las curvas efectuando las diluciones que se indican en la tabla II, a partir de la solución concentrada.

Tabla II. Curva de calibración para clorhidrato de Tetraciclina.

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )
1.0	100	2
5.0	100	10
1.0	10	20
2.0	10	40
3.0	10	60

Las absorbancias se determinaron en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 380 nm , utilizando una celda de cuarzo de 1 cm.

Para cada una de las curvas, se calculó el coeficiente de determinación, y el de correlación.

#### 3.3.4.2 Precisión evaluada como repetibilidad

La repetibilidad es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones ( analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.). Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

Determinación de la precisión como repetibilidad : Realizar por triplicado cada concentración de la curva mostrada en la tabla II y determinar las absorbancias de estas soluciones, en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 380 nm, utilizando una celda de cuarzo de 1 cm, y como blanco agua destilada, donde el coeficiente de variación no debe ser mayor que el 3%.

### 3.3.5 Linealidad del método.

Para llevar a cabo, esta determinación se requiere contar con el placebo, es decir todos los constituyentes de la formulación además del principio activo. Dado que no fue posible conocer los aditivos de cada uno de los laboratorios se utilizó el MÉTODO DE ESTANDAR ADICIONADO. (6, 7, 8, 9, y 12) En este método se utiliza la forma farmacéutica a evaluar, a la cual se le adiciona una solución de estándar de concentración conocida, teniendo como resultado una suma de absorbancias ( absorbancia del clorhidrato de tetraciclina presente en la forma farmacéutica + absorbancia del clorhidrato de tetraciclina en la solución estándar). De la curva anterior se obtienen los valores del coeficiente de determinación, la pendiente y el intercepto.

La curva de estandar adicionado se compara con una curva de sistema, donde la linealidad se determina con el coeficiente de determinación mayor o igual que 0.99 y el valor de las pendientes de las dos curvas deben ser aproximadamente iguales.

#### 3.3.5.1 Procedimiento

\*Preparación de la solución de la muestra concentrada.

Pesar el equivalente a 20 mg de clorhidrato de tetraciclina, colocarlo en un matraz aforado de 50 mL y llevar a volumen con agua destilada, para obtener una concentración de 400µg/mL.

\*Preparación de la solución estándar concentrada.

Pesar con exactitud 25 mg de sustancia de referencia de clorhidrato de tetraciclina, colocar este peso en un matraz aforado de 50 mL y llevar a volumen con agua destilada, para obtener una concentración de 500 µg/mL.

La tabla III, Curva patrón utilizando la técnica del estándar adicionado.

Alícuota muestra (mL)	Alícuota estándar (mL)	Aforo (mL)	Concentración µg/mL
1.0	3.0	50	8
2.0	3.0	50	16
3.0	3.0	50	24
4.0	3.0	50	32
5.0	3.0	50	40

Las absorbancias se determinaron en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 380 nm , utilizando una celda de cuarzo de 1 cm.

Para cada una de las curvas, se calculó el coeficiente de determinación y el de correlación.



### 3.3.5.2 Exactitud del método evaluada con el % de Recobro

Para el % de Recobro en el método de estándar adicionado, se empleó el valor del intercepto de las curvas planteadas en la tabla III, utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ Recobro} = \frac{I \times 100}{A_{est}}$$

A<sub>est</sub>.

Donde:

I= Intercepto de la curva con estándar adicionado.

A<sub>est</sub>= Absorbancia del estándar.

Para los métodos espectrofotometricos el % de recobro debe encontrarse dentro del siguiente rango 97-103%.

Nota: Si el valor del intercepto es mayor al esperado, indicará que algún componente de la formulación esta absorbiendo a esta longitud de onda y por lo tanto interfiere en la determinación.

Este procedimiento se llevo acabo para cada uno de los productos estudiados.

### 3.3.6 ESTABILIDAD DEL CLORHIDRATO DE TETRACICLINA EN MEDIO DE DISOLUCIÓN.

#### 3.3.6.1 Equipo.

Balanza Analítica. Sartorius Mod. A210p

Espectrofotómetro. Beckman UV/VIS. Mod DU68.

### 3.3.6.2 Reactivos.

Agua destilada.

Clorhidrato de tetraciclina, sustancia de referencia, potencia 995  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , lote 040900. Distribuidor: Laboratorios Nacionales.

### 3.3.6.3 Método

#### 3.3.6.3.1 Preparación de la solución de referencia.

Pesar exactamente 20 mg de clorhidrato de tetraciclina, sustancia de referencia, transferir dicha masa a un matraz aforado de 100 mL y llevar a volumen utilizando agua destilada como disolvente, de la solución anterior tomar un mililitro y colocarlo en un matraz aforado de 10 mL aforando con agua destilada.

La concentración resultante es de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### 3.3.6.3.2 Procedimiento.

Determinar las absorbancias de la solución de referencia, en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 380 nm, utilizando una celda de cuarzo de 1 cm y como blanco agua destilada, el día que se preparó, guardar en el refrigerador y leer a los siguientes tiempos: 2, 3, y 4 hrs. y posteriormente cada 24 hrs. durante una semana.

### 3.3.6.3.3 Cálculos

Igual al inciso 3.2.1.3.4

### 3.3.7 PERFIL DE DISOLUCIÓN

El estudio se llevó a cabo de acuerdo a lo indicado en la USP 23 <sup>(13)</sup>, utilizando el aparato II ( paletas ), un volumen de medio de disolución (agua destilada) de 900 mL a una velocidad de 75 rpm y una distancia de las paletas del fondo del vaso de  $45 \pm 5$  mm.

#### 3.3.7.1 Procedimiento

- A cada uno de los vasos se transfirió un volumen de 900 mL de medio de disolución, previamente desgasificado.
- Se encendió el equipo programándolo con las condiciones de la prueba inciso 3.3.5.
- Una vez que se obtuvo la temperatura de 37 °C, se colocaron las unidades de dosificación (con 30 segundos de diferencia entre cada una) utilizando clips para mantener las cápsulas en el fondo del vaso de disolución.
- Para determinar el perfil de disolución se tomaron muestras de 3 mL a los siguientes tiempos: 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 y 120 min. las cuales se diluyeron 1:10 para su posterior análisis utilizando un método espectrofotométrico previamente validado.

# RESULTADOS

## 4.0 RESULTADOS

### 4.1 CONTROL DE CALIDAD

En la tabla IV se presentan los resultados de uniformidad de contenido de dosis de los productos en estudio, mientras que la tabla V se presentan los resultados de la valoración.

Tabla IV. Uniformidad de contenido.

MARCA	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2
Unidad	%		%		%		%		%	
1	98	101	96	93	86	105	93	99	94	99
2	90	112	96	99	92	104	98	94	93	101
3	104	104	92	94	92	103	106	99	97	97
4	96	103	94	100	94	112	101	96	96	92
5	100	100	97	96	96	101	107	97	96	95
6	93	106	99	94	99	100	98	92	95	105
7	106	105	105	94	93	100	99	98	95	104
8	99	102	96	98	95	107	99	94	94	95
9	103	105	103	96	93	108	97	93	95	99
10	95	104	97	96	95	103	99	98	96	103
Promedio	99	104	97	96	93	104	100	96	95	99

DER	5.5	2.2	3.7	2.3	3.4	3.4	3.9	2.3	1.2	4.2
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tabla V. Resultados de valoración.

Producto	A %	B %	C %	D %	E %
Lote 1	103	101	98	93	96
Lote 2	101	100	105	101	98

#### 4.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE TETRACICLINA EN AGUA.

En la tabla VI. Resultados de linealidad del sistema en dos días diferentes.

Concentración (µg/mL)	Absorbancia día uno	Absorbancia día dos	Promedio día uno	Promedio día dos
2	0.038	0.038	X=0.037	X=0.038
	0.037	0.037		
	0.037	0.038	%C.V.=1.5	%C.V.=1.2
10	0.182	0.184	X=0.182	X=0.184
	0.182	0.184		
	0.181	0.184	%C.V.=0.2	%C.V.=0.2
20	0.372	0.365	X=0.371	X=0.366
	0.371	0.369		
	0.371	0.364	%C.V.=0.1	%C.V.=0.6
40	0.755	0.708	X=0.754	X=0.716
	0.754	0.723		
	0.752	0.717	%C.V.=0.2	%C.V.=0.9
60	1.109	1.065	X=1.105	X=1.062
	1.099	1.062		
	1.107	1.060	%C.V.=0.4	%C.V.=0.2
			R <sup>2</sup> =0.9998	R <sup>2</sup> =0.9999

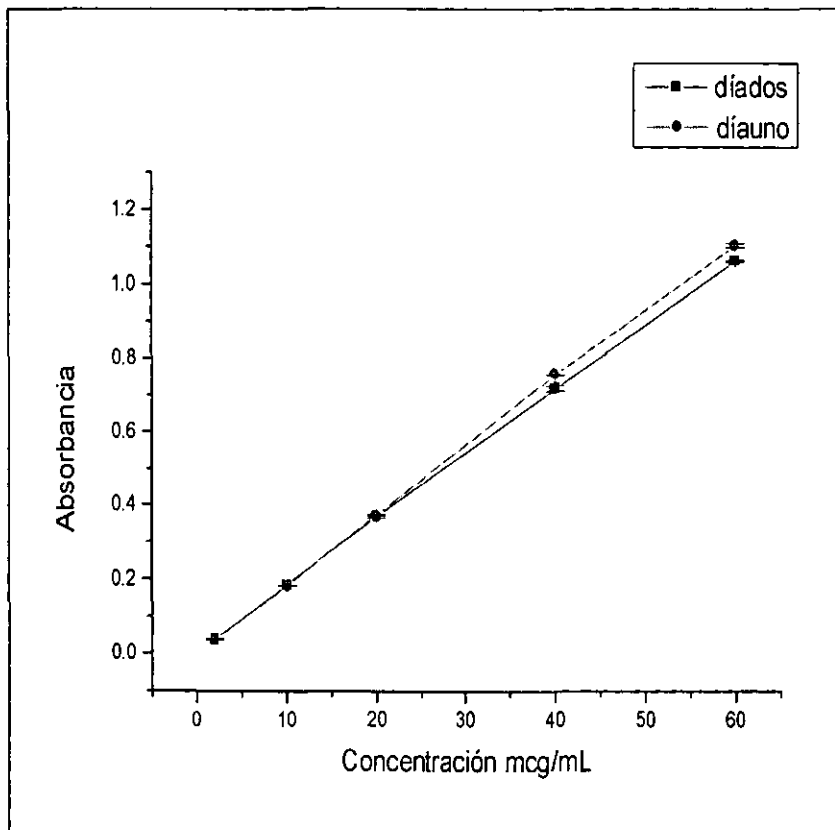


Figura 1. Linealidad del sistema para la cuantificación del clorhidrato de tetraciclina en medio de disolución (agua).

En la tabla VII se presentan los resultados promedio de la linealidad del método, utilizando la técnica del estándar adicionado, mientras que en la tabla VIII se muestra el % de recobro. Las figuras 2-6 muestran la linealidad de cada una de las marcas.

MARCA	Pendiente	Intercepto	R <sup>2</sup>
E	0.0187	0.5588	0.9999
D	0.0174	0.5641	1.0000
C	0.0181	0.5622	0.9996
B	0.0186	0.5485	0.9996
A	0.0185	0.5499	0.9992
Criterio			≥0.98

Tabla VIII. Resultados del % de recobro.

MARCA	% Promedio	%C.V.
E	100.3	0.24
D	100.4	0.18
C	102	1.08
B	99.5	0.33
A	99.6	0.26
Criterios	97-103%	≤ 3%



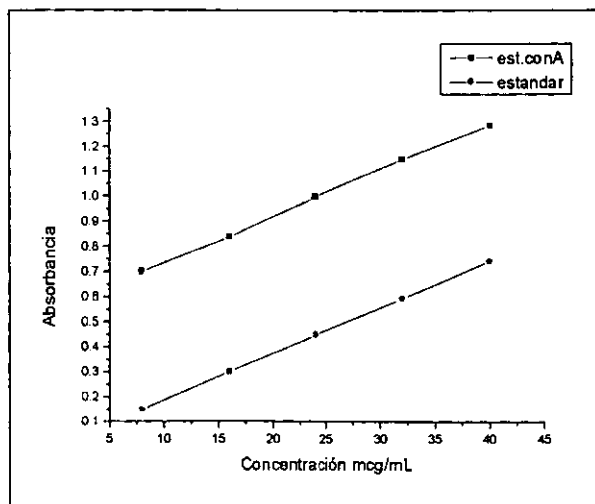


Figura 3. Linearidad del método analítico para la cuantificación del producto A

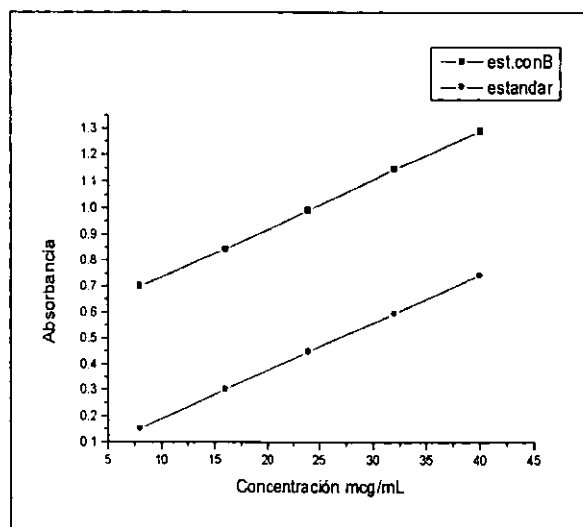


Figura 3. Linearidad del método analítico para la cuantificación del producto B

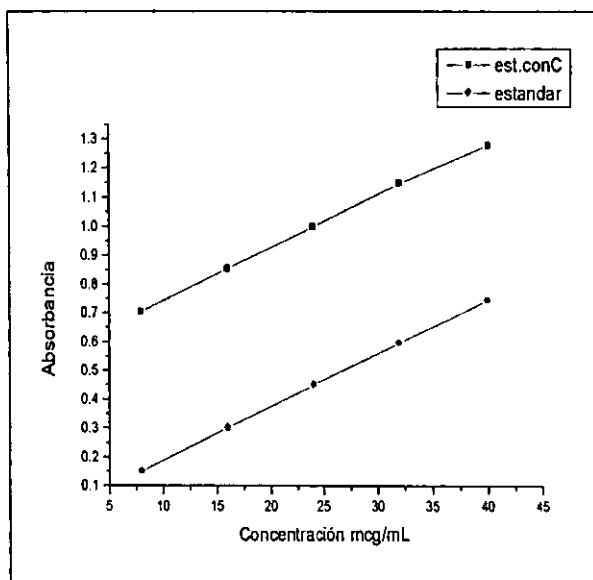


Figura 4. Linearidad del método analítico para cuantificación del producto C

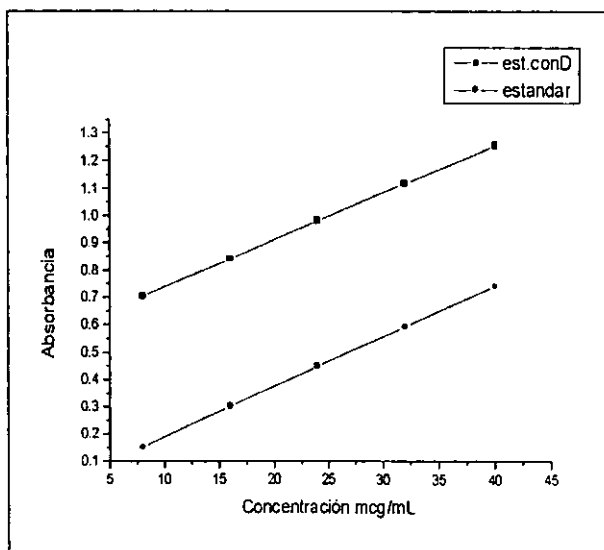


Figura 5. Linearidad del método analítico para cuantificación del producto D

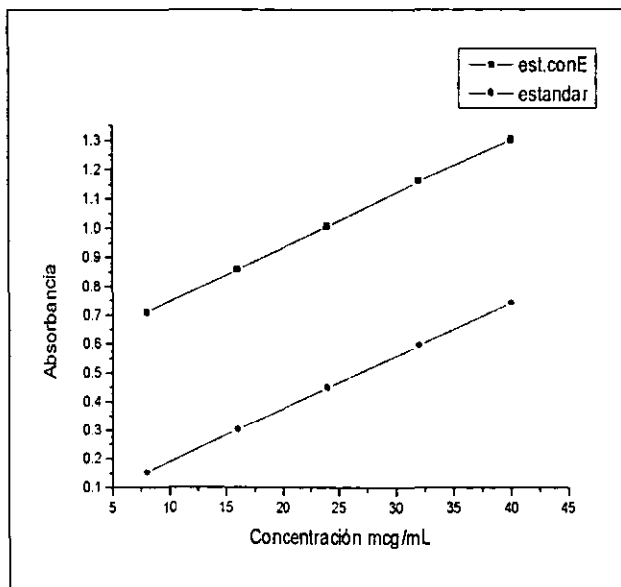


Figura 6. Linearidad del método analítico para cuantificación del producto E

En la tabla IX. Se presentan los resultados de estabilidad obtenidos a lo largo de una semana.

Día	Hora	Absorbancia
uno	10:00	0.363
	13:00	0.363
	14:00	0.363
	15:00	0.363
dos	10:10	0.363
tres	9:45	0.363
cuatro	11:08	0.363
cinco	10:23	0.362

### 4.3 ESTUDIOS DE PERFIL DE DISOLUCIÓN

La tabla X muestra los valores de % disuelto contra tiempo, y las figuras 7 y 8 se observan los perfiles de disolución con sus desviaciones.

Tabla X . Resultados de % disuelto contra tiempo.

Tiempo (min)	A Lote		B Lote		C Lote		D Lote		E Lote	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
10	91.1	86.9	86.9	77.4	89.2	88.7	84.4	82.4	86.7	88.8
15	94.5	93.4	90.4	89.9	91.3	92.0	89.2	96.2	89.0	91.9
20	97.4	95.4	92.0	93.0	93.3	93.6	90.4	99.9	91.1	94.2
30	98.8	97.8	93.2	95.4	95.3	94.9	91.3	101.2	93.0	95.3
45	100.2	99.3	93.7	96.8	96.5	96.0	92.8	102.2	94.2	96.5
60	100.5	99.9	94.1	97.3	97.2	96.6	93.2	102.7	95.0	97.5
90	100.9	99.9	94.2	97.4	97.4	96.7	93.5	102.9	95.1	97.7
120	101.1	100.0	94.3	97.4	97.4	96.8	93.7	102.9	95.1	97.8

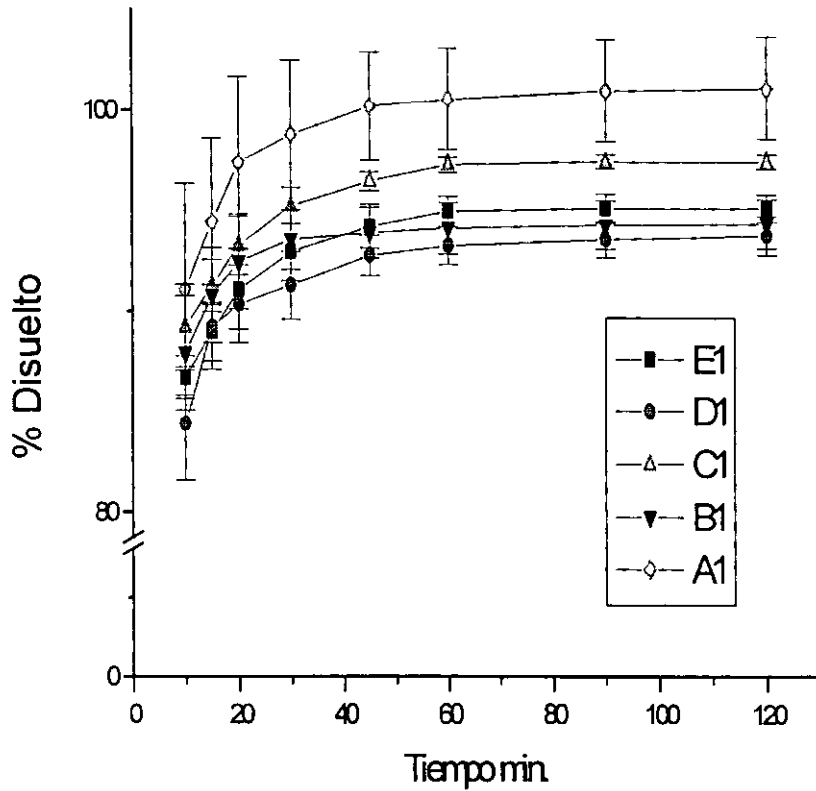


Figura 7. Perfiles de disolución de los productos conteniendo clorhidrato de tetraciclina (lote 1).

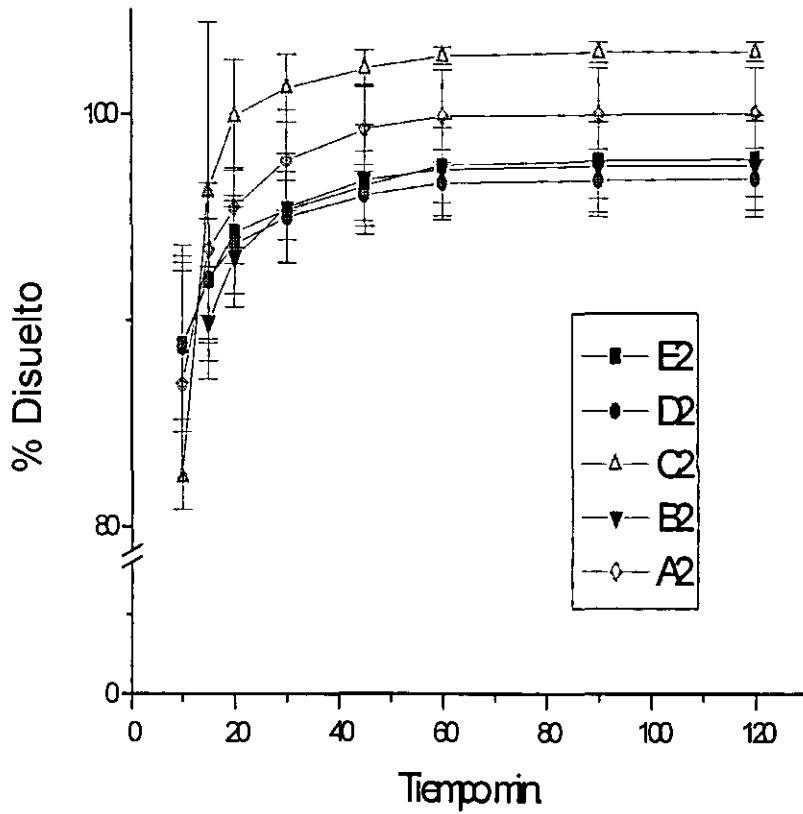


Figura 8. Perfil de disolución de los productos conteniendo clorhidrato de tetraciclina (lote 2)

# ANÁLISIS DE RESULTADOS

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA





## 5.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5.1 CONTROL DE CALIDAD.

La USP 24 indica que el % de principio activo debe encontrarse entre 90 – 125 % de la cantidad indicada en el marbete, con una desviación estándar menor o igual a 6%.

De acuerdo a los resultados presentados en las tablas IV y V se observa que todos los lotes cumplen con las especificaciones.

### 5.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CLORHIDRATO DE TETRACICLINA.

#### 5.2.1 Linearidad del sistema

Los resultados obtenidos son presentados en la tabla VI , los valores de los coeficientes de correlación cumplen con el criterio de ser  $\approx 1.0$ ; por lo que el sistema es lineal en el rango de 2.0 - 60.0  $\mu\text{g/mL}$ . Para verificar que no existía diferencia, desde el punto de vista estadístico, entre los días en que se llevo a cabo la prueba, se aplicó una prueba de análisis de varianza, encontrando que no existe diferencias significativas con una alfa de 0.05. Lo anterior se observa en la tabla XI:

Tabla XI.

Análisis de varianza para la linealidad del método analítico entre dos días.

	GL	SC	SCM	F	P
Niveles de concentración	4	1.4513	0.3628	2.83	0.168
Días	1	0.0007	0.0007		
Residual	4	0.0009	0.0002		
Total	9	1.4530			

### 5.2.2 Precisión del sistema.

El criterio que se utiliza para determinar este parámetro es el coeficiente de variación expresado en porcentaje (% C.V), cuyo límite marcado para un método espectrofotométrico es de 3 %. Como se puede observar en la tabla VI todas las concentraciones cumplen con la especificación..

### 5.2.3 Linealidad del método.

Para determinar la linealidad del método se utilizó la técnica del estándar adicionado, la cual consiste en adicionar a la forma farmacéutica una cantidad conocida de estándar , dando como resultado una suma de absorbancia para cada punto de la curva, los datos obtenidos se presentan en la tabla VII y la tendencia lineal se observa en las figuras 2 a la 6. Al igual que la linealidad del sistema los

coeficientes de correlación de las curvas realizadas den ser  $\simeq 1.0$  lo anterior se cumple satisfactoriamente para todas las marcas en estudio.

#### 5.2.4 % Recobro.

Este parámetro fue calculado a partir de los interceptos de las curvas obtenidas utilizando la técnica del estándar adicionado, el cálculo se basa en la relación de cantidad de estándar encontrado (valor en concentración obtenido del intercepto de la curva ) y cantidad de estándar adicionado (valor conocido al realizar la curva). Se encontró que todos los productos cumplen con el limite de 97-103 %, por lo que los excipientes de las diferentes formulaciones no influyen en la cuantificación del clorhidrato de tetraciclina.

#### 5.2.5 Estabilidad del clorhidrato de tetraciclina en agua.

De acuerdo a los datos de la tabla IX se observa que el clorhidrato de tetraciclina es estable en medio de disolución ( agua ) durante el periodo de una semana.

### 5.3 ESTUDIOS DE PERFIL DE DISOLUCIÓN.

#### 5.3.1 Perfiles de disolución.

De los datos que se presentan en la tabla XII y las figuras 7 y 8 se observa que los productos se disuelven rápidamente, con el fin de determinar si existía similitud en los perfiles, se realizó la comparación de los datos conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, que emplea el parámetro matemático " f " para determinar la similitud en los perfiles.

Formula:

$$f = 50 * \log \{ [1 + 1/n \sum_{t=1}^n (R-T)^2]^{-0.5} * 100 \}$$

Donde:

R= valor promedio del % disuelto del producto innovador al tiempo t=1.

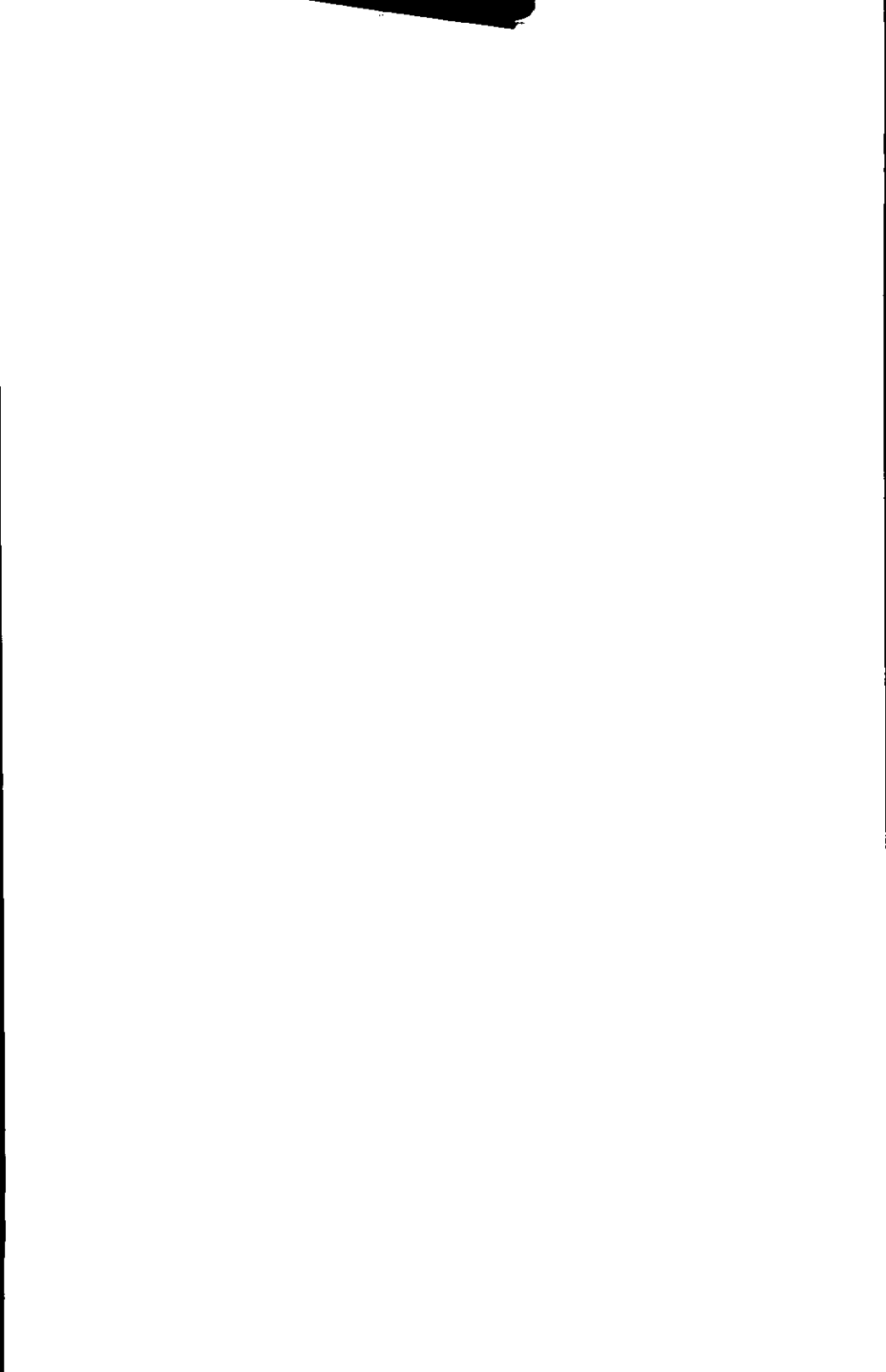
T= valor promedio del % disuelto del producto estudiado al tiempo t=1.

Los valores obtenidos al aplicar esta formula a los datos obtenidos en los perfiles de disolución se muestran en la tabla XII.

Tabla XII Valores de " f " comparando los lotes en estudio con el producto B.

Producto	Lote 1	Lote 2
A	62.68	68.19
C	80.53	59.35
D	86.65	85.45
E	94.46	79.20

De acuerdo a la reglamentación, si el valor de " f " es mayor a 50 los productos son similares, como se puede observar en la tabla anterior todos los lotes de las marcas estudiadas cumplen satisfactoriamente con este criterio.



# CONCLUSIONES

## 6.0 CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se puede concluir:

- Los productos de clorhidrato de tetraciclina estudiados, cumplen con las especificaciones farmacopeicas de : uniformidad de contenido , valoración y porcentaje disuelto a los 60 min.
- El método espectrofotométrico para cuantificar clorhidrato de tetraciclina en agua, es adecuado para llevar a cabo los estudios de perfil de disolución de los productos.
- Los perfiles de disolución mostraron ser similares al perfil del producto innovador.
- Dado que no se encontraron diferencias significativas entre las marcas, se recomienda llevar a cabo un estudio de bioequivalencia que garantice la ínter cambiabilidad entre los productos.



# BIBLIOGRAFÍA



## 7.0 BIBLIOGRAFÍA

1. Abdou M. capítulos 1, 2, y 3. En: *Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence*, Easton PA 1989.
2. Acuerdo por el que se relacionan las especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al catálogo de medicamentos genéricos intercambiables y se determinan las pruebas que deberán aplicárseles. Secretaría de Salud, Diario Oficial de la Federación, 46-53 19 de marzo de 1998.
3. Aiache J.M. et al *Biofarmacia*, 2ed. Ed., El Manual Moderno, México ; 1-20 y 163-188; 1976.
4. Apgar B. Shapiro L. Security the tetracycline, monocycline and doxycycline. *Medical Letter on Drugs & Therapeutics*. 57:830-832; 1998.
5. Barr W. Bioavailability testing in man. *Pharmacological and Clinical Measurements in the Quality Control of Medicine*. Elsevier Sciences. 13:234-243; 1976.
6. Cardone M. New technique in chemical assay calculations. 1. A survey of calculational practices on a model problem. *Analytical Chemistry*.58:433-445; 1986.
7. Cardone M. Detection and determination of error in analytical methodology. Part II. correction for corrigible systematic error in the course of real sample analysis. *Analytical Chemistry*. 66:1283-1293; 1983.
8. Cardone M. Detection and determination of error in analytical methodology. Part I. In the method verification program. *analytical chemistry*. 66:1257-1282; 1983.
9. Cardone M. Potential error in single-point-ratio calculations based on linear calibration curves with a significant intercept. *Analytical Chemistry*.52:1187-1191; 1980.
10. Diccionario de especialidades farmacéuticas PLM. Ediciones PLM 335, 780, 1570,2057, 2079, 2082; 2000.
11. Dorantes A. Jung H. Disolución comparativa de formas farmacéuticas sólidas de clorhidrato de tetraciclina que se encuentran en el mercado farmacéutico mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 27-31;1980.
12. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*; FEUM septima edicion , Secretaria de Salud, 1723-1735; 1996.

13. Farmacopea de los Estados Unidos USP 23. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Twinbrook Parkway, Rockville, EUA.
14. FDA. Guidance for Industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. US Department of Health, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research Clin/Pharm, BP 1 2-11; August 1997.
15. FDA. Guidance for Industry: Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. US Department of Health, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research Clin/Pharm, BP 1-11; August 2000.
16. Florey K. Analytical of drug substances ed. Por Klaus Florey, London, 433-457; 1989.
17. Guerrero M. Estudio comparativo de perfiles de disolución de tabletas de liberación sostenida conteniendo diclofenaco sodico como monofarmaco. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM; 2000.
18. Hanson W. Handbook of dissolution testing system. Aster Publishing Co. Eugene Oregon, 1-159; 1991.
19. Jung C. H. Estudios in vitro e in vivo de productos de tetraciclina existentes en el mercado nacional. Tesis de maestria, Facultad de Química UNAM; 1970.
20. Jung C. H., Rivera O., Reguero M., Rodriguez J., y Moreno-Esparza. Influence of liquids (coffee and orange juice) on the bioavailability of tetracycline. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 11:729-734; 1990.
21. Jung C. H., Ramos M., Fonseca L., Gasque L., and Moreno-Esparza. Influence of the diet on bioavailability of tetracycline. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 14:549-553; 1993.
22. Jung C. H., Peregrina A., Rodriguez J., y Moreno-Esparza. The influence of coffee with milk and tea with milk on the bioavailability of tetracycline. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 18:459-463; 1997.
23. Kapusnik-Uner J. Capitulo 47. En: Las bases farmacologicas de la terapéutica. 9 edición Vol. II. Editorial Mc Graw-Hill interamericana. 1996.
24. Martindale. The stra-Pharmacopoeia, 28ª. Ed. London, 234-66; 1982.
25. Mattila M., Neuvone P., Gothoni G., y Hackman C. Interference of iron preparations and milk with the absorption of tetracyclines. In *Excerpta Medica International Congress Series 254: Technological Problems of drug combinations*, 128:133; 1972.

26. Nash R. Process Validation: A 17 Year Restrospective of Solid-Dosage Forms Drug Development and Industrial Pharmacy, 22: 25-34; 1996.
27. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998 Diario Oficial de la Federación 7 de mayo de 1999.
28. Raimar L., Gordon L. Modern bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches a international regulatory standars. European Journal of Pharmaceutics and Biophamaceutics, 50: 3-12; 2000.
29. Rojas R. Disolución comparativa: Tecnología automatizada y productos comerciales. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 1994.
30. Singh S. Prueba de estabilidad de fármacos y determinación de la vida de anaquel conforme a los lineamientos internacionales. Pharmaceutical Technology, 60: 35-47; 1999.
31. Smith J. Drugs Generic. Medical Letter on Drugs & Therapeutics, 41: 47-49; 1999.
32. Stamp C. Valoración de la biodisponibilidad de productos de tetraciclina en el hombre. Parte 1, Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Naturales y Farmacia, Universidad de Panamá. 1976.
33. The Merck Index, twelfth edition. Merck Research Laboratories division of Merck & CXO. Inc. 1571-1572; 1996.