

10524
48



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE PROCESOS
FARMACÉUTICOS:
ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN IN VITRO Y
BIODISPONIBILIDAD DE BOLOS DE
SULFAMETAZINA SÓDICA.**

**INFORME DE SERVICIO
SOCIAL TITULACIÓN**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ELVIA ADRIANA MORALES HIPÓLITO

ASESORES: DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO
Q.F.B. JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1



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.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

FN: Q. Ma. del Carmén García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos:

El Informe de Servicio Social: Desarrollo y Validación de Procesos Farmacéuticos:
"Estudios de Disolución in vitro y Biodisponibilidad de Bolos de Sulfametazina
Sódica"

que presenta la pasante: Elvia Adriana Morales Hipólito
con número de cuenta: 9208512-5 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Méx. a 17 de Febrero de 2003

PRESIDENTE	<u>D.E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>Dra. Raquel López Arellano</u>	
SECRETARIO	<u>M. en C. Eva Ma. Molina Trinidad</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Dra. Alma Luisa Revilla Vazquez</u>	

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Gracias porque me haz dejado crecer en la mejor familia del mundo, porque día a día nos llenas de amor y bendiciones, y porque sin ti no seriamos lo que hoy somos.

A MIS PADRES:

Rubén y Guadalupe: Porque sin su apoyo no hubiera logrado una de las metas que siempre soñé y que hoy es una realidad.

A MIS HERMANOS:

Rubén, Ismael, Norma y Bony: Porque sé que cuento con su apoyo y su amor. Gracias por todo.

A MIS PEQUEÑOS:

Nayeli, Daniel y Nohemí: Porque el día que llegaron fue uno de los mejores momentos de mi vida, el verlos crecer es mi mayor felicidad. Los quiero mucho.

A MIS AMIGOS:

Como olvidar tantos y tantos momentos juntos, sueños e ilusiones compartidos, tristezas y alegrías, los quiero mucho y cuentan conmigo para siempre:

Judit, Nancy, Pilar, Gaby, Elías y Gerardo.

A JORGE:

Como agradecerte todos los momentos que vivimos y sobre todo él hacerme comprender que con AMOR toda se puede lograr. Ahora solo puedo decirte GRACIAS por tu cariño, tu amistad, tu comprensión y sobre todo por el apoyo que siempre me brindaste

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A las Chicas del LEM:

Porque el tiempo que conviví con ustedes ha sido de gran ayuda, por su amistad, su apoyo y sus enseñanzas: Gris, Rocío, Karina, Claudia, Cristina, Bettina, Araceli gracias por toda tu ayuda, y en especial a Lupita, porque con nada pago tu ayuda, tu comprensión, tu amistad tan sincera y sobre todo tu apoyo en los momentos más difíciles de mi vida

A LA GENERACIÓN 23:

Gracias a todas las personas que han confiado en mí, en especial a Edgar y Juan C., ya que ha sido una de las mejores etapas de estudiante en mi vida

A MIS ASESORES

Dra. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO:

GRACIAS por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo de tesis, por su confianza sus conocimientos y sobre todo por su amistad.

Prof.: JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS

Profesor, como agradecerle todo su apoyo, su ayuda, su confianza y sobre todo sus opiniones tan acertadas.

GRACIAS por compartirme todos sus conocimientos.

Dr. JORGE TORTORA:

GRACIAS por el apoyo otorgado para la realización de esta tesis

A MIS SINODALES

Gracias por todos los comentarios realizados para el mejoramiento de este trabajo.

AL PROFESOR JUAN JOSE:

Gracias por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y sobre todo por ayudarme cuando lo necesite

A TERE:

Gracias por tu apoyo, tu ayuda y sobre todo por tu AMISTAD.

GRACIAS al Proyecto PAPIIT clave No. IN229199

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Porque ser Universitaria es lo mejor que me pudo haber pasado y por permitirme lograr mis sueños dentro de tan querida Institución.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

MAMITA

Gracias por todo el apoyo que siempre me has brindado, como olvidar tus desvelos, tus lagrimas y sobre todo tu esfuerzo para que ya lograra terminar el trabajo que hoy culmina. Gracias por que sin tu ayuda y sin tu amor yo no lo hubiera logrado.

PAPITO

Como decirte gracias por todas las preocupaciones que te cause, por la confianza que siempre depositaste en mi, por todo el amor que siempre me diste y me seguirás dando y sobre todo por haberme inculcado siempre un sueño que hoy que se cumple

GRACIAS, ESTE LOGRO ES DE USTEDES
LOS AMO

A MIS HERMANOS

Rubén:

Aunque ya no estas aquí físicamente, siempre estarás en nuestro pensamiento. Porque tu esencia vive en toda tu familia. Gracias por que todo lo que soy es gracias a ti, ya que siempre lograste lo que te propusiste y porque siempre nos demostraste que todo se puede lograr. Este triunfo es tuyo.

Ismael, Norma y Bony:

Gracias hermanos porque sé que siempre contare con ustedes y sobre todo porque siempre me han demostrado su cariño y me han hecho comprender que se puede lograr todo lo que uno se propone.

A MIS PEQUEÑOS:

Daniel, Nayeli y Nohemi:

Como agradecerles tanto amor, conque pagarles su compañía, sus abrazos y sobre todo sus demostraciones de amor que siempre he tenido de ustedes, los quiero mucho y espero que este pequeño logro les sirva de ejemplo para comprender que todos los sueños se pueden cumplir con dedicación y perseverancia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE GENERAL

	Página
i Abreviaturas	I
ii Índice de tablas	II
iii Índice de figuras	III
1. Introducción	V
2. Objetivos	VI
CÁPITULO I. Marco teórico.	
1. Biodisponibilidad.	1
1.1 Definición.	2
1.2 Objetivo de los estudios de biodisponibilidad.	3
1.3 Aplicación y utilidad.	4
1.4 Clasificación de los estudios de biodisponibilidad.	4
1.4.1 Del objetivo.	5
1.4.2 Del fluido biológico de muestra.	
1.5 Parámetros a evaluar.	7
1.5.1 Área bajo la curva (ABC).	9
1.5.2 Concentración plasmática máxima ($C_{p,max}$) del fármaco.	10
1.5.3 Tiempo máximo (T_{max}) en el cual se alcanza la $C_{p,max}$.	12
1.5.4 Constante de absorción (K_{ab}).	12
1.5.4 Constante de eliminación (K_{el}).	13
1.5.5 Tiempo de vida media.	14
1.6 Factores que afectan la biodisponibilidad.	15
1.6.1 Factores tecnológicos.	17
1.6.2 Factores biológicos.	18
1.6.3 Factores clínicos y terapéuticos.	
2. Disolución.	
2.1 Definición.	19
2.2 Objetivos del estudio de disolución in vitro.	20
2.3 Etapas del proceso de "puesta a disposición" del fármaco	20
2.4 Disolución de fármacos como proceso limitante de su absorción.	22

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	Página
2.5 Correlación entre disolución y desintegración.	22
2.6 Factores que afectan la velocidad de disolución.	22
2.7 Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.	24
2.8 Factores tecnológicos que influyen en la disolución.	25
2.8.1 Fuerza de compresión.	25
2.8.2 Método de granulación.	26
2.9 Factores que afectan la velocidad de disolución.	
2.9.1 Medio de disolución.	27
2.9.2 Volumen.	28
2.9.3 Temperatura.	28
2.9.4 Recipiente de disolución.	28
2.9.5 Sistema de agitación.	29
2.10 Método para medir la velocidad de disolución.	29
2.10.1 Método II o Método de la paleta.	30
2.11 Cinética de disolución.	31
2.11.1 Disolución que implica una cinética de orden cero.	31
2.11.2 Disolución que implica una cinética de primer orden.	33
2.11.3 Cinética de la raíz cuadrada.	36
2.11.4 Modelo de Langer y peppas.	36
3. Correlaciones in vivo in vitro.	
3.1 Definición.	38
3.2 Objetivos de la correlación in vivo-in vitro.	41
3.3 Tipos de correlaciones in vivo in vitro.	42
3.4 Niveles de correlación.	43
3.5 Criterios utilizados para la correlación.	45
4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución.	
4.1 Definición.	46
4.2 Clasificación de la Cromatografía Líquida.	46
4.3 Cromatografía en fase reversa.	47

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

	Página
4.4 Mecanismo de Separación.	47
4.5 Equipo Cromatográfico.	48
4.5.1 Sistema de bombeo.	49
4.5.2 Columna.	49
4.5.3 Sistema de inyección.	50
4.5.4 Sistema de detección.	50
CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	
1. Instrumento y equipo.	51
2. Material y reactivos.	52
3. Plan Experimental.	53
4. Validación del Método Analítico.	
4.1. Validación del Sistema	57
4.2. Validación del Método.	58
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	
1. Resultados y análisis.	63
CAPITULO IV. Conclusiones	
1. Conclusiones.	93
ANEXOS	
Anexo 1: Características Farmacocinéticas de la Sulfametazina.	94
Anexo 2: Procedimiento para elaborar la curva de calibración.	96
Anexo 3: Protocolo de Biodisponibilidad.	102
Anexo 4: Fórmula para el cálculo de la prueba del intercepto.	104
Anexo 5: Datos individuales obtenidos de la disolución de Bolos de Sulfametazina sódica.	105
BIBLIOGRAFÍA	108

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

ABREVIATURAS.

ABC	Área Bajo la Curva.
$C_{p_{max}}$	Concentración Plasmática Máxima.
T_{max}	Tiempo en el que se alcanza la concentración máxima.
K_a	Constante de absorción.
K_e	Constante de eliminación.
e.v.	Extravascular
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media.
IVIVC	Correlación in vivo- in vitro.
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.
SMZ	Sulfametazina
STZ	Sulfatiazol
KH_2PO_4	Fosfato de potasio monobásico.
NaOH	Hidróxido de sodio.
CH_3CN	Acetonitrilo.
CH_3COOH	Ácido acético.
C.V	Coefficiente de variación.
r^2	Coefficiente de determinación
r	Coefficiente de correlación
m	Pendiente
b	Intercepto
r.p.m	Revoluciones por minuto.
MAUC	Modelo Abierto de Un Compartimiento
MADC	Modelo Abierto de Dos compartimientos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE DE TABLAS.

	Página
TABLA 1: Factores que influyen en la velocidad de disolución.	23
TABLA 2: Criterios utilizados para establecer la correlación IVIV.	45
TABLA 3: Criterios utilizados para evaluar las características del método.	60
TABLA 4: Curva de calibración de Sulfametazina sódica en agua.	63
TABLA 5: Datos promedios obtenidos durante la disolución de bolos de Sulfametazina sódica.	67
TABLA 6: Datos obtenidos aplicando el modelo semiempírico de Langer y Pepas.	69
TABLA 7: Datos para el Factor de similitud.	72
TABLA 8: Análisis de regresión del porcentaje liberado en función de la raíz cuadrada del tiempo.	73
TABLA 9: Linealidad del sistema.	75
TABLA 10: Datos para evaluar la precisión del sistema.	78
TABLA 11: Datos para evaluar la exactitud del sistema.	79
TABLA 12: Linealidad del método	80
TABLA 13: Datos obtenidos de la curva de calibración de la concentración adicionada de SMZ en función de la concentración recuperada.	81
TABLA 14: Datos obtenidos para evaluar la precisión y exactitud del método.	84
TABLA 15: Concentraciones plasmáticas de Sulfametazina sódica después de una administración Intravenosa.	85
TABLA 16. Parámetros Farmacocinéticos para una administración IV correspondiente a un MADC.	87
TABLA 17: Parámetros Farmacocinéticos para una administración IV correspondiente a un MAUC	89

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE DE FIGURAS.

	Página.
Fig.1: Área Bajo la Curva por el método de los trapezoides	8
Fig.2: Perfil de concentración de fármaco en plasma administrado por vía oral. Parámetros determinantes de la biodisponibilidad del fármaco.	10
Fig.3: Representación del modelo farmacocinético para una administración Oral.	11
Fig.4: Modelo propuesto por Carstensen para los procesos previos a la absorción.	19
Fig.5: Esquema General del Disolutor Automatizado.	30
Fig.6: Representación esquemática del Aparato N° 2 de Paletas.	31
Fig.7: Representación gráfica del modelo de disolución de orden cero.	33
Fig.8: Representación gráfica del modelo de disolución que sigue una cinética de primer orden.	33
Fig.9: Representación gráfica del modelo de disolución que sigue una cinética de primer orden.	35
Fig.10: Representación gráfica del modelo de Higuchi.	36
Fig.11: Esquema usado para establecer correlaciones in vivo in vitro de formulaciones de acción sostenida.	37
Fig.12: Esquema General del Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución.	49
Fig.13: Adaptación del Sep-pak a la jeringa.	55
Fig.14: Filtración de muestras.	56
Fig.15: Espectro de absorción de Sulfametazina Sódica en agua desionizada.	63
Fig.16: Curva de Calibración de Sulfametazina en agua.	64
Fig.17: Perfil de disolución de bolos de Sulfametazina sódica	66
Fig.18: Gráfico de cinética de disolución.	68
Fig.19: Perfil de disolución de bolos ajustado al modelo de Langer y Peppas	69

Fig.20:	Modelo de la raíz cuadrada de Higuchi	71
Fig.21:	Gráfico de comparación de las constantes de velocidad.	74
Fig.22:	Curva de Calibración de Sulfametazina	76
Fig.23:	Gráfica de la curva de calibración de la concentración adicionada de SMZ en función de la concentración recuperada.	82
Fig.24:	Perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo después de una administración IV.	86
Fig.25:	Perfil de concentración plasmática de SMZ después de una administración Oral.	90
Fig.26:	Perfil de concentración plasmática de SMZ después de una administración Oral de 0 a 12 horas.	90
Fig.27:	Gráfico de Correlación del ABC del perfil de disolución en función del perfil plasmático.	92
Fig.28:	Gráfico de Correlación de la pendiente de disolución en función de la concentración plasmática.	92

1. INTRODUCCIÓN

La sulfametazina sódica es uno de los fármacos de elección para el tratamiento de coccidiosis en cabras, y una de sus formas de administración es por bolos de liberación prolongada. Para producir una respuesta adecuada durante un tiempo prolongado es necesario que el bolo libere la sulfametazina de tal manera que se logre un nivel de concentración plasmática óptimo y se mantenga durante el tiempo adecuado del tratamiento.

La finalidad de este trabajo es evaluar la biodisponibilidad y disolución in vitro de bolos de sulfametazina sódica de liberación prolongada de cinco lotes elaborados bajo diferentes condiciones de operación, dichos bolos fueron desarrollados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Para lograr lo anterior se deben estimar las concentraciones plasmáticas de sulfametazina en cabra, por lo que es indispensable un método analítico que permita la cuantificación de Sulfametazina en plasma con precisión, exactitud, especificidad y reproducibilidad. La cromatografía líquida de alta resolución es adecuada para este tipo de evaluaciones; sin embargo es importante la preparación del plasma antes de su análisis cromatográfico ya que no es conveniente que se inyecte directamente porque puede obstruir las tuberías filtros y columna del sistema cromatográfico por su alto contenido de proteínas.

En este trabajo se propone un método analítico a nivel de disolución y se determinaran los parámetros farmacocinéticos que nos ayuden a evaluar la biodisponibilidad de medicamentos orales para cabras.

El presente reporte se dividió en cuatro capítulos:

En el capítulo I se describe la importancia de la biodisponibilidad, clasificación, parámetros farmacocinéticos (área bajo la curva (ABC), concentración plasmática máxima ($C_{p_{max}}$) y tiempo máximo (T_{max})) y factores que afectan la biodisponibilidad. También se encuentran los estudios de disolución in vitro, importancia, objetivo y factores que afectan la disolución. Así como la correlación in vivo (biodisponibilidad) – in vitro (disolución), tipos de correlación y finalmente los criterios utilizados para establecer dicha correlación, además de principios básicos de Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

El capítulo II contiene el desarrollo del método analítico para cuantificar la sulfametazina en plasma y su validación, además de la determinación de las pruebas de disolución.

En el capítulo III se presentan los resultados obtenidos durante la experimentación y su discusión.

Finalmente en el capítulo IV se presentan las conclusiones basándose en los objetivos propuestos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la biodisponibilidad en cabras, de bolos de sulfametazina sódica de liberación prolongada, así como sus perfiles de disolución.

OBJETIVO PARTICULAR:

Determinar los parámetros farmacocinéticos (ABC_{10}^{10} , ABC_{10}^{10} , CP_{max} , T_{max} , K_{10} , K_e) determinantes en la biodisponibilidad de Sulfametazina sódica en cabras.

Determinar los perfiles de disolución de los bolos de Sulfametazina sódica de liberación prolongada, así como su constante de velocidad.

Establecer la relación entre una propiedad biológica (ABC_{10}^{10} , ABC_{10}^{10} , CP_{max} , T_{max} de los niveles plasmáticos) y la pendiente de los perfiles de disolución de los bolos con Sulfametazina sódica en cabras.

OBJETIVO ACADÉMICO:

Determinar los perfiles de disolución y los niveles plasmáticos de Sulfametazina sódica después de la administración de bolos en cabras desarrollados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán con la finalidad de integrar los conocimientos adquiridos en la carrera de Q.F.B. y generar un caso de estudio para apoyar la formación de los estudiantes de dicha carrera.

OBJETIVO SOCIAL:

Determinar el comportamiento in vitro (disolución) in vivo (biodisponibilidad) de bolos con Sulfametazina sódica los cuales son usados en el tratamiento de la coccidiosis en cabras, con la finalidad de disminuir la enfermedad y por consiguiente aumentar la producción de carne caprina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MARCO TEÓRICO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIODISPONIBILIDAD.

1.1 Definición.

Desde hace algún tiempo, la concepción, la realización y la utilización de los medicamentos han estado profundamente influidos por las investigaciones efectuadas in vivo de sus principios activos. Los estudios de biotransformación y, sobre todo, la investigación farmacocinética, han permitido definir un conjunto de conceptos y de métodos que pueden aplicarse a diversos sectores de la investigación biofarmacéutica.

La investigación biofarmacéutica tiene como finalidad el estudio de los factores que influyen en el perfil de la biodisponibilidad de un principio activo y/o de sus productos de biotransformación así como la utilización de estos datos para intentar optimizar la utilidad farmacológica y terapéutica de los medicamentos para sus aplicaciones clínicas o veterinarias.

La valoración e interpretación de los datos de un estudio biofarmacéutico forman parte del desarrollo de un medicamento y completan la investigación de las nuevas moléculas farmacológicamente interesantes.

La asociación de los dos términos, cantidad y velocidad, a nivel de la puesta a disposición del organismo de los principios activos de los medicamentos, constituye el concepto de biodisponibilidad.

Esta definición, aunque considerada universalmente como científicamente válida, presenta, no obstante, dos dificultades prácticas. Primeramente, una noción singular -biodisponibilidad- es definida en términos de dos elementos cuantitativos: velocidad y cantidad. En segundo término, la consideración del fármaco en el sitio de acción casi siempre es desconocida.

La definición de biodisponibilidad involucra dos conceptos o términos: uno estequiométrico que se refiere a la cantidad absorbida, eficiencia de absorción o disponibilidad sistémica, y el otro cinético relacionado con la velocidad de absorción.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

Para medicamentos que se administran crónicamente en regímenes de dosis múltiple, la cantidad de fármaco absorbida generalmente es mucho más crítica que la velocidad de absorción. En cambio, en los fármacos que se emplean en una sola dosis, la velocidad de absorción suele ser de mucha importancia. Muchas veces el término biodisponibilidad se utiliza en la literatura farmacéutica y biomédica en una acepción más restringida, que se refiere sólo a la disponibilidad sistémica, cantidad de fármaco absorbida o magnitud de la absorción. Sin embargo, la velocidad de absorción es también de gran importancia.

En la mayoría de los casos, el grado de absorción es considerablemente más importante que la velocidad real de absorción. La velocidad, siempre que permanezca dentro de los límites razonablemente normales, no influye grandemente sobre la concentración plasmática en los casos en donde un medicamento es administrado repetidamente.

Dado que los fenómenos de distribución de los fármacos desde la sangre hacia los tejidos son reversibles, existe siempre una relación dinámica entre las distintas concentraciones tisulares y la concentración sanguínea del principio activo, que se toma como referencia.

El comportamiento del principio activo a nivel de la sangre se denomina generalmente "perfil de biodisponibilidad" y traduce, de una manera global, la acción entre la fase de puesta a disposición del principio activo y su fase de disposición (**Aiache, 1983, p.11**).

1.2 Objetivo de los estudios de biodisponibilidad

Una de las finalidades principales del concepto de biodisponibilidad es el poner en evidencia las diferencias entre medicamentos que contienen un mismo principio activo, generalmente a las mismas dosis nominales y susceptibles de ser considerados como equivalentes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados del estudio de biodisponibilidad condicionan frecuentemente la aceptación o rechazo de un medicamento en función de un riesgo de no-equivalencia terapéutica relacionada con una inequivalencia biológica. El objetivo de un estudio de biodisponibilidad reviste ya de carácter oficial en ciertos países y esta a punto de serlo en otros.

Este mismo concepto, cuando se amplía en la concepción y desarrollo farmacéutico de un nuevo medicamento, permite una selección de las formas estudiadas fundada sobre un criterio riguroso, con el fin de determinar de manera objetiva la mejor elección de la presentación farmacéutica adecuada para resolver mejor los problemas terapéuticos y su vía de administración.

Otro objetivo importante es el determinar la posología y las posibles interacciones del principio activo durante el desarrollo de un nuevo medicamento, así como desarrollar y evaluar correlaciones *In vitro* – *In vivo* o de biodisponibilidad-efecto farmacológico. (Aíache, 1983, pp. 92)

1.3 Aplicación y utilidad.

Una aplicación importante de los estudios de biodisponibilidad es la determinación de la bioequivalencia de diferentes productos farmacéuticos que contienen iguales dosis de un mismo principio activo. Se basa en el hecho de que productos que demuestran tener similar biodisponibilidad en cantidad y velocidad pueden presentar comportamiento similar cuando se administran al organismo.

Históricamente, el problema de la bioequivalencia o determinación de la biodisponibilidad ha estado relacionado con la posibilidad de intercambio de especialidades de diversos orígenes. Este problema continua siendo actual (a medida que las patentes caducan) y es motivo de preocupación de las autoridades sanitarias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La noción de biodisponibilidad posee hoy en día nuevas aplicaciones. Estas aplicaciones se desarrollan según dos ejes:

- ✓ El primero es el de la "farmacia clínica" y corresponde a la racionalización de las condiciones individuales de la medicación, es decir, a la adaptación precisa de la posología a cada enfermo, teniendo en cuenta la alteración de los parámetros farmacocinéticos del tránsito de los medicamentos "in vivo", debido a las asociaciones medicamentosas, o a la alteración de las funciones fisiológicas.
- ✓ El segundo, es el de la "farmacia galénica" y corresponde a la racionalización de la etapa del desarrollo de un medicamento, es decir, a la selección de los excipientes y de las condiciones de operación óptimas para la adaptación de la mejor vía de administración y de la forma farmacéutica en base a las características farmacocinéticas del principio activo.

Estos dos ejes se inscriben en el contexto de la investigación biofarmacéutica y corresponden a la adaptación, tan adecuada como sea posible, de la curva de niveles plasmáticos en función del tiempo al enfermo y al efecto deseado.

1.4 Clasificación de los estudios de biodisponibilidad.

Los estudios de biodisponibilidad pueden clasificarse desde varios puntos de vista:

- A. Del objetivo
 - B. Del fluido biológico de la muestra
 - C. Del tipo de producto de referencia.
 - D. Del régimen de dosificación.
- A. Del objetivo.** La meta básica del estudio de biodisponibilidad es la de optimizar las características de la formulación del medicamento, de su vía de administración y del proceso de fabricación del mismo.

Con la finalidad de proporcionar al paciente un producto con calidad biofarmacéutica, es decir, con un óptimo de biodisponibilidad de un modo constante y reproducible de manera que sea un medicamento seguro y eficaz.

Para alcanzar las metas y el objetivo de los estudios de biodisponibilidad con toda claridad y eficiencia, el punto de partida esencial es el diseño y control del protocolo experimental para el estudio. El soporte global de un diseño protocolar, es el aspecto estadístico para determinar los modelos y alternativas estadísticas apropiadas para tomar una decisión, ya sea para validar y elegir el método analítico, el número de voluntarios y el plan de muestreo.

Antes de probar moléculas nuevas con potencial farmacológico en seres humanos, se deben realizar pruebas farmacodinámicas, farmacocinéticas y de biodisponibilidad del fármaco en modelos animales.

Algunos de los parámetros que se deben considerar dentro de este punto son los siguientes:

- ✓ Número de voluntarios.
- ✓ Características de los voluntarios.
- ✓ Poblaciones y condiciones particulares (Ej. Tipo de dieta, cronofarmacología, etc.)

B. Del fluido biológico de la muestra. La "dosis efectiva" o biodisponible de un fármaco contenido en un medicamento, esta en función del tiempo requerido para su absorción y de la cantidad absorbida disponible para el sitio de acción. Dicha biodisponibilidad, influye en el inicio, intensidad y duración de su efecto.

Por lo que es necesario seleccionar el fluido biológico idóneo para tomar muestras y con ellas determinar los parámetros de biodisponibilidad que deben ser cuantificados en cada caso.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Un estudio de Biodisponibilidad es un ensayo biológico. La importancia de la muestra esta en función de la propia variabilidad de la muestra, de la variabilidad introducida por su manejo y almacenamiento antes del análisis así como de la variabilidad introducida por los diseños experimentales y del grado deseado de diferenciación entre lotes o productos de diferentes marcas.

De acuerdo con el concepto de biodisponibilidad, los fluidos más utilizados para su determinación son:

- ✓ La sangre (plasma, suero o sangre total),
- ✓ La orina,
- ✓ La saliva
- ✓ Las lágrimas.

Sin embargo, el fluido sanguíneo es la primera opción para cuantificar el fármaco en el organismo, a partir del medicamento en que fue administrado. Aplicando los principios de farmacocinética lineal clásica (se habla de sistemas lineales cuando los procesos farmacocinéticos no cambian o se alteran en función de la dosis administrada del principio activo, es decir cuando los procesos no llegan a una saturación). Existen tres parámetros determinantes de la biodisponibilidad (Área bajo la curva del perfil sanguíneo (ABC) de concentración del fármaco, Concentración plasmática máxima ($C_{p_{max}}$) del fármaco y Tiempo en el que se alcanza la concentración máxima (T_{max}) del fármaco) que pueden ser establecidos a partir de los datos de concentración plasmática del fármaco, cuando el medicamento ha sido aplicado en una sola dosis, por vía oral.

1.5 Parámetros Farmacocinéticos.

En la evaluación de la biodisponibilidad se aplican parámetros farmacocinéticos obtenibles a partir de los datos de concentración plasmática. En general, para determinar la biodisponibilidad de los medicamentos se utilizan los siguientes parámetros esenciales:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- a) Área bajo la curva del perfil sanguíneo (ABC) de concentración del fármaco.
- b) Concentración plasmática máxima ($C_{p_{máx.}}$) del fármaco.
- c) Tiempo en el que se alcanza la concentración máxima ($T_{máx.}$) del fármaco.

1.5.1. Área Bajo la Curva (ABC) de la concentración del fármaco

El área bajo la curva (ABC) de perfil sanguíneo, es uno de los parámetros más útiles en farmacocinética, ya que en virtud de la Ley de Dost (Fernández, 1997, p.58), " la relación del área bajo la curva de concentración sanguínea en función del tiempo, luego de una administración oral, y la que se obtiene después de una inyección intravenosa de la misma dosis del fármaco es una medida de la absorción del fármaco administrado, si en la administración oral, la absorción del principio activo no esta en función de la dosis, ni existe un alto efecto del primer paso o biotransformación presistémica".

En relación con el concepto de biodisponibilidad, el ABC desde tiempo cero hasta tiempo infinito, representa la cantidad de fármaco que llega a circulación sistémica. Cuando la aplicación del medicamento es por vía intravenosa, el único parámetro determinante de la biodisponibilidad es por tanto, el ABC, la cual por definición representa un 100% de biodisponibilidad, ya que se considera que la dosis aplicada, llega de modo integro e instantáneo a circulación sistémica.

Área bajo la curva. Método de cálculo.

Las áreas pueden ser obtenidas de varias formas:

- Uso del planímetro.
- Pesar y cortar los trazos de los datos obtenidos para las diferentes rutas sobre la misma escala, cortándose las curvas y pesándose con exactitud. Las áreas pueden ser calculadas de la pesada, si el peso de un área unitaria de papel es conocido.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Un tercer método, para estimar el área bajo la curva es dividiendo la curva en secciones que aproximan a una serie de trapezoides, con un triángulo en cada extremo, tal como se muestra en la **Figura 1**. Las áreas individuales de los trapezoides y los triángulos, se suman para obtener el área bajo la curva.

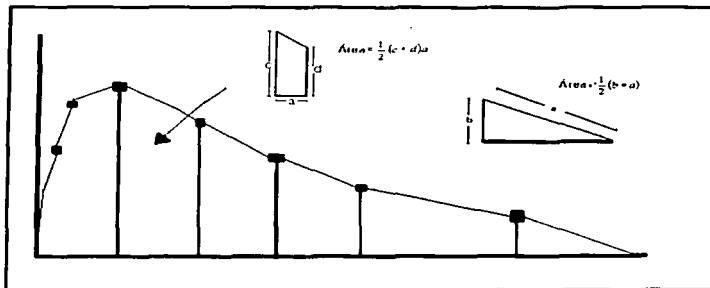


FIGURA 1: Área Bajo la Curva por el método de los trapezoides

Basándose en este parámetro se han establecido dos tipos de biodisponibilidad:

- ✓ **Biodisponibilidad absoluta:** Comparación de una administración intravenosa contra la administración oral.
- ✓ **Biodisponibilidad relativa:** Es la comparación de dos productos equivalentes administrados por vía oral.

El cálculo correcto del ABC y por tanto de la cantidad total de fármaco absorbida está en función de los siguientes factores:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- A. Muestreo de concentración plasmática del fármaco que comprenda un periodo total de tiempo de cuando menos tres vidas medias de eliminación del principio activo.
- B. Intervalos de muestreo cortos, de modo que las fases de absorción y de distribución del fármaco, puedan ser establecidas con la mayor precisión y exactitud posibles, al obtener los resultados del perfil de concentración plasmática en función del tiempo.
- C. Empleo de un método analítico cuantitativo exacto, preciso, específico y sensible, de modo que las cantidades cuantificadas correspondan a la realidad.

1.5.2 Concentración plasmática máxima ($C_{p_{máx}}$) del fármaco.

Este es el segundo parámetro determinante de la biodisponibilidad de un fármaco contenido en un medicamento aplicado por vía oral. Desde un punto de vista cualitativo, este parámetro está en función de la cantidad y de la velocidad de absorción del principio activo.

En términos más detallados, la $C_{p_{máx}}$ está en función de las siguientes variables:

- A. Fracción de dosis absorbida.
- B. Volumen de distribución aparente del fármaco (V_d).
- C. Constantes de velocidad tanto de absorción como de eliminación del fármaco.
(Gibaldi 1982, p.151)

La concentración plasmática máxima (**Figura 2**) está en función directa de la cantidad de fármaco absorbida y en función inversa a su volumen aparente de distribución.

Cuando la magnitud de las constantes de absorción y de eliminación del fármaco son prácticamente equivalentes, éstas no influyen tanto en la magnitud de la $C_{p_{max}}$.

1.5.3 Tiempo en el que se alcanza la concentración máxima (T_{max}) del fármaco.

Este tercer parámetro determinante de la biodisponibilidad en el caso de los medicamento aplicados por vía oral, está en función de:

- Velocidad de absorción del principio activo: A mayor velocidad de absorción del fármaco, más tempranamente se presentará el denominado t_{max} , es decir, el tiempo en el cual la concentración plasmática del fármaco fue la máxima.
- Velocidad de excreción del principio activo: La relación en este caso es de tipo inverso.

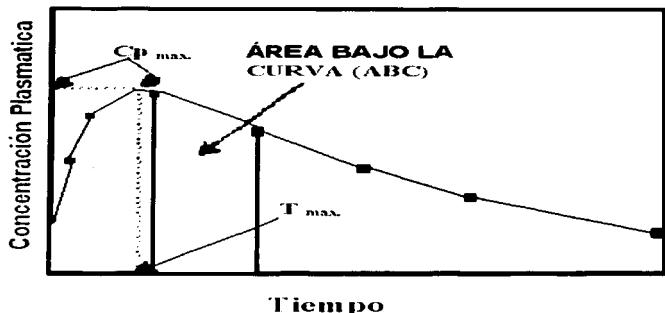


FIGURA 2: Perfil de concentración de fármaco en plasma administrado por vía oral. Los parámetros determinantes de la biodisponibilidad del fármaco son: concentración plasmática máxima ($C_{p_{max}}$), Tiempo en el que se alcanza la concentración máxima (t_{max}) y Área bajo la curva (ABC).

Otros parámetros farmacocinéticos que son posibles determinar en el estudio son los siguientes:

1.5.4 Constantes de velocidad.

Las constantes de velocidad en farmacocinética caracterizan el cambio de concentración de fármaco en función del tiempo en una región de referencia particular. Ellas representan la velocidad a la cual un fármaco entra a un compartimiento, se distribuye entre el compartimiento central y periférico y es eliminado desde la circulación sistémica (constantes de absorción, distribución y eliminación respectivamente) **Figura 3**.

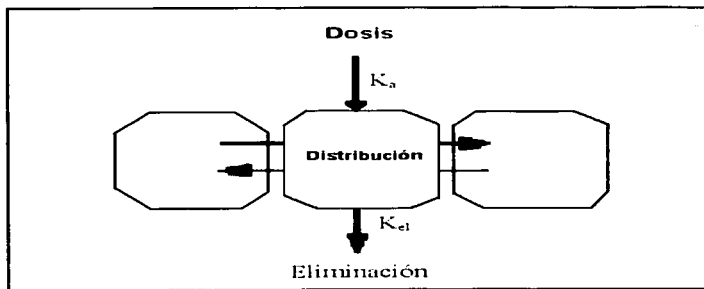


FIGURA 3: Representación del modelo farmacocinético al cual se le administra el fármaco por vía oral.

Adicionalmente otras constantes pueden ser descritas, como aquellas que dan cuenta de la velocidad de los productos de biotransformación de un fármaco.

Las constantes de velocidad en farmacocinética usualmente son de primer orden. Una excepción es el alcohol el cual se elimina por cinética de orden cero. No obstante, aun cuando generalmente se aplica la cinética de primer orden cambia a cinética de orden cero. Ello se conoce como cinética de dosis dependiente.

La constante de velocidad de eliminación K_e , representa la eliminación total del fármaco desde el cuerpo. Incluye por lo tanto, la eliminación por excreción urinaria, biliar, por biotransformación y todos los mecanismos posibles de eliminación del fármaco desde el organismo. Todos estos procesos individuales están descritos por constantes propias de velocidad y K_e es simplemente la suma de todas estas constantes. La propiedad aditiva de las constantes de velocidad es de gran importancia ya que permite el cálculo de constantes desconocidas y la fracción total de los fármacos removidos desde el cuerpo por una vía específica.

Si un medicamento es administrado por vía oral, la constante de velocidad para la entrada de fármaco en circulación sistémica, es descrita por la velocidad de absorción, K_a . Diferentes medicamentos provenientes de diferentes productores, los cuales contienen el mismo fármaco y administrados por la misma vía de administración, resultan usualmente diferentes en perfiles sanguíneos, debido a diferentes velocidades de absorción. No obstante, la verdadera velocidad de absorción debe ser una constante para un fármaco en particular y una particular vía de administración sujeta solamente a una variación biológica.

De ahí, que las diferencias que se presentan en la velocidad de absorción para un fármaco en particular desde diferentes medicamentos, son explicadas por el hecho que hemos medido velocidades de absorción "aparentes".

La verdadera velocidad de absorción se obtendría si el fármaco estuviera en solución acuosa en el sitio de absorción. Velocidades aparentes de absorción son aquellas observadas después de la administración de un medicamento desde el cual el fármaco debe primeramente ser liberado antes que pueda ser absorbido.

En cualquier caso, dado que la velocidad de liberación del fármaco es mucho más lenta que la no restringida velocidad de absorción, lo que se obtiene es una velocidad de absorción aparente.

1.5.5 Tiempo de vida media.

El tiempo de vida media de un proceso de primer orden es una constante para un proceso dado de velocidad. Puede ser definido considerando la variable previamente definida, X .

La vida media es el tiempo requerido para que X_t se vuelva igual a la mitad de X_0 . Así, es el tiempo requerido para que la variable X decaiga a un medio de su valor inicial, o sea:

$$\ln\left(\frac{X_t}{X_0}\right) = -K_e t$$

Por definición la vida media, X_t , X_0 es igual a 0.5 para el $t_{1/2}$, de forma tal:

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K_e}$$

Esto ilustra que el tiempo de vida media es independiente de la concentración inicial. Un proceso el cual se comporta de acuerdo a cinética de primer orden, tendrá un valor uniforme para $t_{1/2}$ durante todo el proceso. Este requerimiento sirve de comprobación para determinar la adherencia a los principios de primer orden.

Esta diferencia puede ser usada para distinguir los procesos de orden cero y primer orden variando la concentración inicial o dosis y midiendo el $t_{1/2}$ resultante.

La vida media biológica puede ser definida usando los datos de concentración sanguínea como un punto de referencia o desde el punto de vista de una respuesta biológica observada. Esta ambigüedad debe tenerse en cuenta, dado que la vida media basada en la respuesta biológica puede o no ser la misma a la determinada a partir de datos en sangre. Ellos coinciden solo cuando existe una relación directa entre la concentración sanguínea y el efecto biológico. Desde el punto de vista farmacocinético, se determinan valores de vida media a partir de los datos sanguíneos.

1.6 Factores que afectan la biodisponibilidad.

La Biofarmacia es una disciplina aplicada que alcanza su mayor potencialidad en las etapas de preformulación que conllevan al diseño de un medicamento. Ello conjuga las relaciones entre las propiedades fisicoquímicas de un medicamento y la respuesta terapéutica observada después de su administración.

La administración oral del medicamento es preferida en muchos casos. Factores tales como la solubilidad, velocidad de disolución o de liberación, permeabilidad, degradación gastrointestinal y la rápida biotransformación del fármaco, todos por sí solos pueden contribuir a las características de disponibilidad. Estos factores pueden ser estudiados individualmente, y muchos problemas pueden ser corregidos antes de que inicie la etapa de formulación y la propia evaluación clínica

El propósito esencial de los estudios biofarmacéuticos durante las etapas de preformulación del desarrollo de un medicamento dado, es proveernos de los elementos necesarios para tomar las decisiones críticas tales como cuál forma del fármaco será recomendada para la tolerancia animal, el diseño de la formulación y los estudios clínicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Ello constituye una consideración importante en las fases tempranas del programa de desarrollo de un medicamento, ya que las modificaciones subsecuentes del fármaco, como la micronización o formación de una sal, pueden requerir la repetición de los estudios de tolerancia animal así como los estudios clínicos.

En las diferentes etapas de la preformulación del desarrollo de un medicamento, es importante tener definido el límite de absorción de un fármaco, o sea, la velocidad máxima u óptima y magnitud de la absorción que puede ser alcanzada en la forma más rápidamente disponible diseñada para el fármaco en cuestión.

Ello es esencial, ya que una velocidad lenta de absorción puede dar como resultado un nivel de fármaco errático y variable el cual puede no ser reproducible en diferentes administraciones.

Finalmente, en el diseño de los estudios biofarmacéuticos cada fármaco debe ser considerado individualmente, ya que las propiedades fisicoquímicas, sus usos terapéuticos y las características de disposición fisiológica de los diferentes fármacos deben ser consideradas en el diseño y evaluación de tales estudios. Por lo tanto, en el desarrollo de un nuevo medicamento, debe considerarse no solamente las características farmacológicas y toxicológicas, sino además, las propiedades biofarmacéuticas del fármaco.

1.6.1 Factores tecnológicos.

Se puede dividir en cuatro grupos:

- A. Factores inherentes al fármaco
- B. Factores inherentes a la formulación del medicamento
- C. Factores inherentes al proceso y/o reproceso de fabricación del medicamento
- D. Condiciones de almacenaje y edad del producto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A. Factores inherentes al fármaco.

En relación con las propiedades del principio activo que pueden afectar su disolución y/o biodisponibilidad se pueden mencionar los siguientes:

- Solubilidad
- Velocidad de disolución
- Polimorfismo
- Estado cristalino
- Peso molecular
- Forma química
- pKa o pKb.
- Coeficiente de partición

B. Factores inherentes a la formulación del medicamento.

En cuanto a la formulación del medicamento, la elección del tipo y la cantidad de excipientes empleados de acuerdo a la forma farmacéutica que se trate, son de suma importancia respecto a la liberación y disolución del principio activo. Esto es así debido a que estas son las etapas previas a la absorción del fármaco hacia la circulación sistémica (biodisponibilidad). En general, para su elección deben considerar los siguientes puntos:

- Compatibilidad fisicoquímica de la formulación
- Presencia de agentes humectantes (forma sólida)
- Tipo, espesor y porosidad de recubrimientos (grageas, gránulos de liberación controlada)
- Evitar la formación de masas viscosas que retardan la disolución y difusión del principio activo.
- Forma, tamaño y porosidad de las matrices que contienen el fármaco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C. Factores inherentes al proceso de manufactura.

Un diseño y/o control inadecuado de operaciones tales como molienda, mezclado, compresión y secado entre otras, pueden modificar el estado cristalino de una sustancia y por ende, sus propiedades de disolución. La disolución del principio activo es en muchos casos, el proceso limitante para la absorción de un fármaco y por tanto puede modificar el inicio, la intensidad y la duración del efecto farmacológico.

D. Condiciones de almacenaje y periodo útil del producto.

Los medicamentos son mezclas complejas de componentes susceptibles de reaccionar o de modificarse con el paso del tiempo, o con la influencia de factores externos. Por tanto, las condiciones de almacenaje y periodo útil del medicamento deben ser establecidos mediante estudios acelerados de estabilidad. Con lo anterior, se debe garantizar que los procesos de liberación y de disolución del fármaco contenido en el medicamento sean óptimos durante el periodo de vigencia del producto.

1.6.2 Factores biológicos

Entre los factores biológicos que pueden afectar la disolución y/o biodisponibilidad de un fármaco se pueden mencionar los siguientes:

- pH y presencia de enzimas en el sitio de administración del medicamento (efecto del primer paso, inestabilidad fisicoquímica)
- Velocidad de vaciamiento gástrico y motilidad intestinal.
- Condiciones dietéticas relacionados con la administración del medicamento (ayuno, alimento graso, etc.)
- Índice de perfusión sanguínea en el sitio de depósito y/o de absorción del fármaco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.6.3 Factores clínicos y terapéuticos.

-Estado fisiopatológico del paciente: funcionamiento hepático, renal, digestivo.

-Terapia múltiple:

- a. Competencia en el caso de transporte activo, en el sitio de absorción del fármaco.
- b. Competencia por unión a proteínas.
- c. Competencia por los procesos de biotransformación.
- d. Competencia por los procesos de excreción.

Los factores tecnológicos que afectan la disolución y/o la biodisponibilidad de un fármaco contenido en una forma de dosificación, son susceptibles de estudio y modificación, a fin de garantizar un óptimo de biodisponibilidad como punto de partida para el diseño de una terapia segura y eficaz.

Por otra parte, los factores biológicos, clínicos y terapéuticos que pueden modificar la biodisponibilidad de un fármaco, deben ser cuidadosamente considerados y controlados, durante el tratamiento, ajustándole régimen de dosificación en caso necesario, con ayuda de conocimientos sólidos de farmacocinética.

Todas las categorías de factores pueden alterar la velocidad y magnitud del nivel de fármaco en la circulación sistémica, pero ello puede afectar también en particular la distribución, biotransformación y eliminación del fármaco. Las características fisicoquímicas del fármaco y forma farmacéutica son de gran importancia para el destino del fármaco en el sistema LADBE (Liberación, Absorción, Distribución, Biotransformación y Eliminación).

Los datos químicos usualmente determinados durante la síntesis y aislamiento de un nuevo compuesto, debe contener información de parámetros fisicoquímicos tales como los parámetros de estabilidad (fotosensibilidad, termolábil, hidrólisis), solubilidad, pKa, coeficiente de partición y otros. Ellos serán útiles para la consecuente evaluación biofarmacéutica del compuesto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. DISOLUCIÓN.

2.1 Definición.

La disolución esta definida como el proceso por el cual un compuesto químico o fármaco sólido llega a estar disuelto en un disolvente, formándose una solución homogénea, controlado por la afinidad entre la sustancia sólida y el disolvente.

En la **Figura 4**, se presenta un esquema que relaciona los fenómenos involucrados en el proceso de liberación y disolución de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida. Además, se indica que el proceso de disolución puede realizarse también desde la superficie de un producto sólido, como comprimido o tableta, pero por la pequeña superficie expuesta a los líquidos de disolución, es muy limitado.

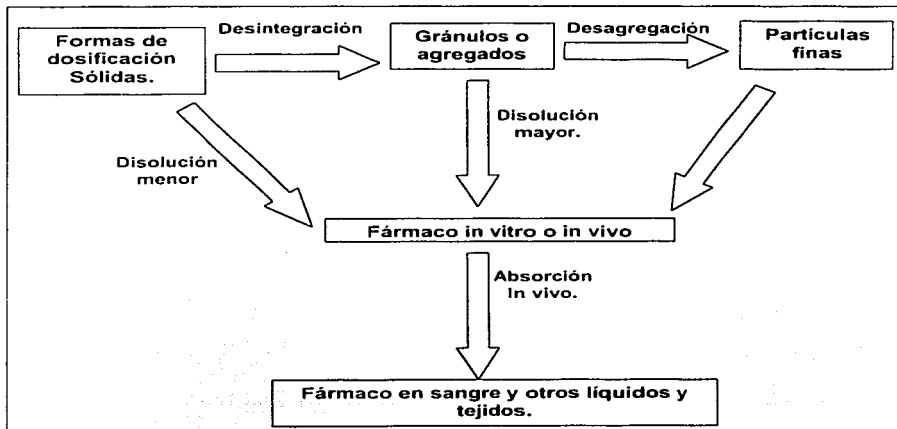


FIGURA 4: Modelo propuesto por Carstensen.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.2 Objetivos del estudio de disolución in vitro.

Un estudio de liberación del fármaco o de disolución adecuadamente diseñado, tiene como objetivos:

- ✓ Guiar en el desarrollo y optimización del proceso / formulación.
- ✓ Vigilar el desempeño del proceso de manufactura tanto durante el desarrollo como en la aprobación del producto.
- ✓ Minimizar el riesgo de bioinequivalencia entre lote y lote.
- ✓ Obtener la aprobación reglamentaria de formas sólidas orales.

Para satisfacer todos estos objetivos, la prueba de disolución in vitro debe ser predictiva de la biodisponibilidad in vivo. Por supuesto, esto no siempre es posible. La capacidad de una prueba para enfocarse a este ideal depende de las propiedades físicas y químicas de los medicamentos, del tipo de producto (de liberación inmediata o prolongada), y del método usado para establecer el desarrollo del proceso

La velocidad de disolución se puede influenciar por diversos factores tales como el proceso de manufactura, las variables de formulación (tipo y cantidad del excipiente), contenido de humedad y propiedades del material. Estas variaciones sirven para complicar el desarrollo de un método e interpretación de los datos. No es sorprendente por lo tanto, que la prueba de disolución genere un interés importante durante la revisión reglamentaria de los productos sólidos de dosis orales (Skoug, j., *Pharmaceutical Technology 1996*, pp. 8-15).

2.3 Etapas del proceso de "puesta a disposición" del fármaco.

Para determinar la velocidad de disolución de los fármacos a partir de las formas de dosificación sólidas bajo condiciones estandarizadas, se deben considerar varios procesos fisicoquímicos.

Estos incluyen las características de humidificación de las formas sólidas de dosificación, la capacidad de penetración del medio disolvente dentro de las formas de dosificación, el proceso de hinchamiento, la desintegración y la desagregación.

Carstensen (**Cartensen, 1977, p. 224-237**) explicó que la humidificación de la superficie sólida de la dosificación controla el acceso de líquido a la superficie sólida, y muchas veces, es el factor limitante en el proceso de disolución. La velocidad de humidificación depende directamente de la tensión superficial a nivel de la interfase (tensión interfacial) y sobre el ángulo de contacto, entre la superficie sólida y el líquido.

La incorporación de un tensoactivo, ya sea en la formulación o en el medio de disolución, reduce el ángulo de contacto y aumenta la disolución. Además, la presencia de aire en el medio de disolución, hace que queden atrapadas burbujas de aire dentro de los poros de la tableta y actúan a modo de barrera a nivel de la interfase.

Después que la forma de dosificación sólida se desintegra en gránulos o se agrega, las características de penetración juegan un papel preponderante en el proceso de desagregación. Los lubricantes hidrofóbicos, tales como el talco y el estearato de magnesio, usados comúnmente en la formulación de cápsulas y tabletas, reducen la velocidad de penetración y, por lo tanto, el proceso de desagregación.

Un gran tamaño de poro facilita la penetración, pero si es demasiado grande puede inhibir la penetración mediante la disminución de la presión interna causada por la hinchazón del desintegrante.

2.4 Disolución de fármacos como proceso limitante de su absorción.

La prueba de disolución in vitro es un requerimiento clave para el desarrollo, registro y control de calidad de formas sólidas de dosis orales en la industria farmacéutica.

Quando se administra un fármaco por vía oral en forma sólida, tal como una tableta, cápsula; o intramuscular en forma de pellet o suspensión, frecuentemente se encuentra que la velocidad de absorción es controlada por cuan rápido el fármaco se disuelve en los fluidos del sitio de absorción. En otras palabras, la velocidad de disolución es a menudo el paso de velocidad- limitante.

2.5 Correlación entre la desintegración y la disolución.

La estrecha correlación existente entre la desintegración y la disolución ha sido estudiada por muchos investigadores. Ambos procesos exhiben curvas con formas de "S" o sigmoideas, lo que sugiere que los datos sean explicables por una función de tipo probit o weibul. En general, no obstante, la desintegración ha resultado ser un indicador deficiente de la biodisponibilidad debido a la agitación turbulenta mantenida durante la prueba. Otros factores tales como la solubilidad, el tamaño de partícula, y la estructura cristalina, entre otros, afectan la disolución del fármaco.

2.6 Factores que afectan la disolución.

Los factores que afectan la velocidad de disolución (Tabla 1) de las formas de dosificación de los fármacos pueden clasificarse bajo tres categorías principales:

- ✓ Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.
- ✓ Factores tecnológicos que influyen en la disolución
- ✓ Efectos de los parámetros de prueba sobre la velocidad de disolución.

TABLA 1: Factores que influyen en la velocidad de disolución.

ELEMENTO DE LA PRUEBA DE DISOLUCION	FACTOR QUE INFLUYE EN LA DISOLUCION		CONSECUENCIAS
Aparato de Disolución	Geometría del contenedor del medio de disolución		Un vaso de fondo plano cambiara los resultados dado que la tableta se mueve continuamente. Esto se resuelve usando un vaso con fondo redondo
	Alineación del dispositivo usado para agitar el medio de disolución		Una alineación deficiente del dispositivo agitador (aparato USP 1y 2) provocara un cambio en la velocidad de agitación.
	Velocidad de agitación del medio de disolución		Un aumento en la velocidad de agitación aumenta la velocidad de disolución cuando la disolución esta controlada por el transporte de masa
Medio de Disolución.	Composición del medio	pH	Al aumentar el pH del medio de disolución aumenta la velocidad de disolución de un fármaco ácido débil. Al disminuir el pH del medio de disolución aumenta la velocidad de disolución de un fármaco base débil
		Viscosidad	Al aumentar la viscosidad, disminuye la velocidad de disolución.
		Presencia de adsorbentes	Mantiene el gradiente de concentración constante (condición sink), por lo que la velocidad de disolución también permanece constante
		Tensoactivos	Modifican la tensión superficial de las interfaces que se forman entre aire, sólido y líquido, disminuyéndola, con la cual aumenta la velocidad de disolución
Sólido a disolver	Gases disueltos en el medio de disolución		Disminuyen el área de contacto entre la tableta y el disolvente, disminuyendo la velocidad de disolución.
	Solubilidad	Naturaleza química	Al aumentar el número de grupos polares en la molécula, aumenta la velocidad de disolución.
		Polimorfismo	En muchos casos existen diferentes estructuras cristalinas para un mismo fármaco, y algunas son más solubles que otras.
		Impurezas	Al aumentar el número de impurezas, disminuye la velocidad de disolución.
Área superficial	Tamaño de partícula	A menor tamaño de partícula, existe una mayor área superficial, por lo tanto aumenta la velocidad de disolución.	

2.7 Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.

Las propiedades fisicoquímicas del fármaco juegan un papel importante en el control de su disolución a partir de su forma de dosificación. La ecuación de Noyes Whitney muestra que la solubilidad del fármaco es el factor principal que determina su velocidad de disolución, otros factores son el tamaño de partícula, el estado cristalino, tal como el polimorfismo y el estado de hidratación, la solvatación, la complejación, al igual que los tensoactivos y otros aditivos.

2.7.1 Solubilidad.

La solubilidad es un parámetro termodinámico que representa la concentración de la solución de un fármaco en equilibrio con el soluto. Según la ecuación de Noyes y Whitney, la solubilidad de una sustancia representa el factor más importante en la velocidad de disolución.

$$\frac{dm}{dt} = KS(C_s - C)$$

donde:

C_s: Es la cantidad máxima que se puede disolver

C : Es la cantidad disuelta a un tiempo t.

si C_s ≠ C, la ecuación adopta la forma:

$$\frac{dm}{dt} = KSC_s$$

Luego, si la superficie del sólido permanece constante durante todo el proceso, la velocidad de disolución es directamente proporcional a la solubilidad. Varios factores pueden modificar la solubilidad de una sustancia sólida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.7.2 Superficie libre.

Tamaño de partícula

Es un hecho bien establecido que el aumento del área superficial de las partículas que intervienen en el proceso de disolución determina un incremento proporcional en la velocidad de este, como queda expresado en la ecuación de Noyes y Whitney. Hace tiempo se considera que la molienda o el pulverizado de las sustancias sólidas acelera la velocidad de disolución. Dicha pulverización no es más que una manera de aumentar la superficie específica del sólido.

2.8 Factores tecnológicos que influyen en la disolución. (Carcamo, 1981, pp. 65-67)

Los coadyuvantes empleados en la preparación de formulaciones farmacéuticas sólidas, así como los procedimientos de fabricación (mezcla, granulación, fuerza de compresión, etc.) pueden ejercer muy diversos efectos sobre las características de disolución de los principios activos contenidos en ellos. De todas la formas farmacéuticas, los comprimidos son los que suelen presentar mas a menudo problemas de disolución debido a su complejidad en cuanto a componentes y procesos a que debe recurrirse para obtener una forma farmacéutica aceptable.

2.8.1 Fuerza de compresión.

En sus primeros estudios sobre la física de la compresión de tabletas Higuchi señaló la gran influencia de la fuerza de compresión empleada en el proceso de fabricación de tabletas sobre la densidad aparente, porosidad, dureza, tiempo de desintegración y tamaño de partícula promedio de las tabletas comprimidas. Siempre hay una relación de competencia entre el efecto aumentador debido al incremento de superficie a través del efecto de compresión y el efecto inhibitor debido al aumento en la unión de partículas que ocasionan un aumento de densidad y dureza y, por consiguiente, una disminución en la penetrabilidad del disolvente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Van Ooteghem y colaboradores han observado en mediciones con un contador de Coulter que durante la compresión es muy difícil mantener las características granulométricas de los principios activos. Estos autores han observado que las partículas finas muestran una fuerte tendencia a la aglomeración en tanto que las partículas más grande se rompen, dando origen a partículas más finas.

La alta compresión también puede inhibir la humidificación de la tableta debido a la formación de una capa sellante más firme y eficaz por parte del lubricante bajo la alta presión y temperatura que usualmente acompaña a una intensa fuerza compresiva.

2.8.2 Método de granulación.

En diferentes estudios acerca de granulados preparados con métodos convencionales, se ha demostrado que las características de flujo, así como la velocidad de liberación de los principios activos, estaban estrechamente ligados a las dimensiones de los gránulos y al tamaño de partículas de dichos principios (Carcamo, 1981, p. 55-57).

La influencia del tamaño inicial de las partículas del principio activo en una formulación origina, evidentemente, variaciones en la velocidad de disolución. Ya se ha señalado que cuanto más pequeña es la partícula, más rápida es la disolución. Sin embargo, no debe olvidarse que durante los procesos de obtención del comprimido el principio activo puede experimentar transformaciones, en especial de tipo físico, como variaciones en el tamaño granulométrico por ruptura o por aglomeración durante la compresión.

Así mismo los estudios han demostrado que el proceso de granulación, en general, aumenta la velocidad de disolución de fármacos pobremente solubles.

El uso de rellenos y diluyentes, tales como el almidón, lactosa secada por rociado y celulosa microcristalina, tienden a aumentar la hidrofiliidad de los componentes activos e incrementar sus características de disolución (solubilidad, humectación).

Respecto a esto, el procedimiento de granulación húmeda se considera tradicionalmente como un método superior comparado con el procedimiento seco o de doble compresión. Con la llegada de nuevas máquinas manufactureras de tabletas y de nuevos materiales, no obstante, se hizo más evidente que la cuidadosa formulación y adecuada secuencia de mezclado y el tiempo para agregar los diversos componentes son los criterios principales que afectan las características de disolución de las tabletas.

2.9 Efectos de los parámetros de prueba sobre la velocidad de disolución.

2.9.1 Medio de disolución.

La selección del líquido adecuado para las pruebas de disolución depende principalmente de la solubilidad del fármaco, al igual que de razones económicas y prácticas. Anteriormente se enfatizó en simular las condiciones in vivo, especialmente el pH, la tensión superficial y la viscosidad. La mayoría de los primeros estudios fueron realizados en HCl 0.1N o soluciones buffer con un pH cercano al del jugo gástrico ($\text{pH} \approx 1.2$).

La solución ácida tiende a desintegrar las tabletas algo más rápido que el agua y por lo tanto puede aumentar la velocidad de disolución aumentando la superficie eficaz. Sin embargo, debido a la acción corrosiva de los vapores ácidos sobre el equipo de disolución, es de práctica común usar agua destilada a menos que la investigación muestre que hay una necesidad específica para usar la solución ácida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.9.2 Volumen.

El volumen del líquido de disolución a emplear depende, en gran parte, de la solubilidad del principio activo en el líquido seleccionado para el ensayo. Si la solubilidad es baja y la cantidad de fármaco en la forma farmacéutica es alta, se requiere una gran cantidad de líquido para no llegar a la saturación de este. Por este motivo algunos investigadores han propuesto lo que se denomina la regla del 25%. Esto quiere decir que debería emplearse cuatro veces más líquido que la cantidad necesaria para disolver todo el principio activo presente en la forma farmacéutica analizada. Esta regla no siempre es aplicable ya que los productos muy insolubles en los líquidos acuosos requieren volúmenes muy grandes del líquido de disolución.

2.9.3 Temperatura

Como la solubilidad del fármaco depende de la temperatura, su cuidadoso control durante el proceso de disolución es muy importante, probablemente este factor es el único en el cual coinciden todas las técnicas, ya que constituye el parámetro in vivo que puede ser reproducido mas fácilmente en el laboratorio. Generalmente, la temperatura empleada en estos ensayos es de 37°C, la cual por afectar de manera marcada la solubilidad de los fármacos, debe ser mantenida dentro de límites de variación muy estrechos mediante el uso de termostatos adecuados.

2.9.4 Recipiente de disolución.

La elección del recipiente donde se efectúa la disolución es, en cierta medida, de fundamental importancia. El tamaño puede variar desde algunos mililitros hasta varios litros según el método empleado. El recipiente puede ser un vaso, un frasco o, en los aparatos basados en la diálisis del producto disuelto, una celda de diálisis de pequeña capacidad de líquido.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Algunos autores confieren gran importancia a la forma del recipiente de disolución, ya que se han detectado diferencias apreciables según sea su forma. Por ejemplo, en el empleo de vasos de fondo plano se observa diferencias según la posición en que se sitúa el comprimido; ya sea en el centro o en la periferia o cerca de las paredes.

Una vez desintegrado el comprimido, si el producto forma un montículo central o se dispersa en el líquido, los resultados son también distorsionados. Por este motivo, se ha propuesto el empleo de frascos de fondo redondo, en los cuales el comprimido o cápsula o bien el producto de su desintegración quedará siempre en posición central.

2.9.5 Sistema de Agitación.

Este factor, de gran importancia en un estudio de cinética de disolución de medicamentos, puede adoptar diferentes modalidades. La más empleada, por su sencillez, consiste en introducir una varilla agitadora provista de paletas y conectada con un motor que le imprima una velocidad de agitación regular y adecuada mientras dura el estudio. En algunos sistemas de agitación se aplica el movimiento ascendente-descendente del canastillo de desintegración.

2.10 Métodos para medir la velocidad de disolución.

En la USP se indican siete métodos que pueden utilizarse para medir la velocidad de disolución de formas farmacéuticas sólidas. Para el estudio de disolución de Bolos de Sulfametazina sódica se utilizó el método II o Método de la paleta el cual se describirá brevemente a continuación:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Método II o Método de la paleta.

Este método es el que utiliza flechas verticales como medio de agitación, y del cual se deriva, según el aditamento presente al final de la misma el denominado método 2 o de propelas rotatorias.

Este equipo (Figura 5) al igual que los demás tienen en común, un termo-baño para proporcionar una temperatura fija durante todo el periodo de prueba. Siempre que es posible, los módulos de control de velocidad, de calentamiento del baño son independientes del cuerpo principal del disolutor, para evitar problemas de vibración.

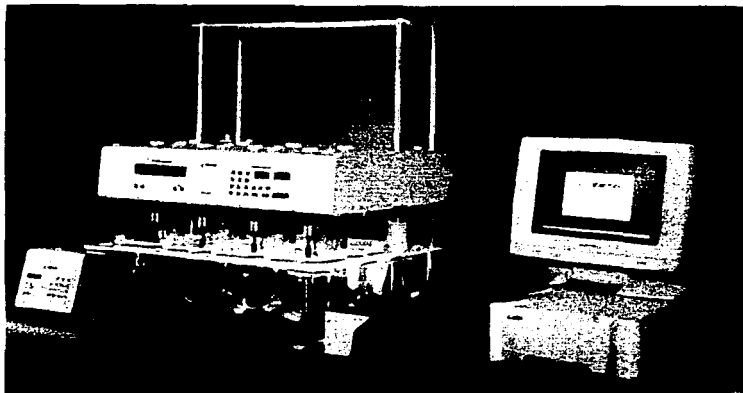


FIGURA 5: Esquema general del disolutor automatizado.

Los vasos de disolución (Figura 6) deben ser de capacidad nominal de 1000 ml, de paredes lisas y fondo redondo. Al igual se emplea una paleta de 3 a 5 mm de espesor y de 83 mm de diámetro, recubierta con un polímero fluorocarbonado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Esta paleta se sumerge en el líquido de disolución de modo que su borde inferior quede a una distancia de 2.5 cm del fondo del vaso.

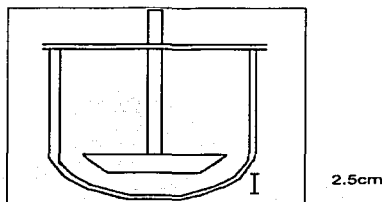


FIGURA 6: Representación esquemática del Equipo Farmacéutico utilizado (Aparato N° 2 de paletas o propelas).

La USP no da instrucciones acerca de la toma de las alícuotas para el análisis, pero puede recomendarse que estas sean sacadas desde el punto intermedio entre la superficie del medio de disolución y el borde superior de la paleta y en el punto medio entre la pared del vaso y del vástago de la paleta.

CINÉTICA DE DISOLUCIÓN.

Aun cuando los ensayos de disolución se encuentran ampliamente difundidos, muy pocos investigadores han formulado los principios cinéticos correspondientes. Las condiciones empleadas en estos ensayos originan cinéticas diferentes, según sea la técnica empleada.

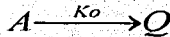
Disolución que implica una cinética de orden cero.

Este orden cinético se puede observar en los casos en que se procura disolver una pequeña cantidad de producto sólido en un gran volumen de disolvente. En un sistema así, la cantidad del sólido es tan pequeña con relación al volumen total del

líquido de disolución, que la influencia de la cantidad que se va disolviendo es despreciable y la reacción puede considerarse como de pseudo orden cero. Esta situación se presentaría cuando la cantidad disuelta no excede de un 10% de la solubilidad del producto en el disolvente.

También es posible observar este tipo de cinética en productos que se disuelven muy lentamente y en los cuales, si bien el orden total corresponde a un proceso de primer orden, la parte inicial de la curva de disolución corresponde a una cinética de pseudo orden cero.

Si nos basamos en el esquema:



en la cual A representa la cantidad de sustancia agregada inicialmente al sistema disolvente, Q la cantidad de esta en solución y K_0 la constante de velocidad de disolución de orden cero, la variación de Q en función del tiempo queda definida por la ecuación:

$$\frac{dQ}{dt} = K_0$$

La cual por integración entre el tiempo cero y t da:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t$$

ecuación en que Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en un tiempo t.

Conforme a esta expresión, la velocidad con que el sólido se disuelve en el disolvente es constante con el tiempo e independiente de la concentración del soluto. Luego, al representar la cantidad que se va disolviendo a diferentes tiempos (Q_t) en función del tiempo, se obtiene una gráfica recta cuya pendiente es la constante de velocidad del proceso, como se indica en la **Figura 7**:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

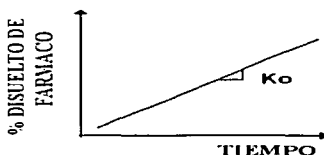


FIGURA 7: Representación gráfica del modelo de disolución de orden cero.

Por lo tanto si al graficar los datos de por ciento disuélto del fármaco en función del tiempo en papel milimétrico se obtiene una recta con pendiente positiva, la constante de velocidad es de orden cero.

Disolución que implica una cinética de primer orden.

Este tipo de cinética es, probablemente, la más frecuente en los métodos llamados "no sink". Por lo general, las curvas de disolución de productos que siguen estas cinéticas tienen la forma mostrada en la siguiente **Figura 8**, o sea tipo sigmoideo.

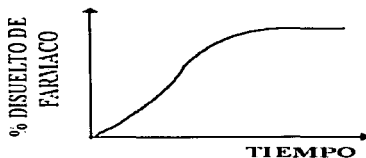
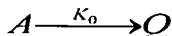


FIGURA 8: Representación gráfica de una cinética de primer orden

En estos métodos a medida que la cantidad de fármaco en estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto. Este mismo hecho crea, al ir aumentando la concentración de la solución, las condiciones para que el

proceso aparezca como de primer orden, en el cual la velocidad de disolución es función de la concentración del fármaco disuelto.

Si nos basamos en el esquema anterior:



en el cual A es el fármaco agregado al medio de disolución o la cantidad de fármaco incluido en la forma farmacéutica en estudio; Q es la cantidad de fármaco que aparece en el líquido de disolución en forma de solución, y K_0 la constante de velocidad de disolución de primer orden, podemos establecer que la disminución de A en función del tiempo puede expresarse por la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{dA}{dt} = -K_0 A$$

Si se integra esta ecuación entre los límites de tiempo cero y t, se obtiene:

$$A_t = A_0 e^{-K_0 t}$$

donde A_t es la cantidad de fármaco no disuelto a tiempo t y A_0 , es igual a la cantidad de fármaco en solución luego de un tiempo infinito, tendremos que $A_0 = Q_\infty$ por lo tanto:

$$A_t = Q_\infty e^{-K_0 t}$$

Como la cantidad de fármaco que pasa en solución a tiempo t sería Q_t , la cantidad de fármaco que va quedando sin disolverse a este mismo tiempo es:

$$A_t = Q_\infty - Q_t$$

Si se reemplaza este valor en la ecuación anterior se obtiene:

$$Q_\infty - Q_t = Q_\infty e^{-K_0 t}$$

Reordenando:

$$\frac{Q_{\infty} - Q_t}{Q_{\infty}} = e^{-K_0 t}$$

Por lo tanto:

$$1 - \frac{Q_t}{Q_{\infty}} = e^{-K_0 t}$$

Expresada esta ecuación en forma logarítmica:

$$\ln\left(1 - \frac{Q_t}{Q_{\infty}}\right) = \frac{K_0 t}{2.303}$$

Luego, al construir un gráfico que relacione el logaritmo de $\left(1 - \frac{Q_t}{Q_{\infty}}\right)$ con el tiempo, se obtiene una recta con pendiente igual a $-k_0$, de la cual podemos caracterizar la constante de velocidad de disolución de primer orden K_0 .

Para representar los resultados de disolución de manera gráfica se relaciona el porcentaje del fármaco no disuelto y el tiempo, ya que

$$\text{Porcentaje no disuelto} = \left(1 - \frac{Q_t}{Q_{\infty}}\right) * 100$$

Con el gráfico resultante se obtiene una recta como la indicada en la **Figura 9**.

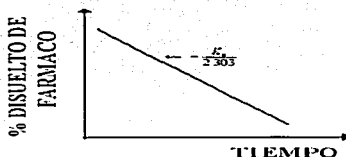


FIGURA 9: Representación gráfica de una cinética de primer orden.

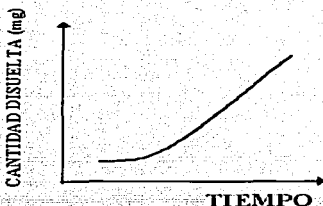
Cinética de la raíz cuadrada.

Cuando al graficar la cantidad de fármaco disuelto por unidad de superficie en función de la raíz cuadrada del tiempo, se obtiene una recta, la cinética de disolución pertenece al modelo de la raíz cuadrada de Higuchi. Este caso es característico de la liberación de un fármaco a partir de matrices.

La ecuación que la representa es:

$$Q = K \cdot t$$

y la representación gráfica es la siguiente



Seguendo con los sistemas en los que la difusión es el mecanismo dominante para la liberación del principio activo, Rigter y Pepas propusieron una ecuación semi-empírica, válida en la primera parte de la liberación

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n$$

M_t es la cantidad liberada a un tiempo t , M_∞ es la cantidad liberada a tiempos muy grandes y puede ser o no igual a la cantidad total del fármaco; M_t/M_∞ representa la fracción liberada de fármaco; la constante K y n , son características del fármaco-polímero. El exponente difusional, n es dependiente de la geometría del dispositivo, así como del mecanismo físico de liberación.

Para la clásica difusión Fickiana, dichos autores determinaron que el valor para el exponente difusional fue de 0.5 para geometría plana, 0.45 para dispositivos cilíndricos y 0.43 para dispositivos esféricos.

Con la determinación del exponente difusional, se puede obtener información acerca del mecanismo físico que controla la liberación desde un sistema particular; basándonos en el valor de n , el transporte en una geometría plana es clasificada como difusión Fickiana ($n=0.5$), transporte caso II ($n=1$), transporte no Fickiano o Anómalo ($0.5 < n < 1$) y transporte Super caso II ($n > 1$), esto asumiendo que la difusión del activo a través de la membrana obedece a la Ley de Fick.

Según la primera Ley de Fick, en la teoría de la película, el valor del flujo (J) (cantidad de sustancia que pasa por unidad de tiempo a través de la superficie) en el equilibrio es

$$J = -D \frac{\delta C}{\delta x}$$

Donde D es el coeficiente de difusión y $\delta c/\delta x$ Gradiente de concentración.

Si m es la cantidad disuelta en función del tiempo t , para una superficie de intercambio S ; C_s , la concentración a saturación (en la zona de contacto entre el líquido y el sólido); y C , la concentración en un punto de la solución, fuera de la película que envuelve al sólido, la variación instantánea de m en función del tiempo puede escribirse:

$$\frac{dm}{dt} = KS(C_s - C) \text{ donde } K \text{ es la constante de velocidad de disolución.}$$

3. CORRELACIÓN IN VIVO - IN VITRO.

3.1. Definición.

Gradualmente, la determinación de las velocidades de disolución in vitro, ha evolucionado hasta representar un procedimiento normalizado para el control de calidad de las formas farmacéuticas terminadas. La investigación de la velocidad de disolución de una forma sólida, ha llegado a ser de gran importancia, para asegurar la biodisponibilidad de un medicamento dado.

El último desafío para las pruebas de disolución es su habilidad para reflejar y predecir el comportamiento in vivo de la forma farmacéutica durante la fase de absorción que sigue a la administración oral. Indiscutiblemente, las correlaciones de la velocidad de disolución in vitro con el efecto terapéutico serán definitivamente más valiosas para establecer especificaciones de disolución; la correlación con las funciones in vivo de plasma y orina, serán lógicamente la información más útil y cercana para el sentido predictivo de las pruebas de disolución. Actualmente, el parámetro más usado para correlacionar los resultados de disolución in vitro y biodisponibilidad, es la concentración plasmática del fármaco.

Es ampliamente conocido que la velocidad de liberación de un fármaco desde la forma farmacéutica en solución en los fluidos gastrointestinales es a menudo el paso de velocidad limitante para determinar la velocidad y la magnitud de la absorción. No obstante, las diferencias de las velocidades de disolución in vitro, frecuentemente no son paralelas a las diferencias en niveles sanguíneos.

A veces, ese hecho puede ser atribuido a las características particulares de absorción del fármaco, por lo tanto la disolución in vivo no es el paso limitante en la disponibilidad sistémica del fármaco libre farmacológicamente activo.

En otros casos, como cuando nos referimos a fármacos muy polares solubles en agua, el paso de velocidad limitante es el transporte del fármaco a través de la barrera intestinal. Es obvio, que la información derivada de los estudios de disolución in vitro para tales fármacos, solo puede ser delimitado como un valor predictivo. En estos casos, los intentos de correlacionar in vitro - in vivo representan esfuerzos inútiles(**Fernández, 1997 pp. 366-368.**)

En el diseño de sistemas de acción sostenida y de otros tipos de formulaciones, es importante establecer una buena correlación entre los perfiles de liberación in vitro y los niveles plasmáticos que la formulación proporciona in vivo. En esta sección se trata de mostrar el camino que debe seguirse para evaluar la correlación in vivo- in vitro de los sistemas propuestos.

La realización de una adecuada correlación in vivo - in vitro tiene que considerar no solos los aspectos farmacéuticos del diseño de los sistemas terapéuticos, sino también la farmacocinética y los aspectos biofarmacéuticos del agente terapéutico en el organismo después de su liberación, así como la farmacodinamia de este en su sitio de acción.

Como se ilustra en la **Figura 10**, el camino que las moléculas del fármaco seguirán después de su liberación consiste en un número de pasos intermedios (**Dekker, 1982, pp.563-569**): cada uno de estos puede determinar varios parámetros como el curso temporal y biodisponibilidad del principio activo en el tejido blanco, y de ahí el principio, intensidad y duración de su actividad farmacológica intrínseca.

Además en esta misma figura podemos observar que las moléculas de fármaco liberadas de un sistema de entrega a una velocidad controlada, se disuelven en el fluido del tejido donde se administró (en este caso, los fluidos digestivos) para después ser absorbidos a través de una serie de barreras biológicas a una velocidad determinada por la constante de absorción K_a ; al alcanzar la red de

vasos capilares, las moléculas de fármaco serán transportadas al compartimiento central.

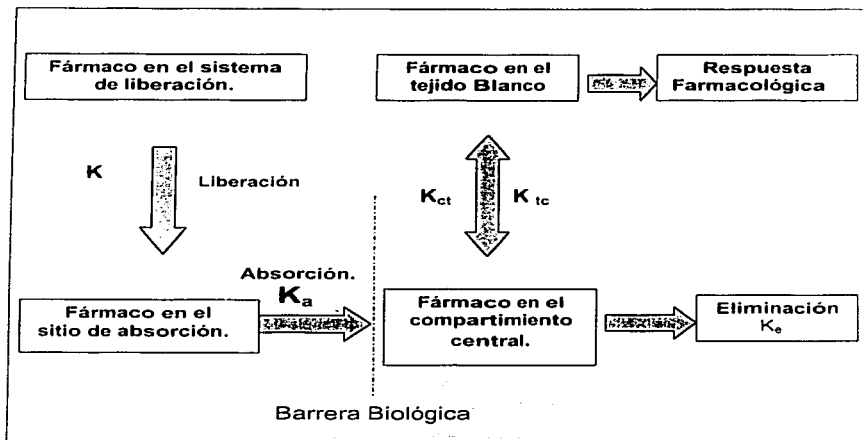


FIGURA 10: Esquema usado para establecer correlaciones in vivo in vitro de formulaciones de acción sostenida.

Una vez en la circulación sistémica, las moléculas se distribuyen rápidamente hacia su tejido blanco por medio de procesos de difusión reversibles a velocidades constantes determinadas por las constantes K_{ct} y K_{tc} .

En el tejido blanco, las moléculas de fármaco interactúan con los sitios receptores produciendo la respuesta farmacológica. La secuencia anterior es seguida por todos los fármacos que se administran por las vías oral, parenteral o transdérmica.

La velocidad con que un fármaco alcanza a entrar al organismo depende de la resistencia de las barreras biológicas que se encuentra a su paso, y por lo tanto puede no ser igual a la velocidad de liberación in vitro, pero sí relacionada con ella por medio de un factor de correlación in vivo- in vitro.

Por lo tanto definiremos la correlación in vivo in vitro basándonos en la USP como el establecimiento de una relación entre una propiedad biológica o un parámetro derivado de una propiedad biológica producida por una forma farmacéutica y una propiedad fisicoquímica o una característica de la misma forma farmacéutica.

Además, se debe considerar que las características de solubilidad y disolución son parámetros esenciales relacionados con la absorción de un fármaco. En el caso de fármacos cuya absorción esta limitada por el proceso de disolución, es de gran utilidad contar con métodos in vitro que, en cierto modo, puedan reflejar el comportamiento in vivo de la formulación.

3.2 Objetivos de la correlación in vivo-in vitro

Independientemente del nivel de correlación que se obtenga, se persigue, en primer lugar, obtener una prueba de disolución que sirva como sustituto del estudio de bioequivalencia durante el escalado, o cambios en el sitio de manufactura y equipos, y, en segundo lugar, ajustar especificaciones de disolución para cada formulación en particular.

Otro de los objetivos de las correlaciones in vitro – in vivo es diferenciar los productos de baja biodisponibilidad de aquellos considerados como terapéuticamente aceptables. La condición básica para cualquier intento de correlación es asegurarse de la fiabilidad de los resultados obtenidos in vitro e in vivo en condiciones experimentales rigurosas y reproducibles.

3.3 Tipos de correlaciones.

Frecuentemente se establecen los siguientes tipos de correlación:

A. Correlaciones farmacológicas basadas en la observación de respuestas clínicas como:

- a) El efecto máximo de un fármaco incluido en una forma farmacéutica.
- b) La magnitud del efecto, así como la duración del mismo.
- c) La eficacia terapéutica.

B. Correlaciones semicuantitativas, basadas en datos de niveles sanguíneos o de excreción urinaria.

C. Correlaciones cuantitativas, derivadas de cinéticas de absorción.

La correlación más importante, por ser la más informativa, pero la más difícil de obtener, es la cuantitativa. Esta se obtiene cuando existe una relación numérica entre las variables, cuantificable por medio de una ecuación matemática. A menudo la ecuación no se da, sino que se encuentra implícita en un gráfico en el cual una línea recta une los puntos que se correlacionan.

Otro tipo de correlación, descrita por Wagner, es la correlación ordenada, que corresponde a una correlación semicuantitativa. Esta correlación se observa cuando se altera la variable in vivo al variar el parámetro in vitro (**Wagner, 1983**, pp. 350).

A partir de lo anterior, de las definiciones establecidas y de la experiencia acumulada por muchos investigadores que han trabajado desde principios de la década de 1960 sobre este tema, se ha dividido la manera de obtener correlaciones en 3 niveles, en orden descendiente según su capacidad para predecir la curva plasmática completa que resultará de la administración de una forma dosificada dada. A continuación se definen los 3 niveles propuestos.

3.4 Niveles de correlación.

Nivel A: Por lo general una correlación de este tipo es lineal y representa una relación de punto a punto entre la disolución *in vitro* y la velocidad de toma *in vivo* (p.ej., la disolución *in vivo* del fármaco desde la forma de dosificación).

En una correlación lineal, las curvas de disolución *in vitro* e *in vivo* podrán ser directamente superponibles o podrán hacerse superponibles mediante el uso de un factor de escala. Las correlaciones no lineales, aunque poco comunes, también podrán ser apropiadas.

Es posible utilizar enfoques alternativos para elaborar una correlación *in vivo in vitro* (IVIVC) de Nivel A. Una alternativa se basa en un procedimiento que sirva de modelo de la relación entre la disolución *in vitro* y la concentración plasmática en un solo paso. Se comparan directamente las concentraciones plasmáticas predichas por el modelo con las observadas. Para estos métodos es deseable un tratamiento de referencia, pero la falta de él no impide la habilidad de elaborar una IVIVC.

No importa el método utilizado para establecer una IVIVC de Nivel A, el modelo deberá predecir el curso temporal *in vivo* entero a partir de los datos *in vitro*. En este contexto, el modelo se refiere a la relación entre la disolución *in vitro* de una forma de dosificación de liberación prolongada y una respuesta *in vivo* como la concentración plasmática del fármaco o la cantidad de fármaco absorbido.

Nivel B: Una IVIVC de Nivel B utiliza los principios del análisis del momento estadístico. Se compara el tiempo de disolución *in vitro* medio con el tiempo de residencia medio o con el tiempo de disolución *in vivo* medio. Una correlación de Nivel B, al igual que una de Nivel A, utiliza todos los datos *in vitro* e *in vivo*, pero no se considera una correlación de punto a punto. Una correlación de Nivel B no refleja en forma única la curva real del nivel plasmático *in vivo*, porque varias curvas *in vivo* distintas producirán valores de tiempo de residencia medio similares.

Nivel C: Una IVIVC de Nivel D establece una relación de punto único entre un parámetro de disolución, por ejemplo, $t_{50\%}$, el porcentaje disuelto en 4 horas, y un parámetro farmacocinético (p.ej., AUC, C_{max} , T_{max}). Una correlación de Nivel C no refleja la forma completa de la curva de tiempo de concentración plasmática, que es el factor crítico que define el rendimiento de los productos de liberación prolongada.

Nivel C múltiple: Una correlación de Nivel C múltiple relaciona uno o varios parámetros farmacocinéticos de interés con la cantidad del fármaco disuelto en diversos puntos temporales del perfil de disolución.

3.5 Criterios utilizados para la correlación.

Los criterios para establecer la correlación in vivo - in vitro se muestran en la **Tabla 2**, en la que se indican los parámetros más factibles a correlacionar.

TABLA 2: Criterios utilizados para establecer la correlación IVIVC.

Parámetros in vitro (X) Propiedades físicoquímicas (Disolución)	Parámetros in vivo (Y) Propiedades biológicas (Farmacocinéticas)
Tiempo de segregación.	Concentración sanguínea en función del tiempo.
Tiempo necesario para la disolución de determinada proporción de la cantidad a disolver ($t_{50\%}$, $t_{90\%}$, etc).	Concentración máxima alcanzada y tiempo correspondiente (C_{max} y T_{max}).
Cantidad o por ciento disuelto a un tiempo dado.	Área bajo la curva de concentraciones sanguíneas de un intervalo finito ($A_0 \rightarrow t, A_{t1} \rightarrow t_2, etc.$) después de una administración de una dosis única.
Proporción disuelta en función del tiempo (distintas escalas lineal/lineal, gaussiana/logarítmica, etc.).	Área bajo la curva total ($A_0 \rightarrow \infty$), después de la administración de una dosis única.
Proporción que permanece sin disolver en función del tiempo en escala logarítmica/lineal.	Área bajo la curva de dos administraciones consecutivas después del establecimiento de un equilibrio entre entradas y salidas ($A_{1,2}$).
Velocidad de disolución en función del tiempo (escala lineal/lineal, logarítmica/lineal, etc).	Cantidad excretada en orina a un tiempo determinado.
Constante de velocidad de disolución o semivida de disolución. Velocidad intrínseca de disolución	Constante de absorción o semivida de absorción, calculada por aplicación de un modelo farmacocinético a las concentraciones sanguíneas, o a la excreción urinaria.
Eficacia de disolución a un tiempo dado (superficie).	Excreción urinaria acumulada en función del tiempo.
*El proceso de disolución puede sustituirse por el de absorción con los mismos criterios.	Proporción absorbida en función del tiempo, por aplicación de los métodos de Warner-Nelson, Loo-Riegelman.

4. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.

Para determinar las concentraciones plasmáticas de Sulfametazina sódica en plasma es necesario el uso de un método analítico confiable, para dicha determinación se utilizó la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución la cual se describirá brevemente a continuación.

4.1 Definición.

La cromatografía de líquidos comprende todas las técnicas cromatográficas en las que la fase móvil es un líquido. Dentro de ellas se encuentran desde las más primitivas de cromatografía en papel, en capa fina o en columna abierta, hasta los métodos de cromatografía líquida de alta resolución. (Gassiot Matas HPLC Y EC) Por lo cual definiremos a la cromatografía líquida como un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases; una de ellas es una fase estacionaria, mientras la otra se mueve por percolación a través de esta fase (fase móvil). La separación se da como resultado de repetidas adsorciones y desorciones de los componentes a lo largo de la fase estacionaria, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes de la muestra.

4.2 Clasificación de la Cromatografía Líquida.

Existen muchas maneras de clasificar la cromatografía líquida en columna. Basándose en la naturaleza de la fase estacionaria y en los procesos de separación pueden enumerarse cuatro tipos:

- ✓ Cromatografía de adsorción.
- ✓ Cromatografía de partición.
- ✓ Cromatografía de intercambio iónico.
- ✓ Cromatografía de exclusión.

En cuanto a los dos primeros tipos de cromatografía, no siempre puede asegurarse cual de los procesos implicados (adsorción o reparto) desempeña el papel más importante. Por ello, en la práctica se definen dos o más tipos, según sea la polaridad relativa de las dos fases: Cromatografía en fase normal y Cromatografía en fase reversa. En este trabajo se empleo la última modalidad.

4.3 Cromatografía en fase reversa.

Esta nomenclatura obedece a razones históricas, como contraposición a la fase normal, modalidad en desuso en CLAR. La denominación en fase normal o fase inversa hace referencia a la polaridad relativa de las fases móvil y estacionaria. Mientras que en fase normal la fase estacionaria es más polar que la fase móvil, en fase inversa el sistema cromatográfico esta constituido por una fase estacionaria, que generalmente es de naturaleza apolar, y una fase móvil más polar que la fase estacionaria.

La cromatografía de líquidos en fase inversa es el modo de CLAR más empleado en la actualidad. Se estima que el 50% de las separaciones que se llevan a cabo en cromatografía de líquidos emplean este modo. Este hecho se debe a la comercialización de rellenos específicos para esta modalidad, que son estables, reproducibles, de pequeño tamaño de partícula, y que permiten alcanzar una elevada velocidad de transferencia de materia, lo que da lugar a columnas con elevada eficacia (**Dabrio, 2000, p. 281**).

4.4 Mecanismo de Separación.

El mecanismo por el cual tiene lugar la separación en fase inversa esta abierto a debate. Su estudio supone un conocimiento lo mas detallado posible de las fuerzas que intervienen en la interacción del soluto con los componentes de la fase móvil, la interacción del soluto con las moléculas de la fase estacionaria y la transferencia de las moléculas de soluto de la fase móvil a la fase estacionaria.

La dificultad para estimar estas interacciones reside en los conocimientos limitados que se tiene sobre la termodinámica de las disoluciones y, sobre todo, en la dificultad para modelizar de manera adecuada las fases estacionarias en las condiciones de separación.

Con este fin se ha estudiado el efecto que tienen diferentes rellenos de fase inversa sobre la retención y la selectividad, concluyendo que sus distintos comportamientos se deben a las diferencias en la relación de fases entre unas columnas y otras, a la desigual polaridad de las fases y a la diferente afinidad de los solutos por las fases empleadas, controlada principalmente por fuerzas de dispersión.

4.5 Equipo Cromatográfico.

La instrumentación básica para llevar a cabo un análisis mediante CLAR esta esquematizada en la **Figura 11**. El sistema de bombeo impulsa la fase móvil a través de la columna en la que se separan los componentes de la muestra que han sido introducidos en ella mediante el sistema de inyección. Una vez separados, los componentes son detectados y registrados dando lugar al cromatograma de la muestra. Por lo cual deduciremos que un equipo cromatográfico en general estará constituido por:

- ✓ Reservorios de disolvente que alimenta al sistema con la fase móvil.
- ✓ Sistema para forzar el pasaje de la muestra y la fase móvil a través de la columna: bomba.
- ✓ Sistema que permite la introducción de la muestra: el inyector o el automuestreador.
- ✓ Sistema de monitoreo de la solución que emerge de la columna: detector.
- ✓ Sistema de registro de los datos provenientes del detector. La señal de los detectores siempre analógica y puede ser utilizada tal cual por un registrador gráfico o por un integrador digitalizado, para que pueda ser interpretada y procesada por una computadora.

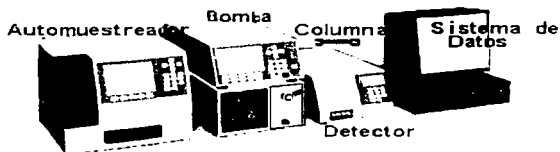


Figura 11: Componentes principales del Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución.

4.5.1 Sistema de bombeo.

La función del sistema de bombeo es proporcionar a la columna un flujo de fase móvil controlado, reproducible y constante. Además, las bombas empleadas en CLAR deben cumplir las siguientes condiciones: estar construidas con un material inerte a la fase móvil, poder trabajar a presiones elevadas y suministrar flujos adecuados al diámetro de la columna empleada y libres de pulsaciones para no disminuir la sensibilidad de la detección.

Las bombas pueden clasificarse en neumáticas y eléctricas, dependiendo de si el origen de la fuerza motriz es un gas comprimido o un motor eléctrico. Las más empleadas en CLAR son las eléctricas y, dentro de ellas, las alternativas o recíprocas (Dabrio, 2000, pp. 74-75).

4.5.2 Columna.

La columna es el lugar donde se produce la separación, y esta se puede considerar como el corazón del sistema cromatográfico, alrededor del cual se monta un equipo de mayor o menor complejidad

4.5.2 Sistema de inyección.

El procedimiento empleado para introducir la muestra en la columna tiene gran importancia. Tanto el volumen inyectado como la anchura de la zona en que se introduce la muestra deben ser reproducibles. El sistema de inyección debe ser capaz de introducir la muestra en la columna en una zona lo más estrecha posible ya que esta anchura es un factor determinante de la que van a tener los picos a su paso por el detector. Además, el inyector debe ser de fácil manejo y capaz de trabajar a presiones elevadas sin producir fuga.

Dentro de los sistemas de inyección hay que distinguir los de tipo jeringa, las válvulas de inyección y los inyectores automáticos. Como se utilizará el inyector automático se dará una descripción breve. El precio de los inyectores automáticos es aun más elevado que el de los otros dos tipos de inyectores, estando justificado su uso para análisis de rutina con elevado número de muestras o en sistemas automatizados de optimización de procesos. La mayoría de estos inyectores están basados en el empleo de una válvula de inyección controlada por un sistema robótico. Además de la elevada repetibilidad y comodidad de uso.

4.5.3 Sistema de detección.

Una vez concluida la separación, surge el problema de detectar las zonas de soluto y, en caso necesario, medir su concentración. Para ello se utilizan dispositivos capaces de transformar en corriente eléctrica alguna propiedad de la fase móvil o tampón de separación que varía cuando hay alguna otra sustancia disuelta, aunque sea en proporción muy pequeña.

En la elección del detector hay que tener en cuenta las características que afectan a las repuestas obtenida, como son el ruido, la derivada, la zona lineal, la selectividad y la sensibilidad.



**DESARROLLO
EXPERIMENTAL**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

50A

INSTRUMENTOS Y EQUIPO.

Disolutor Automatizado Vankel Modelo VK7000

Bomba de calentamiento Vankel VK750D

Calibrador Físico Test Vankel Monitor QAll Modelo 12-0520

Espectrofotómetro Cary 1E Varian

Balanza Mettler Toledo

Analizador de Humedad HR73 Mettler Toledo

Equipo cromatográfico marca Waters™.

- Columna Symmetry™ C₁₈ de 3.9 x 150mm. Part No. WAT054205
- Bomba cuaternaria Mod. 616™ Ser. No. MX6CM8678M
- Controlador de la bomba Mod. 600S. Ser. No. SX5KM0096M
- Automuestreador Mod. 717 plus. Ser. No. MX60M1948M
- Detector de fotodiodos Mod. 996. Ser. No. MX5NM6889M
- Software Millenium Versión 2.1

Equipo para filtración por membrana Millipore.

Bomba de vacío con trampa para líquidos DGP 144. Mel de México

Centrífuga con velocidad mínima de 3000 r.p.m., con rotor de capacidad para 8 tubos.

Equipo de Mili Q_{PLUS} Millipore.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

✓ **MATERIAL:**

Vasos de precipitado de 15, 50 y 100ml.

Matraces volumétricos de 500, 200, 100, 50 y 10 ml

Pipetas volumétricas de 20, 10, 8, 6, 5, 4, 2, 1 y 0.5 ml

Frascos vial limpios de 5 ml

Jeringas plastipack de 3 y 5 ml

✓ **REACTIVOS:**

Sulfametazina base seca con pureza de 99.95%. HELM de México. Lote 0001

Sulfatiazol. Materia prima. HELM de México. Lote 12519

KH_2PO_4 Grado Reactivo. Marca Monterrey.

Metanol Grado HPLC. Marca OmniSolv.

Acetonitrilo Grado HPLC. Marca OmniSolv.

Ácido acético concentrado.

NaOH Grado reactivo. Marca Merck.

Agua con calidad de 18.2 M Ω cm. Millipore.

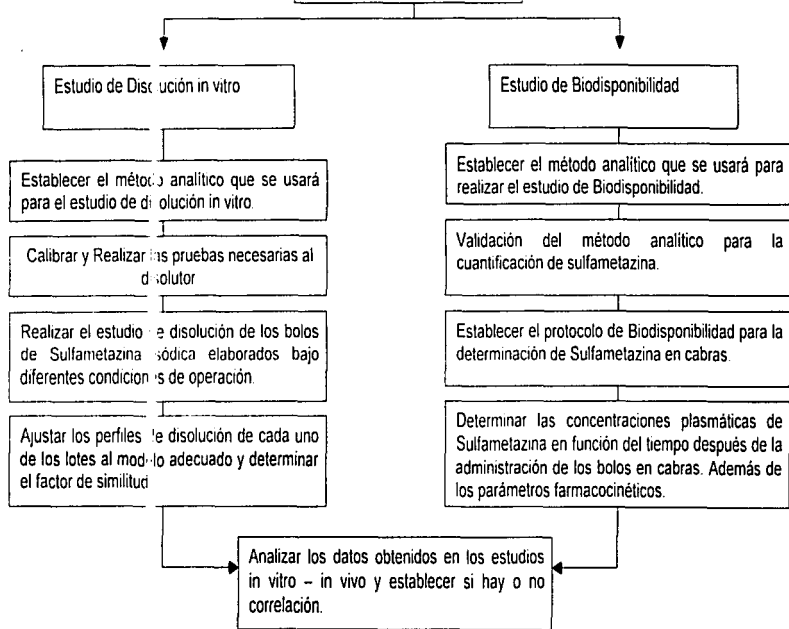
Se tomará en cuenta el certificado de pureza que describe el fabricante.

La fase experimental de este trabajo se desarrolló en dos etapas:

Etapa I: Desarrollo del método para el estudio de biodisponibilidad.

Etapa II: Desarrollo del método para el estudio de disolución in vitro.

DIAGRAMA DE ACTIVIDADES



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Biodisponibilidad.

Método analítico que se usará para realizar el estudio de Biodisponibilidad.

Como el plasma contiene proteínas y otras sustancias endógenas y exógenas que pueden adherirse de manera permanente al empaque de la columna cromatográfica se utilizó un método de extracción en fase sólida con Cartuchos de Octadecilsilano (Sep-Pak C₁₈) para separar estas sustancias, de manera que no alteren las características de la columna del sistema cromatográfico. La concentración de principio activo en la muestra se puede calcular por distintos métodos. Para el estudio de biodisponibilidad de Sulfametazina sódica el método que se utilizó para determinar la concentración de este principio activo fue el del estándar interno.

Este método requiere de patrones de referencia, por lo cual su exactitud dependerá de la pureza de los mismos, además de que no es sensible a los errores de inyección debido a que estos errores se compensan al utilizar relaciones de áreas y, en algunos casos, pueden compensarse los errores generados en la preparación de la muestra como son dilución, extracción y derivatización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Finalmente el procedimiento que se utilizó para determinar el contenido de Sulfametazina por CLAR es el siguiente (Trujeque, 1988, p.65, 66):

Ensayo analítico para la extracción en fase sólida y cuantificación de Sulfametazina en plasma.

IV. 1 Preparación del plasma con estándar interno (Sulfatiazol)

Con una pipeta volumétrica tomar 1 ml de plasma y transferirlo a un frasco vial limpio de capacidad de 5 ml, adicionarle 0.5 ml de sulfatiazol (estándar interno) de una concentración de 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$

IV. 2 Extracción en fase sólida del sistema con sulfatiazol.

✓ Proceso de acondicionamiento.

Con una jeringa de 5 ml tomar 2 ml de metanol, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak como se muestra en la Figura 12 y percolar el metanol al cartucho a una velocidad de 0.2 ml / seg.

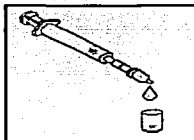


Figura 12: Adaptación del Sep-pak a la jeringa.

Posteriormente con otra jeringa limpia de 5 ml tomar 2 ml de Buffer de fosfatos a $\text{pH} = 7.4$, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y percolar el Buffer al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ seg. El líquido que salga del cartucho Sep-pak de los anteriores pasos desecharlo.

✓ Proceso de carga.

Con una jeringa limpia de 3 ml tomar todo el plasma con sulfatiazol que se encuentra en el frasco (del paso IV.1). Hacer pasar 1ml de aire por la jeringa y adaptar la jeringa que contiene la muestra fortificada al cartucho Sep-pak. Percolar el plasma y el aire succionado al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s y desechar el líquido que salga del cartucho Sep-pak.

✓ Proceso de limpieza.

Con una pipeta volumétrica medir 2 ml de Buffer de fosfatos a pH = 7.4 y transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 5 ml y pasar aproximadamente 2 ml de aire por la jeringa.

Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y eluir su contenido a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s. Desechar el líquido que salga.

✓ Proceso de recuperación.

Con una pipeta volumétrica medir 2 ml de metanol, transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 3 ml y pasar aproximadamente 1 ml de aire por la jeringa. Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak anterior y eluir su contenido (metanol y aire) a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s. Colectar el líquido que salga.

IV. 3 Cuantificación de la sulfametazina

✓ Filtrar el líquido resultante de la extracción en fase sólida de la muestra fortificada del paso IV. 2 (Figura 13)

✓ Colectar el líquido filtrado del paso anterior en un vial de capacidad de 1 ml (especial para el Automuestreador).

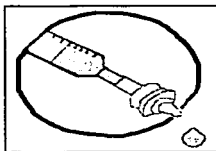


FIGURA 13: Filtración de muestras.

Finalmente después del ensayo analítico realizado el líquido que se colecta en el vial de 1ml se analiza por CLAR bajo las siguientes condiciones:

Columna: Symmetry™ C₁₈ de 3.9 × 150mm. Part No. WAT054205

Fase móvil: Ácido acético: Acetonitrilo (85:15)

Velocidad de flujo: 1ml/min.

Tiempo de análisis: 8 min.

Volumen de inyección: 20 µl.

Longitud de onda: 266nm.

Validación del método analítico para la cuantificación de Sulfametazina.

En la validación del método analítico se evaluaron los siguientes parámetros:

Validación del Sistema:✓ **Linealidad.**

Se determinó por medio de la preparación de una curva de calibración (ver Anexo II) a partir de dos soluciones stock de Sulfametazina base preparadas en agua a diferentes concentraciones, una a 25 $\mu\text{g/ml}$ y otra a 100 $\mu\text{g/ml}$. Con la primera se prepararon soluciones de 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{g/ml}$ y con la segunda solución stock se obtuvieron soluciones de 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 40 $\mu\text{g/ml}$. Posteriormente con una pipeta volumétrica se les adicionó sulfatiazol a cada una de las soluciones para obtener una concentración final de sulfatiazol de 5 $\mu\text{g/ml}$.

✓ **Precisión.**

Para evaluar si las respuestas del sistema dentro del intervalo de trabajo son precisas se prepararon por sextuplicado soluciones a tres concentraciones (4, 8 y 16 $\mu\text{g/ml}$), a partir de una solución stock de sulfametazina de 100 $\mu\text{g/ml}$. Posteriormente se les adicionó sulfatiazol a cada una de las soluciones preparadas para obtener una concentración de sulfatiazol de 5 $\mu\text{g/ml}$.

TESIS CON
FOLIA DE ORIGEN

Validación del método analítico.

En cada uno de los criterios de validación evaluados se utilizó plasma de cabras no tratadas y las muestras se analizaron de acuerdo con el ensayo analítico para sulfametazina en plasma (Pág. 55).

✓ **Linealidad del método.**

Se prepararon soluciones de sulfametazina en agua de 10, 20, 40, 80, 120, 160, 200 y 400 $\mu\text{g/ml}$ a partir de una solución stock de 1000 $\mu\text{g/ml}$. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 ml de cada una de las soluciones y se diluyeron a 10 ml con plasma. Las concentraciones de sulfametazina en estas soluciones fueron de 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 40 $\mu\text{g/ml}$.

✓ **Precisión y exactitud del método.**

Se prepararon soluciones de Sulfametazina en agua de 40, 80 y 160 $\mu\text{g/ml}$ a partir de una solución stock de 1000 $\mu\text{g/ml}$. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 ml de cada una y se diluyó a 10 ml con plasma. Finalmente cada una de las concentraciones se analizaron por sextuplicado.

Finalmente, ya que se ha establecido el método analítico que se utilizará para la cuantificación de Sulfametazina en plasma y además de que dicho método se ha demostrado que es confiable para realizar los estudios de biodisponibilidad lo siguiente es establecer el protocolo de biodisponibilidad (ver Anexo III).

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.**TABLA 3: Criterios utilizados para evaluar las características del método.**

CARACTERÍSTICA A EVALUAR	CRITERIO DE EVALUACION	CRITERIO DE ACEPTACION
Linealidad del sistema	C.V.(Coeficiente de variación) r^2 (coeficiente de determinación) r (coeficiente de correlación)	C.V. $\leq 2.00\%$ $r^2 \geq 0.999$ $r \geq 0.999$
Precisión del sistema.	C.V. (Coeficiente de variación)	C.V. $\leq 2.00\%$
Linealidad del método	C.V. (Coeficiente de variación) r^2 (coeficiente de determinación) r (coeficiente de correlación)	C.V. $\leq 10.0\%$ $r^2 \geq 0.999$ $r \geq 0.999$
Precisión del método.	C.V. (Coeficiente de variación)	C.V. $\leq 10.00\%$
Exactitud	Prueba t de student	$t_{cal} < t_{critica} (G.S.)$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISOLUCION

Método analítico utilizado para el estudio de disolución in vitro.

Para determinar los perfiles de disolución de la Sulfametazina sódica se prepararon 5 lotes de bolos de liberación controlada bajo diferentes condiciones de fabricación.

Nº Lote	Velocidad de Mezclado (r.p.m.)	Punto de Fusión (°C)
1	25	85
2	15	75
3	35	75
4	15	95
5	35	95

Una vez elaborados dichos bolos lo siguiente fue determinar las condiciones óptimas del estudio, por lo que en base a la USP se establecen las siguientes condiciones:

Como medio de disolución se emplearon 900 ml de agua degasificada, una temperatura de 37.5°C y una velocidad de agitación de 60 r.p.m.

Posteriormente se determinó la longitud de onda de máxima absorción en la cual no existiera interferencia con los excipientes, esto se realizó preparando una solución de Sulfametazina en agua con una concentración de 25 µg/ml y se le realizó un barrido espectrofotométrico en el cual se observa que la longitud óptima es de 257 nm.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Ya que se ha establecido la longitud de onda óptima lo siguiente es preparar una curva de calibración de Sulfametazina en agua con un intervalo de concentraciones de 4.02 a 40.2 $\mu\text{g/ml}$ y posteriormente realizar el análisis estadístico respectivo.

Lo siguiente fue obtener los perfiles de disolución y esto se realizó de la siguiente manera:

Se tomaron muestras de 3 ml reponiendo un volumen igual con medio de disolución, el muestreo se realizó a las 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 hrs y posteriormente cada 24 hrs, hasta alcanzar un estado de equilibrio en donde la concentración de principio activo en el medio de disolución se mantenga constante.

Finalmente la determinación del principio activo en la muestra se realizó utilizando la curva de calibración elaborada anteriormente.

Estudio de disolución de los bolos de Sulfametazina sódica elaborados bajo diferentes condiciones de operación.

Para realizar el estudio de disolución, a continuación se muestra de manera general la forma en que se realizó:

En un matraz volumétrico pesar 900 ml de agua desionizada, esto se hace por sextuplicado.



El agua contenida en cada uno de los matraces se degasifica con una bomba de vacío para eliminar las burbujas de aire que se puedan formar, después el agua de cada matraz se vierte en cada uno de los vasos del disolutor.



Pesar 6 bolos de manera individual.



Agregar cada uno de los bolos a cada uno de los vasos del disolutor e iniciar el estudio.



Se toman 3 ml de muestra y después se adicionan los 3 ml equivalente en agua degasificada a cada uno de los vasos del disolutor. El muestreo se realiza cada 2 hrs. durante las primeras 8 hrs y después cada 24hrs.



Cada una de las muestras se lee en el espectrofotómetro UV-Visible a 257 nm.



Los resultados se comparan con el método oficial, como se muestra en el modelo adecuado para su estudio.



Analizar resultados y concluir.

RESULTADOS

TEST CON
FALLA DE ORIGEN

62a

RESULTADOS.

A continuación se muestra el espectro de absorción de Sulfametazina sódica utilizada en el presente estudio, en el cual se observa que el máximo de absorción está en 257 nm.

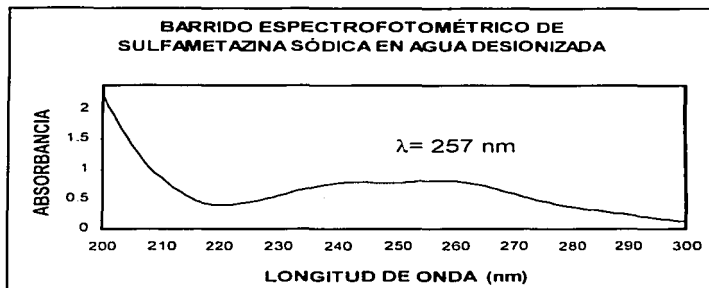


FIGURA 15. Espectro de absorción de Sulfametazina sódica (16 ug/ml) en agua desionizada.

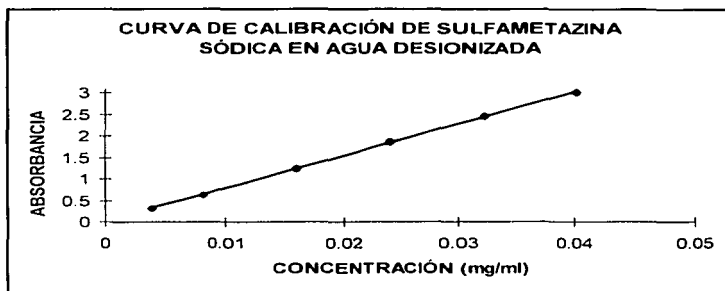
En la tabla 4 se muestran los datos correspondientes a la curva de calibración de Sulfametazina en agua desionizada.

TABLA 4. Curva de calibración de Sulfametazina sódica en agua.

CONCENTRACIÓN ($\mu\text{g/ml}$)	RESPUESTA ANALÍTICA (Absorbancia)		
	4.02	0.3117	0.3116
8.04	0.6340	0.6178	0.6285
16.08	1.2352	1.2434	1.2351
24.12	1.8655	1.8544	1.8611
32.16	2.4705	2.4646	2.4550
40.20	3.0307	3.0206	3.0307

TEMA CON
FALLA DE ORIGEN

Para evaluar la confiabilidad de la curva de calibración se determinaron los siguientes parámetros:



Parámetro	Valor determinado
C.V.	1.1880
r^2	0.9998
m	0.0754
b	0.0216

FIGURA 16. Curva de Calibración de Sulfametazina en agua desionizada.

La ecuación obtenida a partir de la regresión lineal de la respuesta analítica en función de la concentración adicionada es la siguiente:

$$y = 0.0754x + 0.0216$$

Con la finalidad de demostrar si existe una relación entre la concentración de sulfametazina y su absorbancia se realizó un análisis de regresión estableciendo la siguientes hipótesis:

Hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica.

Ha: Existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica.

Criterio de aceptación.

Si $F_{cal} < F_{critica}$ no se rechaza Ho

Si $F_{cal} > F_{critica}$ se rechaza Ho

De acuerdo a la hipótesis establecida y los resultados obtenidos en el análisis de variancia ($F_{cal} (53213.65) > F_{crit} (1.3084E-29)$) se rechaza Ho, por lo tanto existe evidencia estadística con un nivel de significancia menor a 0.05 que la variación de la respuesta está explicada por la variación en la concentración

La ordenada al origen es otro parámetro para evaluar la curva de calibración esperando un valor igual a cero, para esto se realizó un análisis estadístico para determinar su nivel de significancia es decir si es estadísticamente igual a cero o diferente de cero para estos se planteó las siguiente hipótesis¹:

Hipótesis:

Ho: La ordenada al origen es =cero.

Ha: La ordenada al origen es \neq cero

Criterio de aceptación.

Si $t_{cal} < t_{critica}$ no se rechaza Ho

Si $t_{cal} > t_{critica}$ se rechaza Ho

para evaluar la hipótesis ver anexo 4

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como la t_{cal} (0.0154) es < que la t_{crit} (2.7109) no se rechaza H_0 , por lo tanto la ordenada al origen es igual a cero.

Una vez demostrada la confiabilidad de la curva de calibración lo siguiente fue obtener los perfiles de disolución de los 5 lotes de Sulfametazina sódica empleando agua desionizada como medio de disolución (Figura 17).

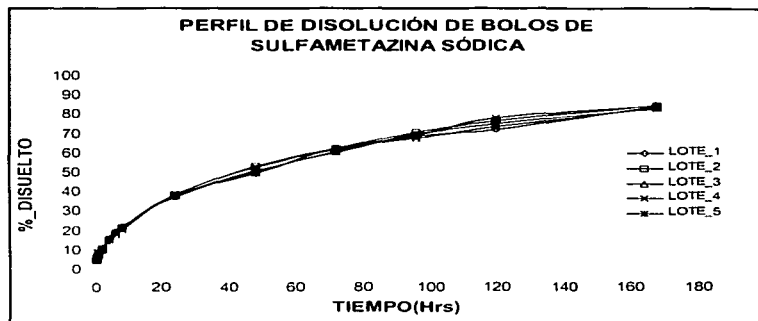


FIGURA 17. Perfil de disolución de bolos de Sulfametazina sódica de 13.8g en agua desionizada.

En la Tabla 5 se observan los datos promedios obtenidos para los perfiles de disolución de los diferentes lotes de bolos, los datos individuales se pueden observar en el Anexo 5:

TABLA 5. Datos promedios obtenidos durante la disolución de bolos de SMZ sódica.

TIEMPO (Hrs)	PORCENTAJE DISUELTO (%)				
	Lote_1	Lote_2	Lote_3	Lote_4	Lote_5
0.5	6.2691	6.2691	6.2908	7.5120	6.6908
1	9.4282	8.3266	8.7265	10.2071	9.7693
2	11.4762	11.6240	12.2954	12.3889	11.9051
4	17.0039	16.3961	17.3693	17.1616	17.1382
6	20.5683	19.4851	20.6272	20.3965	20.3478
8	23.4237	23.0175	23.0078	22.0005	23.2305
24	38.6058	39.7813	39.1416	39.5864	39.1578
48	51.3821	54.2125	50.7624	54.0822	52.0193
72	61.7439	63.5398	63.2269	62.7084	61.3399
96	63.9966	71.7546	65.0539	70.4733	70.6266
120	73.3149	75.2002	74.8777	76.2138	76.2494
168	85.3135	85.4694	84.7201	85.8013	84.2852

Una vez obtenidos dichos perfiles, se determinó la cinética de disolución, la cual se establece obteniendo la concentración de la SMZ disuelta en función del tiempo. El gráfico obtenido se muestra en la **Figura 18**, en el cual se observa un comportamiento lineal lo que indica que la cinética de disolución es de orden cero, y por lo tanto que la velocidad es constante e independiente de la cantidad de soluto presente, la expresión matemática que describe dicha relación es la siguiente:

$$C = k * t$$

Donde:

C = concentración (mg/ml)

K = constante de velocidad

T = tiempo (hrs.)

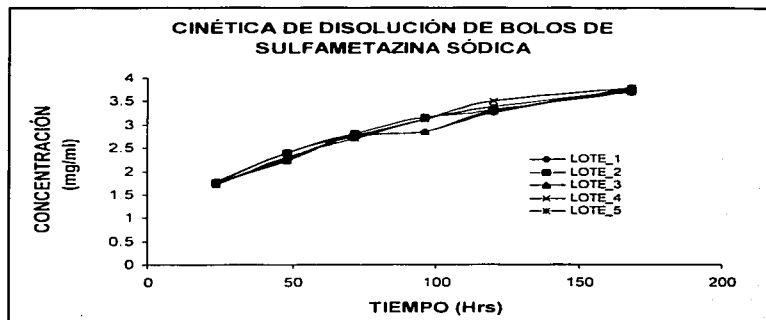


FIGURA 18. Cinética de disolución de Bolos de Sulfametazina sódica.

Con la finalidad de encontrar el modelo matemático que explique el comportamiento del perfil de disolución de cada lote se procedió a analizar los datos obtenidos, ajustándolos al modelo empírico de Langer y Pepas,

$$\ln \frac{m_t}{m_a} = A + n \ln t$$

obteniéndose el gráfico mostrado en la Figura 19.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

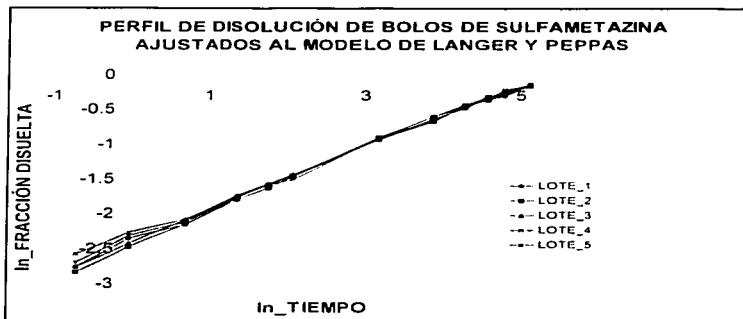


FIGURA 19. Perfil de disolución de bolos ajustados al modelo de Langer y Peppas

En función de dicho modelo, es posible predecir el mecanismo de liberación, para esto es necesario determinar el valor de "n" el cual está dado por la pendiente. Los datos obtenidos se muestran a continuación:

TABLA 6. Datos obtenidos aplicando el modelo semiempírico de Langer y Peppas.

No. Lote	r^2	Pendiente	Intercepto	Ecuación
1	0.9981	0.4471	2.1957	$\ln \frac{m_t}{m_\infty} = 2.1957 + 0.4471t$
2	0.9982	0.4687	2.1322	$\ln \frac{m_t}{m_\infty} = 2.1322 + 0.4687t$
3	0.9986	0.4488	2.1936	$\ln \frac{m_t}{m_\infty} = 2.1936 + 0.4488t$
4	0.9973	0.4330	2.2702	$\ln \frac{m_t}{m_\infty} = 2.2702 + 0.4330t$
5	0.9986	0.4405	2.2279	$\ln \frac{m_t}{m_\infty} = 2.2279 + 0.4405t$

Basándose en la ecuación y en los resultados mostrados en la tabla anterior se observa que en todos los casos la pendiente es diferente de 1 y muy cercano a 0.5 por lo que se deduce que la liberación no sigue un comportamiento Fickiano, sino que la velocidad de liberación es dependiente del tiempo, y por lo tanto al aplicar el antilogaritmo a la ecuación se obtiene:

$$\frac{m_t}{m_\alpha} = At^n$$

Sustituyendo el valor de n en la ecuación:

$$\frac{m_t}{m_\alpha} = At^{0.5}$$

Finalmente se obtiene una expresión igual a la del modelo de Higuchi.

Tomando como referencia lo anterior se graficó la cantidad liberada de Sulfametazina sódica en función de la raíz cuadrada del tiempo (Figura 20), esto con la finalidad de ajustar los datos obtenidos al modelo más adecuado, encontrándose que el modelo de la Raíz cuadrada de Higuchi es el más apropiado para explicar el mecanismo de liberación de Sulfametazina sódica a partir de bolos ya que en este modelo la liberación no es constante, sino que es dependiente del tiempo.

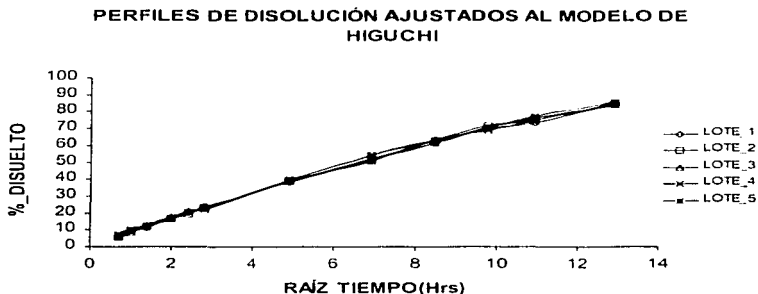


FIGURA 20. Modelo de la Raíz cuadrada de Higuchi.

Esto de acuerdo al criterio de que la formulación mencionada anteriormente corresponde a la de una forma farmacéutica matricial de liberación prolongada, en donde el principio activo se encuentra disperso en uno de los excipientes (Cutina), el cual tiene la propiedad de formar una matriz o esqueleto que liberará al fármaco lentamente.

De ahí que tratándose de una forma farmacéutica de este tipo, se asuma que el principio por el que actúa la forma matricial considera que la matriz se compone de finos poros en donde es atrapado el principio activo y el proceso de liberación del principio activo fuera de la matriz pueda dividirse en tres fases:

- Penetración del líquido (medio de disolución en los poros de la matriz).
- Disolución del principio activo en este líquido
- Difusión de la solución del principio activo desde el interior de la matriz hacia la superficie de la forma farmacéutica.

En la gráfica del porcentaje liberado de fármaco en función de la raíz cuadrada del tiempo para cada lote, se observa que el comportamiento que presenta la liberación sigue una tendencia lineal (**Figura 20**), la cual indica que el proceso de liberación está controlado por la difusión.

Una vez que se encontró el modelo que explique la liberación del fármaco en el bolo, lo siguiente fue comparar los perfiles de disolución de los lotes elaborados bajo diferentes condiciones de operación y determinar si existe diferencia significativa entre ellos al variar dichas condiciones (Temperatura de fusión y velocidad de mezclado).

Esta comparación se puede realizar basándose en dos pruebas, una es por el Factor de similitud y la siguiente es comparando las constantes de velocidad de disolución determinada para cada lote.

Para determinar el Factor de similitud se compararon los lotes entre sí. Los resultados obtenidos para la comparación del Factor de similitud se muestran a continuación en la siguiente tabla:

TABLA 7. Datos obtenidos para el Factor de similitud

FACTOR DE SIMILITUD (%)					
LOTE	1	2	3	4	5
1		78.5403	97.9635	70.5288	90.0795
2	78.5403		82.1866	89.8681	89.5573
3	97.9635	82.1866		73.1194	94.9674
4	70.5288	89.8681	73.1194		78.2510
5	90.0795	89.5573	94.9674	78.2510	

La norma NOM-SSA-177 establece que el Factor de similitud es un parámetro para determinar si existe diferencia significativa de perfiles de disolución entre lote y lote. Se observa que los valores obtenidos (70.5288 – 100) se encuentran dentro del criterio (50 – 100), por lo tanto no existe diferencia significativa.

La siguiente forma para determinar si existe diferencia significativa entre lote y lote es comparando las constantes de velocidad, las cuales se determinaron en función del modelo de Higuchi que se utilizó para analizar los datos obtenidos.

$$Q = Kt^{1/2}$$

Modelo de la Raíz Cuadrada de Higuchi.

A continuación se presentan los resultados obtenidos:

TABLA 8. Datos obtenidos de la regresión del porcentaje liberado en función de la raíz del tiempo.

No. Lote	r ²	Pendiente	LCI	LCS
1	0.9914	6.5274	6.1854	6.8695
2	0.9925	6.7307	6.2741	7.1873
3	0.9915	6.5414	6.1788	6.9039
4	0.9912	6.6235	6.2586	6.98827
5	0.9930	6.5588	6.1987	6.9189

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como se puede observar las pendientes que en este caso representan la constante de velocidad son muy parecidas entre si, para corroborar esto, se graficaron dichas pendientes con sus respectivos límites de confianza obteniéndose el siguiente gráfico:



FIGURA 21. Gráfico de la comparación de constantes de velocidad.

Finalmente se puede deducir que las constantes de velocidad son iguales ya que sus intervalos se cruzan entre si.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIODISPONIBILIDAD.

Los resultados obtenidos de la validación del método analítico para demostrar la confiabilidad del método se muestran a continuación:

Linealidad del sistema.

En la siguiente tabla se muestran las respuestas obtenidas de los ensayos para evaluar la linealidad del sistema:

TABLA 9. Datos obtenidos para el análisis de Linealidad del Sistema

CONCENTRACIÓN µg/ml	RESPUESTA ANALÍTICA		
	Absorbancia		
0.497	0.0907	0.0897	0.0908
0.995	0.1879	0.1898	0.1877
2.060	0.3875	0.3834	0.3841
4.120	0.7452	0.7457	0.7442
8.240	1.5099	1.5186	1.5101
12.38	2.3303	2.3314	2.3186
16.48	3.0596	3.0454	3.0613
20.60	3.7395	3.7434	3.7488
41.20	7.6309	7.6150	7.5490

La ecuación obtenida de la curva y los parámetros estadísticos obtenidos a partir de un análisis de regresión se muestran a continuación.

$$\text{Respuesta Analítica} = 0.1842 \text{ concentración} + 0.0024$$

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE LA REGRESIÓN.	CURVA
Coefficiente de correlación (r)	0.9999
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9998
Coefficiente de variación (C.V.)	1.6220

En la siguiente figura se observa que existe una relación entre las variables, y relacionándolo con los datos anteriores observamos que el 99 por ciento de la variación de la respuesta analítica está explicada por los cambios en la concentración de sulfametazina.

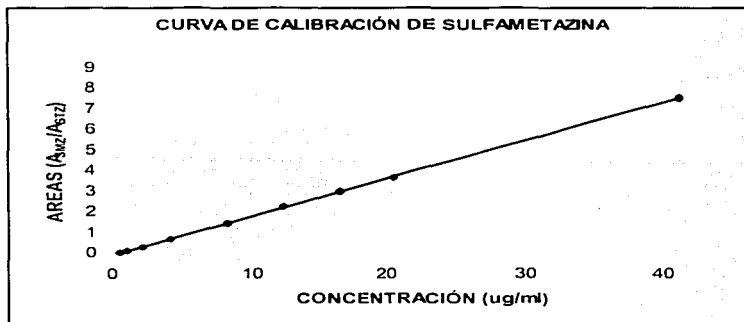


FIGURA 22. Curva de Calibración de Sulfametazina

Por otro lado los criterios de aceptación establecidos para métodos cromatográficos indican que el C.V. debe ser menor al 2% y se aprecia que el valor obtenido (1.6220) es menor al establecido.

Con la finalidad de demostrar si existe una relación entre la concentración y la respuesta analítica, se realizó un análisis de variancia y se estableció la siguiente hipótesis:

Hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica.

Ha: Existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica.

Criterio de aceptación.

Si $F_{cal} < F_{critica}$ no se rechaza Ho

Si $F_{cal} > F_{critica}$ se rechaza Ho

De acuerdo a la hipótesis establecida y a los resultados obtenidos en el análisis de variancia ($F_{cal} (162912.75) > F_{crit} (3.3314E-49)$) se rechaza Ho, por lo tanto existe evidencia estadística de que la variación de la respuesta esta explicada por la variación de la concentración

Precisión y Exactitud del sistema.

Para la precisión y exactitud se prepararon 3 niveles de concentración por sextuplicado y se inyectaron al sistema cromatográfico cada una de las soluciones preparadas, obteniéndose los siguientes resultados:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 10. Datos obtenidos para evaluar la precisión.

CONCENTRACION $\mu\text{g/ml}$	RESPUESTA ANALITICA (AREA SMZ / ÁREA STZ)		
2.06	0.3788	0.3835	0.3875
	0.3887	0.3874	0.3904
4.12	0.7494	0.7472	0.7490
	0.7464	0.7463	0.7487
8.24	1.4952	1.5029	1.4952
	1.5029	1.4960	1.4963

Se determinó la desviación estándar, el promedio y el coeficiente de variación de las respuestas analíticas.

PARÁMETROS	VALOR OBTENIDO
Desviación estándar	0.0030
Promedio	0.1836
C.V.	1.6417

El coeficiente de variación es menor de 2, valor límite establecido para la aceptación de los datos cromatográficos por lo tanto el sistema es preciso.

Para la exactitud se determinó el porcentaje recuperado de Sulfametazina en función de la concentración adicionada obteniéndose los siguientes resultados:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 11. Datos obtenidos para evaluar la exactitud

CONCENTRACIÓN µg/ml	PORCENTAJE RECUPERADO (%)		
	2.06	99.1956 101.7938	100.4262 101.4664
4.12	98.4265 98.0315	98.1366 98.0202	98.3736 98.3446
8.24	98.3544 98.7125	98.8590 98.4079	98.5856 98.4280

Y para determinar la exactitud se realizó una prueba de t planteándose la siguiente hipótesis:

Hipótesis:

H_0 : El promedio del % adicionado es igual al promedio del % recuperado.

H_a : El promedio del % adicionado es diferente al promedio del % recuperado.

Criterio de aceptación:

Si $t_{cal} < t_{critica}$ no se rechaza H_0

Si $t_{cal} > t_{critica}$ se rechaza H_0

Como t_{cal} (-1.1832) es menor que t_{crit} (2.0322) no se rechaza H_0 , por lo tanto el sistema es exacto.

LINEALIDAD DEL MÉTODO.

En cada uno de los criterios de validación evaluados se utilizó plasma de cabras no tratadas y las muestras se analizaron de acuerdo con el ensayo analítico para sulfametazina en plasma (página 54).

Finalmente para evaluar la linealidad del método se determinó la respuesta analítica para cada concentración analizada, así como la correspondiente concentración recuperada. En la siguiente tabla se muestran las respuestas analíticas obtenidas de diferentes concentraciones, así como su correspondiente ecuación de regresión:

TABLA 12. Datos obtenidos a partir de la curva de calibración.

CONCENTRACIÓN ADICIONADA (µg/ml)	RESPUESTA ANALÍTICA (ÁREA SMZ / ÁREA STZ)		
	1	0.0600	0.0601
2	0.1173	0.1176	0.1182
4	0.2445	0.2512	0.2556
8	0.4502	0.4525	0.4508
12	0.6650	0.6681	0.6709
16	0.9192	0.9135	0.9090
20	1.1090	1.1183	1.1043
40	2.2906	2.2977	2.2670

La ecuación obtenida a partir de la regresión lineal de la respuesta analítica en función de la concentración adicionada es la siguiente:

$$\text{Respuesta Analítica} = 0.0567\text{Concentración} + 0.0017$$

A continuación se presentan los resultados de las concentraciones adicionadas con sus correspondientes concentraciones recuperadas.

TABLA 13. Datos obtenidos de la curva de calibración de la concentración adicionada de SMZ en función de la concentración recuperada.

CONCENTRACIÓN ADICIONADA (ug/ml)	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ug/ml)		
1	1.0297	1.0315	1.0283
2	2.0396	2.0452	2.0550
4	4.2808	4.3985	4.4764
8	7.9062	7.9476	7.9176
12	11.6917	11.7468	11.7955
16	16.1722	16.0721	15.9927
20	19.5173	19.6814	19.4346
40	40.3437	40.4687	39.9269

Por otro lado se determinó el modelo que explica la variación de la concentración recuperada en función de la concentración adicionada mediante un análisis de regresión lineal obteniéndose la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración recuperada} = 1.0001 \text{Concentración adicionada} - 1e^{-14}$$

En la **Figura 23** se observa el gráfico de la concentración recuperada y la concentración adicionada explicada por la ecuación anterior:

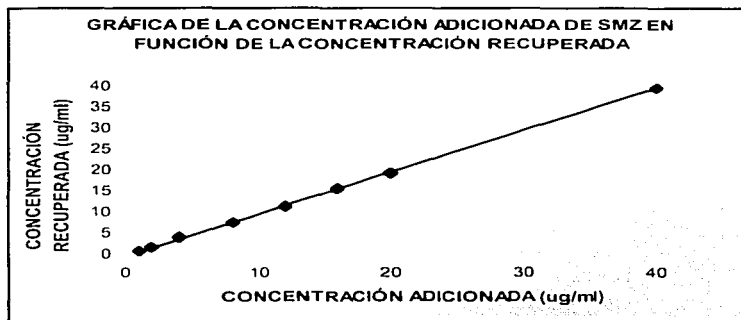


FIGURA 23. Gráfica de la curva de calibración de la concentración adicionada de SMZ en función de la concentración recuperada.

Para demostrar si existe una relación lineal entre las variables en estudio se estableció la siguiente hipótesis:

Hipótesis:

H_0 : No existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración recuperada.

H_a : Existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración recuperada.

Criterio de aceptación.

Si $F_{cal} < F_{critica}$ no se rechaza H_0

Si $F_{cal} > F_{critica}$ se rechaza H_0 .

De acuerdo a la hipótesis establecida y los resultados obtenidos en el análisis de variancia ($F_{cal} (44326.3416) > F_{crit} (7.5317E-38)$) se rechaza H_0 , por lo tanto existe evidencia estadística con un nivel de significancia menor a 0.05 que la variación de la respuesta está explicada por la variación en la concentración

La ordenada al origen es otro parámetro para evaluar la curva de calibración esperando un valor igual a cero, para esto se realizó un análisis estadístico para determinar su nivel de significancia es decir si es estadísticamente igual a cero o diferente de cero para estos se planteó las siguiente hipótesis¹:

Hipótesis:

H_0 : La ordenada al origen es \approx cero.

H_a : La ordenada al origen es \neq cero

Criterio de aceptación.

Si $t_{cal} < t_{critica}$ no se rechaza H_0

Si $t_{cal} > t_{critica}$ se rechaza H_0

Como la $t_{cal} (-1.406e^{-13})$ es $<$ que la $t_{crit} (1.0)$ no se rechaza H_0 , por lo tanto la ordenada al origen es igual a cero. Además de la ordenada al origen, la pendiente debe de tener un valor igual a 1 por lo que en la siguiente tabla se observa que el valor de 1 se encuentra dentro del intervalo de confianza.

	Coefficiente	LCI	LCS
Ordenada al origen	0.0063	-0.1736	0.1729
Pendiente	0.0566	0.9901	1.0099

¹ para evaluar la hipótesis ver anexo 4

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Una vez demostrado que la curva de calibración es lineal, se evaluaron otros parámetros como son la precisión y la exactitud obteniéndose los siguientes resultados:

CONCENTRACIÓN ($\mu\text{g/ml}$)	PORCENTAJE RECUPERADO (%)		
4	97.0764	96.8479	97.1470
	102.3755	103.1843	100.8959
8	95.0915	97.2487	97.0074
	105.0634	103.4875	104.0453
12	9.1078	97.3332	99.5884
	101.2988	101.3534	100.2275

TABLA 14. Datos obtenidos para evaluar la precisión y exactitud del método.

Para evaluar si el método es preciso se determinó el coeficiente de variación obteniéndose un C.V. = 3.0, como dicho coeficiente es menor al recomendado para métodos cromatográficos en fluidos biológicos (5.0 %) se considera el método como preciso. Para determinar la exactitud se realizó una prueba de t planteándose la siguiente hipótesis:

Hipótesis:

H_0 : El promedio del % adicionado es igual al promedio del % recuperado.

H_a : El promedio del % adicionado es diferente al promedio del % recuperado.

Criterio de aceptación.

Si $t_{\text{cal}} < t_{\text{critica}}$ no se rechaza H_0

Si $t_{\text{cal}} > t_{\text{critica}}$ se rechaza H_0

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como t_{cal} (-0.1529) es menor que t_{crit} (2.0322) no se rechaza H_0 , por lo tanto el método es exacto.

Una vez que se determinó que el método es confiable, lo siguiente fue administrar la Sulfametazina sódica por vía Oral (Bolos) e Intravenosa de acuerdo al protocolo de Biodisponibilidad establecido y por lo tanto determinar las concentraciones plasmáticas.

Para realizar el análisis de dichas concentraciones, es necesario hacer uso de los modelos farmacocinéticos, los cuales nos ayudarán como base para la determinación de los parámetros farmacocinéticos.

Las concentraciones plasmáticas determinadas después de una administración intravenosa son reportadas en la siguiente tabla:

TABLA 15. Concentraciones plasmáticas de Sulfametazina sódica después de una administración Intravenosa.

TIEMPO (Hrs)	CABRA_1	CABRA_2	CABRA_3	CABRA_4	CABRA_5
0.25	178.103	57.888	62.133	233.455	52.389
0.50	98.212	49.847	50.105	41.667	45.659
0.75	38.963	45.625	40.059	37.475	33.089
1.00	27.679	35.965	34.207	25.842	31.136
2.00	14.200	15.715	12.125	14.684	14.278
4.00	3.415	4.497	2.629	5.603	5.288
6.00	2.176	1.835	1.076	2.171	2.156
8.00	1.068	--	--	0.825	--

El perfil de logaritmo natural de la concentración plasmática de Sulfametazina sódica en función del tiempo se presenta en la **Figura 24**.

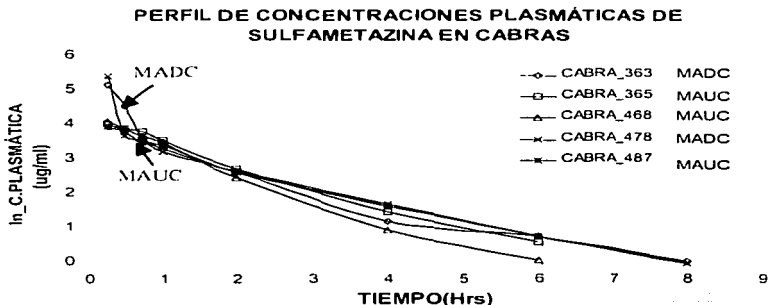


FIGURA 24. Perfil de concentración plasmática en función del tiempo después de una administración IV.

En el cual se observa que existen dos comportamientos farmacocinéticos diferentes, uno corresponde a un Modelo Abierto de Dos Compartimientos (MADC) para las cabras 363 y 478, y otro a un Modelo Abierto de Un Compartimiento (MAUC) para las cabras 365, 468 y 487.

Para el Modelo abierto de dos compartimientos en la primera parte de la gráfica se observa una rápida disminución de la concentración plasmática del fármaco en un tiempo relativamente corto. Esta rápida disminución de concentración se debe principalmente al hecho de que el fármaco sale del tejido sanguíneo para distribuirse hacia otros tejidos del organismo.

La correcta detección de la fase de distribución del fármaco está básicamente, en función de la frecuencia e intervalos de muestreo del fluido sanguíneo, ya que una fase de distribución puede comprender minutos, horas o días según el fármaco que se trate.

En general, el proceso de distribución es más rápido que el proceso de eliminación del fármaco, por lo que en un tiempo dado, se alcanza un estado de equilibrio dinámico entre la cantidad de fármaco contenido en el compartimiento central y el contenido en el periférico y una vez establecido dicho equilibrio, la disminución de la concentración plasmática del fármaco en función del tiempo, puede ser atribuido básicamente a un proceso monoexponencial de eliminación del fármaco.

Por lo tanto el tiempo de vida media de eliminación es calculado con base en el valor de la pendiente terminal del perfil de concentración plasmática del fármaco (Figura 24).

Los parámetros farmacocinéticos calculados con los datos obtenidos se muestran en la tabla 16.

TABLA 16. Parámetros farmacocinéticos para una administración IV correspondiente a un MADC.

PARAMETROS	Nº DE CABRA	
	363	478
C_p^0	370.8988	1373.4597
A (ug/ml)	41.6874	65.390
a (h ⁻¹)	0.4906	0.467
t _{1/2_v} (h)	1.4128	1.1133
B (ug/ml)	329.2137	308.059
b (h ⁻¹)	3.5240	6.893
t _{1/2_β} (h)	0.1967	0.101
Vd (L)	0.2184	0.808
ABC (ug / ml hr)	178.2117	306.1427

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Aquí observamos que la fase de distribución promedio es relativamente rápida (0.1488 h) en comparación con la reportada (0.18-0.24 h) por Shetty (1989, p. 73-80), y que en función del hecho de que la fase de distribución es mucho más rápida que la eliminación, el valor esperado para el $t_{1/2}$, de eliminación es mayor (1.1113-1.4128 h).

El volumen de distribución aparente obtenido fue pequeño para ambas cabra 0.0137 – 0.0539 l / Kg, en comparación con el valor reportado (0.871 / Kg), considerando que el agua corporal total en cabras es aproximadamente del 69% en peso corporal.

Para el Modelo Abierto de Un Compartimiento la información obtenida es parcial, ya que solamente se cuenta con datos de variables de entrada y salida. Por lo que fue necesario establecer supuestos que describan el modelo. Estos supuestos permiten deducir expresiones matemáticas sencillas capaces de representar el movimiento intercompartimental del fármaco a través del organismo y de su excreción.

Los Supuestos considerados en un MAUC son los siguientes:

- ✓ A tiempo cero existe una C_p^0 o en otras palabras todo entra instantáneamente.
- ✓ La distribución de cualquier cantidad de fármaco que entra al compartimiento es instantánea.
- ✓ El proceso de eliminación tiene una cinética de primer orden caracterizada por K_{el} (La K_{el} involucra todos los procesos mediante los cuales el fármaco deja de existir dentro del organismo por lo cual también se le denomina K_{global}).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En función de los supuestos establecidos para un MAUC fue posible calcular los parámetros farmacocinéticos:

TABLA 17. Parámetros Farmacocinéticos para una administración IV correspondiente a un MAUC.

PARAMETROS FARMACOCINÉTICOS	Nº DE CABRA				
	365	468	487	Media	CV
Cp ⁰ (ug/ml)	65.3985	66.6531	53.618	61.8901	11.6183
K _{el} (hr ⁻¹)	0.6226	0.7313	0.5561	0.6367	13.8916
t _{1/2} (hr)	1.1113	0.9478	1.2464	1.1018	13.5706
Vd (L / Kg.)	0.3058	0.3745	0.3971	0.3591	13.2403
Cl (L / Kg. hr)	0.1939	0.2739	0.2208	0.2295	17.7354
ABC (ug / ml hr)	106.3451	93.802	96.973	99.0401	6.5852

En la tabla anterior observamos que la eliminación promedio ($K_{el} = 0.6367 \text{ h}^{-1}$) de Sulfametazina sigue una cinética de primer orden obteniendo un tiempo de vida media promedio de 1.1018 h., el volumen de distribución (0.3591 l / Kg) es muy parecido al reportado por Elsheikh (1991, p.269-275) 0.316 l / Kg. y la depuración obtenida fue de 0.2295 l / Kg H.

El perfil de concentración plasmática en función del tiempo de Sulfametazina para una administración Oral a una dosis de aproximadamente 3.933 g de SMZ se presenta en la **Figura 25**.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

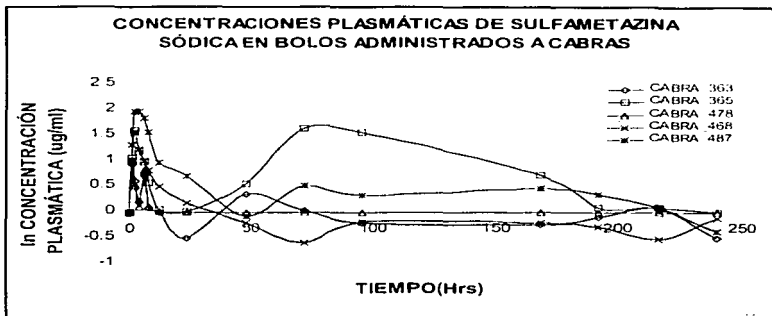


FIGURA 25. Perfil de concentración plasmática de SMZ después de una administración Oral.

Para realizar la estimación de los parámetros farmacocinéticos para una administración Oral, se utilizó únicamente la parte del gráfico de 0 a 12 horas de tres cabras, ya que en dicha parte y únicamente con estas tres cabras era posible realizar la determinación de los parámetros farmacocinéticos **Figura 26**

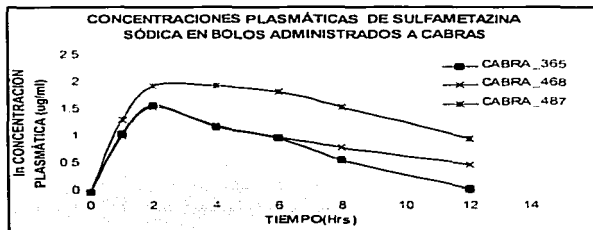


FIGURA 26. Perfil de concentración plasmática de SMZ de 0 a 12 horas después de una administración oral.

En el cual se observa el tiempo máximo al cual se alcanza la concentración máxima es de 2 horas y la concentración es de 5.6545 $\mu\text{g/ml}$. Una estimación de los valores de K_a y K_e determinados por el método de residuales son 0.1461 y 2.1423 h^{-1} respectivamente.

Por lo que los datos obtenidos en este estudio muestran que la matriz lipídica de la formulación de la Sulfametazina es adecuada para producir una liberación prolongada del fármaco durante aproximadamente 240 horas, lo que nos indica que dicha formulación es útil, ya que si después de 240 horas sigue existiendo liberación. indirectamente sabremos que aun hay fármaco en el sitio de acción y que por lo tanto la acción terapéutica deseada.

Posteriormente después de determinar el ABC para una administración Intravenosa y una Oral se determinó la Biodisponibilidad absoluta obteniéndose un valor de 42.021%.

Finalmente en el diseño de sistemas de acción sostenida y de otros tipos de formulación, es importante establecer una buena correlación entre los perfiles de liberación in vitro y los niveles plasmáticos que la formulación proporciona in vivo. Aunque en este trabajo se trataron ambos aspectos no fue posible confirmar una correlación in vivo in vitro, ya que el número de datos obtenidos no son los adecuados para establecer un análisis estadístico. No obstante se obtuvo una tendencia en la cual se observa que existe una relación lineal entre el área bajo la curva de los perfiles de disolución y el área bajo la curva de los perfiles plasmáticos..

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

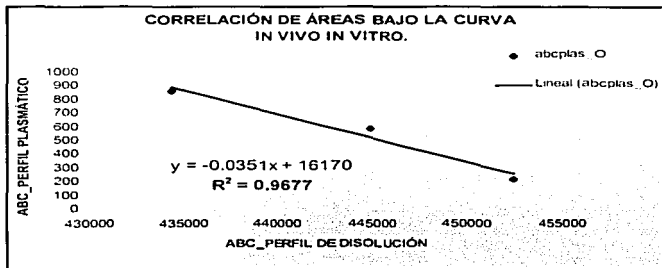


FIGURA 27. Gráfico de Correlación del ABC del perfil de disolución en función del perfil plasmático.

Además se encontró que existe también, una relación lineal entre la pendiente de disolución y la Concentración plasmática máxima.

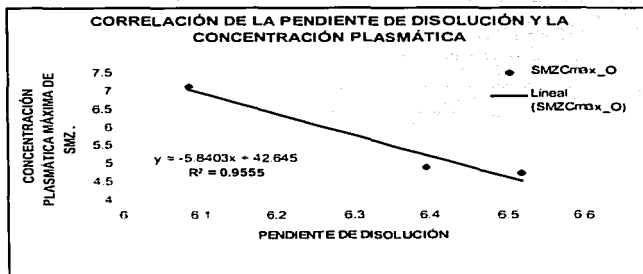


FIGURA 28. Gráfico de Correlación de la pendiente de disolución en función de la concentración plasmática.

CONCLUSIONES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

- La Biodisponibilidad absoluta fue del 42.5%.
- Los parámetros farmacocinéticos obtenidos para una administración Intravenosa son los siguientes:
 K_{el} : 0.6367 hrs⁻¹ $t_{1/2}$: 1.1018 hrs ABC_0' : 99.04 ug / ml hrs.
- La forma farmacéutica de acción prolongada diseñada (Bolo), produce perfiles de liberación in vitro, que da lugar a niveles sanguíneos adecuados para que tengan una acción terapéutica deseada.
- El mecanismo de liberación de Sulfametazina a partir del Bolo se explica en función del Modelo de Higuchi.
- El estudio nos permitió determinar que si se controlan las condiciones de fabricación de los Bolos, es posible estimar los perfiles plasmáticos, es decir el Área Bajo la Curva (ABC) y la Concentración plasmática máxima.
- Se recomienda realizar un estudio posterior para establecer la Correlación IVIV con un mayor número de unidades experimentales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



ANEXOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Características Farmacocinéticas de Sulfametazina.**ABSORCIÓN.**

El paso del sitio de absorción a sangre para las sulfonamidas es gobernado por la difusión pasiva. La velocidad a la que se da esta absorción, está influida por diferentes factores como el grado de ionización, la lipofilidad del fármaco, área y vascularidad del sitio de absorción y liberación del fármaco. Las sulfonamidas se absorben en el tubo digestivo con mayor rapidez y de modo más completo en los carnívoros que en los herbívoros. Los compuestos pirimídicos como la sulfametazina se absorben bien.

La biodisponibilidad y la velocidad de absorción de la sulfametazina varía marcadamente cuando el fármaco es administrado al ganado vacuno en diversas formas de dosificación. La sulfametazina es absorbida rápidamente cuando es dada oralmente como una solución y en bolos de rápida desintegración; pero es absorbida más lentamente cuando se administra en bolos de liberación controlada.

La liberación de la sulfametazina desde los bolos de liberación controlada es un factor limitante en la velocidad de absorción para la sulfametazina. Boot, N. en 1988 reporta los siguientes datos de biodisponibilidad de sulfametazina: 94% para solución, 78 % para bolos de rápida desintegración y 43% para bolos de liberación controlada. (Boot, N. 1988, pp 787-788)

DISTRIBUCIÓN.

Los niveles máximos sanguíneos de la sulfametazina se presentan generalmente de 2 a 3 horas después de su ingestión; lo cual se ve influenciada por el estado de ionización de la sulfonamida, vascularidad de los tejidos específicos, la presencia de barreras específicas a la difusión de sulfonamidas (Boot, N. 1988, pp 787-788). En un estudio que se realizó en cabras enanas en África la sulfametazina fue encontrada ligada a proteínas, principalmente albúmina, en un

58.9 ± 3.6% (Shetty y Asuzu, 1989, p 928-932). Dentro de este estudio se menciona que la sulfametazina, por poseer un valor de pKa (7.4) semejante al valor del pH del cuerpo, puede ser distribuida más eficientemente, pero se encontró que presenta menor uniformidad en la distribución debido a que por estar en mayor proporción unida a proteínas presenta una menor disponibilidad para cruzar por difusión la membrana celular. Para ser terapéuticamente activa una sulfonamida por lo común debe alcanzar una concentración de 8 a 12 mg de fármaco libre por 100 ml de sangre (Katzung, 1984, p539) para una vía sistémica.


BIOTRANSFORMACIÓN.

La sulfametazina sufre acetilación en el hígado aproximadamente en un 70 a 90%, las enzimas que catalizan la acetilación se encuentran en las células parenquimales del hígado. De este porcentaje acetilado un 30% se encuentra en sangre y un 60% se encuentra en orina, estos porcentajes varían de acuerdo a la especie animal. El compuesto acetilado es terapéuticamente inactivo y ligeramente soluble en orina.

EXCRECIÓN.

La sulfametazina se excreta principalmente por orina debido a que sus compuestos acetilados son solubles en la orina. Su excreción guarda una relación estrecha con el pH y el volumen de orina excretada; si los fluidos tubulares tienen un valor de pH entre los dos pKas de la sulfametazina ($7.4 > \text{pH} > 2.6$) se favorece la formación de su forma no ionizada facilitando su reabsorción y disminuyendo su excreción, mientras que a valores de pH extremos ($7.4 < \text{pH} < 2.6$) favorecen su ionización disminuyendo la cantidad absorbida y excretándose. Otro factor de igual importancia en la excreción es el grado de "depuración renal" el cual es la cantidad de sulfametazina excretada por los glomérulos y no reabsorbida por los tubulos (Boot, N. 1988, pp. 787-788). En pequeñas cantidades se excreta en la bilis, jugo pancreático, jugo intestinal, saliva y leche.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM	
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA	Pág 1 de 6
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	
	CÓDIGO	
ELABORADO POR:		APROBADO POR:
INICIALES dd/mm/aa	REVISADO POR:	INICIALES dd/mm/aa
	INICIALES dd/mm/aa	INICIALES dd/mm/aa

I Linealidad del sistema

I. Preparar las siguientes soluciones.

- ✓ Hidróxido de sodio 1.5 N

Pesar 6.00 g. de Hidróxido de sodio Grado Reactivo, transferirlo a un matraz volumétrico de 100 ml clase A y disolver con agua hervida fría libre de CO₂, posteriormente filtrar y llevar al volumen de aforo con agua hervida fría libre de CO₂.

- ✓ Solución stock de Sulfametazina 100 ug/ml (Solución A).

Pesar 20 mg de Sulfametazina base en un vaso de precipitados de 15 ml y adicionar 1.0 ml de NaOH 1.5N con una pipeta volumétrica clase TD. Transferir lo anterior a un matraz volumétrico de 200 ml clase A y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

- ✓ Solución stock de Sulfametazina 25 ug/ml (Solución B).


Pesar 62.5 mg de Sulfametazina base en un vaso de precipitados de 15 ml y adicionar 1.0 ml de NaOH 1.5N con una pipeta volumétrica clase TD. Transferir lo anterior a un matraz volumétrico de 50 ml clase A y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

De la solución anterior tomar 1 ml con una pipeta volumétrica de clase TD y transferirlo a un matraz volumétrico de 100 ml clase A. Llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

- ✓ Solución de Sulfatiazol (Estándar interno) 250 ug/ml.

Pesar 25 mg de sulfatiazol en un vaso de precipitados de 15 ml, disolver con 1 ml de NaOH 1.5N. Adicionar la solución anterior en un matraz volumétrico clase A de 100 ml y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM		
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA		Pág. 2 de 6
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN		CÓDIGO
	ELABORADO POR.	REVISADO POR	APROBADO POR.
INICIALES	dd/mm/aa	INICIALES	dd/mm/aa
		INICIALES	dd/mm/aa

II Preparar una Curva de Calibración de cinco concentraciones de Sulfametazina

N Sistema	Vol de Sulfametazina	Solución Sulfametazina	Volumen Sulfatazol (ml)	Volumen ml	Sulfametazina [ug/ml]
1	2.0	B	2.0	100	0.5
2	4.0	B	2.0	100	1.0
3	1.0	A	1.0	50	2.0
4	2.0	A	1.0	50	4.0
5	4.0	A	1.0	50	8.0
6	6.0	A	1.0	50	12.0
7	8.0	A	1.0	50	16.0
8	10.0	A	1.0	50	20.0
9	20.0	A	1.0	50	40.0

Linealidad del método

I. Preparar las siguientes soluciones.


- ✓ Hidróxido de sodio 1.5 N

Pesar 6.00 g. de Hidróxido de sodio Grado Reactivo, transferirlo a un matraz volumétrico de 100 ml clase A y disolver con agua hervida fría libre de CO₂, posteriormente filtrar y llevar al volumen de aforo con agua hervida fría libre de CO₂.

- ✓ Búffer de fosfatos (pH 7.4)

Pesar 2.73 g de KH₂PO₄ en un vaso de precipitados, disolver con 100 ml de agua desionizada y adicionar suficiente NaOH 1.5 N hasta ajustar el pH a 7.4. Después llevar a un volumen de 200 ml con agua desionizada

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM		
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA		Pág 3 de 6
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN		CÓDIGO
	ELABORADO POR	REVISADO POR	APROBADO POR
INICIALES	dd/mm/aa	INICIALES	dd/mm/aa
INICIALES	dd/mm/aa	INICIALES	dd/mm/aa

- ✓ Preparación de solución de sulfatiazol (40 ug / ml) (estándar interno).

Pesar 40 mg de sulfatiazol en un vaso de precipitado de 15 ml, adicionarle 0.5 ml de NaOH 1.5 N con una pipeta volumétrica clase TD. Adicionar lo anterior a un matraz volumétrico clase A de 50 ml y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

Tomar 5 ml de la solución anterior con una pipeta volumétrica clase TD, transferirlos a un matraz volumétrico de 100 ml, y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

- ✓ Preparación de 1000 ml de ácido acético al 0.50%.


Tomar 5 ml de ácido acético con una pipeta graduada de 5 ml. Adicionarlos a una matraz volumétrico clase A de 1000 ml. Llevar al aforo con agua desionizada con la calidad de 18.2 M Ω cm.

NOTA. Las soluciones deben ser transparentes. Si presentan algún precipitado o color, deseche y prepare nuevamente.

- ✓ Solución stock de Sulfametazina 100 ug/ml.

Pesar 100 mg de Sulfametazina base en un vaso de precipitados de 15 ml y adicionar 1.0 ml de NaOH 1.5N con una pipeta volumétrica clase TD. Transferir lo anterior a un matraz volumétrico de 100 ml clase A y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM	
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA	Pág. 4 de 6
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	CÓDIGO
	ELABORADO POR:	APROBADO POR:
INICIALES dd/mm/aa	INICIALES dd/mm/aa	INICIALES dd/mm/aa

A partir de la solución stock preparar los siguientes sistemas en agua desionizada

Nº Sistema	Vol de Sulfametazina	Volumen Final (ml)	Sulfametazina [ug/ml]
1	1.0	100	10
2	2.0	100	20
3	2.0	50	40
4	4.0	50	80
5	6.0	50	120
6	8.0	50	160
7	10.0	50	200
8	20.0	50	400

Finalmente de cada uno de los sistemas mostrados en la tabla anterior se preparó la curva de calibración de Sulfametazina en plasma. Esto se realizó transfiriendo 1.0 ml de cada uno de las soluciones a un matraz volumétrico de 10 ml respectivamente y llevando al volumen de aforo con plasma limpio. Las concentraciones obtenidas fueron:


1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 y 40 ug/ml

Posteriormente se realizó el ensayo analítico para Sulfametazina.

IV. Ensayo analítico para Sulfametazina (Extracción en fase sólida).

El ensayo analítico para la curva de calibración se realizó a cada uno de los sistemas mediante el siguiente procedimiento:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM	
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA	
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	
	CÓDIGO	
ELABORADO POR INICIALES dd/mm/aa	REVISADO POR INICIALES dd/mm/aa	APROBADO POR INICIALES dd/mm/aa

IV 1 Preparación de los sistemas con estándar interno (Sulfatiazol)

Tomar 1ml de plasma cargado de cada uno de los sistemas de la curva de calibración con una pipeta volumétrica respectivamente y llevar a un frasco vial limpio de capacidad de 5ml, adicionarle 0.5 ml de estándar interno (sulfatiazol) de una concentración de 40 ug/ml.

IV 2 Extracción en fase sólida del sistema con sulfatiazol.

- ✓ Proceso de acondicionamiento.

Medir 2ml de metanol con una jeringa de capacidad de 5 ml, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak. Percolar el metanol al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/seg.

Posteriormente medir 2 ml de Buffer de fosfatos a pH = 7.4 con una jeringa de capacidad de 5ml, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak. Percolar el Buffer al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ seg. El líquido que salga del cartucho Sep-pak de los anteriores pasos desecharlo.


- ✓ Proceso de carga.

Tomar toda la muestra con sulfatiazol que se encuentra en el frasco (del paso IV 1) con una jeringa limpia de 3ml. Hacer pasar 1ml de aire por la jeringa, adaptar la jeringa que contiene la muestra fortificada al cartucho Sep-pak. Percolar el plasma y el aire succionado al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ 10 seg.. Deseche el líquido que salga del cartucho Sep-pak.

- ✓ Proceso de limpieza.

Medir 2ml de Buffer de fosfatos a pH = 7.4 con una pipeta volumétrica de 2ml clase TD transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 5ml. Pasar aproximadamente 2 ml de aire por la jeringa. Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y eluir su contenido a una velocidad de 0.2 ml/ 10 seg. Desechar el líquido que salga.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM		
	SECCIÓN DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA		Pág. 6 de 6
	REPORTE DE LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN		CÓDIGO
	ELABORADO POR	REVISADO POR	APROBADO POR
INICIALES dd/mm/aa	INICIALES dd/mm/aa	INICIALES dd/mm/aa	

- ✓ Proceso de recuperación.

Medir 2ml de metanol con una pipeta volumétrica de 2ml clase TD. Transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 3 ml. Pasar aproximadamente 1ml de aire por la jeringa. Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak anterior y eluir su contenido (metanol y aire) a una velocidad de 0.2 ml/ 10 seg. Colectar el líquido que salga.

NOTA: Este procedimiento se realiza a cada uno de los sistemas de la curva de calibración

IV. 3 Cuantificación de la sulfametazina

- ✓ Filtrar el líquido resultante de la extracción en fase sólida de la muestra fortificada (del paso IV. 2)
- ✓ Colectar el líquido filtrado del paso anterior en un vial de capacidad de 1 ml (especial para el automuestreador).

PROTOCOLO DE BIODISPONIBILIDAD.**Título:**

Biodisponibilidad de bolos de Sulfametazina sódica en cabras.

Objetivo.

Evaluar la biodisponibilidad de sulfametazina sódica en cabras después de la administración de bolos elaborados bajo diferentes condiciones de fabricación.

No de individuos.

Se emplearon 6 cabras, se marcó cada una de ellas con el siguiente número:

Cabra	Número	Peso (Kg.)
1	363	16
2	364	20
3	365	15
4	468	12
5	478	15
6	487	14

Medicamento:

- ✓ Bolos de Liberación Prolongada de Sulfametazina Sódica.
- ✓ Solución Intravenosa de Sulfametazina sódica a una concentración de 150 mg/ml.

Tratamiento y Dosis

Se utilizó un diseño cruzado con dos vías de administración:

Tratamiento de administración	Vía de administración	
	IV	ORAL
1ª administración.	363	365
	364	468
	478	487
2ª administración.	365	363
	468	364
	487	478

TESIS CON
FALLA DE CRICEN

La dosis empleada para la vía Intravenosa fue de 300 mg de SMZ y para vía Oral un bolo de 13.8g (aproximadamente 3.933 g de SMZ).

Observaciones.

Se utilizaron muestras sanguíneas y el muestreo se realizó de la siguiente forma:

- ✓ Los tiempos de muestreo para la administración IV son los siguientes:

15, 30, 45 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 y 48 horas

- ✓ El tiempo de muestreo para la administración Oral se muestran a continuación:

1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 días.

Una vez tomada la muestra sanguínea se rotula el tubo con los siguientes datos:

- ✓ No. de cabra
- ✓ Tiempo de muestreo
- ✓ Fecha
- ✓ Vía de administración

Después se centrifuga a 3500 rpm durante 25 minutos y se separa el plasma del paquete globular y se transfiere a un tubo limpio con los datos anteriores, posteriormente se almacenó en refrigeración a -20°C .

Método analítico.

El método analítico que se utilizó para la cuantificación de Sulfametazina sódica en plasma fue por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución utilizando una extracción en fase sólida (Trujeque, 1988, p.65-66)

TESIS CON
FALLA DE CENSURA

Fórmula para el cálculo de la prueba del intercepto

Prueba del intercepto:

(Establecer que la Curva de Calibración pasa a través del origen)

$$t = \frac{1 - A}{S_{y,x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\sum x^2}{n(\sum x)^2}}}$$

$$S_{y,x} = \frac{n-1}{n-2} (S_y^2 - b^2 S_x^2)$$

\bar{x} = Media muestral

x = Valores de la variable independiente

y = Valores de la variable dependiente

$A = 0$

a = valor del intercepto calculado por la regresión

b = valor de la pendiente calculado por la regresión

S = desviación estándar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Datos individuales obtenidos durante la disolución de 5 lotes de Bolos de Sulfametazina sódica en agua desionizada con su promedio y su coeficiente de variación correspondiente.

Tiempo(hrs.)	LOTE_1	LOTE_2	LOTE_3	LOTE_4	LOTE_5
0.5	5.76913767	5.93732918	5.75533986	6.81504112	6.15414953
0.5	6.38012436	5.93372245	6.56395777	7.46824588	6.83748002
0.5	6.61400883	5.88734394	7.15996568	7.64938553	6.9702638
0.5	6.34728332	5.7911952	7.18473582	7.61885441	6.9154465
0.5	6.40084854	5.78873247	7.37978676	7.77148868	6.73644281
0.5	6.10297424	5.75228692	7.25596357	7.74901218	6.53072384
Promedio	6.2691	5.8484	6.8832	7.5120	6.6908
C V (%)	4	1	8	4	4
1	9.52034844	8.40921883	9.14891314	10.105926	9.7087412
1	9.36664452	8.42149945	9.21485113	10.0447472	9.75197251
1	9.71795156	8.42638322	10.0905369	10.1453391	9.96462842
1	9.36475608	8.27103084	9.83152427	10.1498721	9.81281243
1	9.30991216	8.20868576	9.83273913	10.3542351	9.7981598
1	9.28973879	8.22254966	9.87406603	10.4422359	9.57972768
Promedio	9.4282	8.3266	9.6654	10.2071	9.7693
C V (%)	2	1	4	1	1
2	11.6095887	11.9734017	11.4822341	12.498885	11.9919193
2	11.1932689	11.626943	11.949549	12.3904556	12.0196563
2	11.7630321	11.605727	12.5694931	12.2392353	11.7660019
2	11.6439988	11.6672247	13.0464269	12.237732	12.2260471
2	11.5069771	11.6092821	12.2491141	12.3677768	11.743908
2	11.1405836	11.2613099	12.4756939	12.5993109	11.6831688
Promedio	11.4762	11.6240	12.2954	12.3889	11.9051
C V (%)	2	2	4	1	2
4	17.4924074	17.0051572	17.0339167	17.1633322	17.1480467
4	16.570537	16.2249828	16.7649713	17.1881623	16.8200113
4	17.2355326	16.8310721	17.9288182	17.0543893	17.4037373
4	17.084589	15.8359112	17.6292074	16.9290005	17.4579379
4	16.9196121	16.444117	17.2854405	17.34188	17.2966524
4	16.7205732	16.0348499	17.5737273	17.2930832	16.7030278
Promedio	17.0039	16.3961	17.3693	17.1616	17.1382
C V (%)	2	3	2	1	2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6	20.9105499	20.0985048	20.3435152	20.6999869	20.3166585
6	20.0967854	19.4963348	20.0340879	20.2977592	20.3756073
6	20.9888956	19.1284285	21.0328515	20.1860018	20.713136
6	20.7253466	19.8351816	20.6492485	20.2892473	20.44168
6	20.5168477	19.6470553	20.7122895	20.4152669	20.4309149
6	20.1715133	18.7100648	20.9912612	20.4905415	19.8086612
Promedio	20.5683	19.4859	20.6272	20.3965	20.3478
C V (%)	2	2	2	1	1
8	24.0180879	23.6151053	22.5711734	21.9216994	23.3636317
8	23.0241526	22.8883201	22.0767201	21.8390768	23.1519152
8	23.6952088	22.813475	24.1376366	21.7413093	23.3013418
8	23.2984574	23.3794272	23.039675	21.9592247	23.4291829
8	23.3108026	23.4108878	22.7821577	22.1247868	23.4577727
8	23.1957483	21.9980385	23.4391824	22.4168481	22.6786712
Promedio	23.4237	23.0175	23.0078	22.0005	23.2305
C V (%)	1	2	3	1	1
24	38.9733944	40.3516019	39.0379255	39.4885122	39.6752249
24	38.6293286	39.4436606	38.4388976	39.3512237	39.2406869
24	38.8867864	39.9594892	39.5082022	40.0720406	39.3413283
24	39.1898821	40.1876071	39.6129978	39.4706879	39.4798655
24	38.9497899	40.1069783	38.9933533	39.8303147	39.3371346
24	37.0054766	38.6381744	39.2584799	39.2656307	37.872331
Promedio	38.6058	39.7813	39.1416	39.5864	39.1578
C V (%)	2	1	1	1	2
48	49.6171439	53.951225	49.1512204	53.0119562	51.9178927
48	51.1921645	54.9127909	49.8378108	54.7911225	52.1510581
48	53.2024952	53.116736	53.5616773	54.4546427	52.2971914
48	52.3672692	53.6914228	51.9326567	54.0017792	51.9947172
48	52.0483271	55.5184073	50.5053886	54.3353078	51.6665417
48	49.8653963	54.0841781	49.5858462	53.8981141	52.0885736
Promedio	51.3821	54.2125	50.7624	54.0822	52.0193
C V (%)	3	1	3	1	0
72	61.3140405	64.4935219	61.3175445	61.1161725	60.8352368
72	60.9278959	65.0167924	62.7543666	63.5391592	62.0116404
72	64.4909523	62.4079007	66.6363557	63.4595432	61.5292741
72	62.5829443	63.9763317	63.7929078	64.8633609	61.4409297

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

72	61.1921533	63.5779672	63.8257237	61.9465026	61.4653686
72	59.9552521	61.7660803	61.0345383	61.3259076	60.7569869
Promedio	61.7435	63.5498	63.2270	62.7084	61.3399
C.V.(%)	2	2	3	2	1
96	64.1527961	71.2233656	70.3706652	65.5052971	69.865319
96	63.4837263	72.7207806	63.4411618	72.2210803	72.2947132
96	66.4261417	71.5989006	68.0208225	73.6728307	70.4365422
96	64.1704659	73.5223606	66.6877754	71.0408402	70.9512117
96	60.394277	71.0190546	66.5741449	71.3097984	71.642446
96	65.3523979	70.4429247	62.2555395	69.0901176	68.5693468
Promedio	63.9966	71.7546	66.2250	70.4733	70.6266
C.V.(%)	3	1	4	4	2
120	71.5768124	76.571201	72.0434102	75.8722224	73.7660328
120	73.0241177	75.567423	75.335677	78.5741925	79.6098574
120	75.0564037	76.2755212	78.8465515	84.0197013	76.6877405
120	74.7890295	76.8130573	75.033504	81.1107069	75.7889307
120	70.9887199	73.2840781	75.0432808	78.2086236	77.282498
120	74.4545856	72.6898888	72.8639173	77.4972737	74.3614879
Promedio	73.3149	75.2002	74.8778	79.2138	76.2494
C.V.(%)	2	2	3	3	3
168	82.6770872	88.8674824	82.9285	83.1992222	81.6932898
168	85.5960354	88.678946	84.9623	86.0628563	87.0448237
168	89.4919355	80.9427507	88.3605	89.6688892	85.3115255
168	87.0054454	82.9544857	84.2365	87.5220753	85.1822685
168	80.8213153	84.0474694	82.5961	81.2481753	83.2102467
168	86.2892155	87.3251949	85.2364	87.1063107	83.2687805
Promedio	85.3135	85.4694	84.7201	85.8013	84.2852
C.V.(%)	3	4	2	3	2

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFIA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

- 1-. Añache JM "BIOFARMACIA" 2ª Edición. Editorial El Manual Moderno. México 1983 pp. 9-11, 310-350.
- 2-. Ansel, H.C. "INTRODUCTION TO PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS" Fourth edition. LEA FEBIGER* Philadelphia, USA. 1985 pp. 89-94
- 3-. Banakar, U. "PHARMACEUTICAL DISSOLUTION TESTING" Drugs and the Pharmaceutical Sciences; vol. 49, Marcel Dekker, Inc; USA. 1992 pp. 14-22
- 4-. Barbara Sievert, M. Siewert. "DISSOLUTION TEST FOR ER PRODUCTS" pp 1-7
- 5-. Blodinger Jack. "FORMULATION OF DRUG DOSAGE FORMS FOR ANIMALS" en formulation of Veterinary Dosage Forms. Editado por Jack Blodinger pp. 52-56, 93
- 6-. Cárcamo, Edison. "CINÉTICA DE DISOLUCIÓN DE MEDICAMENTOS" Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington. 1981, pp. 85.
- 7-. Cárdenas R. Hilda, Cortés Arroyo A. "ASPECTOS BIOFARMACEUTICOS DE LA EVALUACIÓN DE MEDICAMENTOS". Editorial UAM. Xochimilco. México 1996. pp. 27,39,65,101-102.
- 8-. Carstensen Jens "PHARMACEUTICS OF SOLIDS AND SOLIDS DOSAGE FORMS. Una publicación de Wiley-Interscience. Wisconsin 1977. pp.63-70. 233-237.
- 9-. Dabrio, Manuel "CROMATOGRAFIA Y ELECTROFORESIS EN COLUMNA" Springer- Verlag, Barcelona 2000. pp.283.
- 10-. David W., Richard F., Rajinder M. "DISPOSITION OF SULFONAMIDES IN FOOD-PRODUCING ANIMALS: PHARMACOKINETICS OF SULFAMETHAZINE IN LAMBS". American Journal Veterinary Research (1977). 38(7). pp. 967-972.
- 11-. Fernández, S. "BIOFARMACIA" Tomo I y II Editorial Instituto Politécnico Nacional México 1997 pp. 289-315
- 12-. Florey, Klaus. "ANALYTICAL PROFILES OF DRUG SUBSTANCES: Vol.7 Editorial Academic Press: New York, United States of America pp. 403-419

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 13-. Garduño "Curso Extraordinario de Biofarmacia. 1998 FES-Cuautitlán C-I. UNAM.
- 14-. Gibaldi "INTRODUCCION A LA BIOFARMACIA" Editorial Acribia. España 1974 pp1-10
- 15-.Gibaldi "FARMACOCINETICA" Editorial Reverte España 1982 pp. 133-157
- 16-. G.D. Koritz, DVM. "DISPOSITION OF SULFONAMIDES IN FOOD-PRODUCING ANIMALS PHARMACOKINETICS OF SULFATHIAZOLE IN SHEEP." American Journal Veterinary Research (1977) 38(7), pp. 979-982.
- 17-. Gómez Mirón Margot. "DESARROLLO DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO CONFIABLE PARA CUANTIFICAR LA CANTIDAD DE SULFAMETAZINA SÓDICA LIBERADA EN EL PROCESO DE DISOLUCIÓN DE BOLOS DE LIBERCIÓN CONTROLADA" Tesis, Químico Farmacéutico Biólogo. FES Cuautitlán. UNAM 1998 pp. 1-10
- 18-. "HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 1986 PP 92-95.
- 19-. H.A. Elsheikh, B. H. Ali. "PHARMACOKINETICS OF ANTIPIRYNE AND SULPHADIMIDINE IN CAMELS, SHEEP AND GOATS Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics (1991) 14, pp. 269-275.
- 20-. Hubert; Chiap, P.; Evrard. "FULLY AUTOMATED DETERMINATION OF SULFAMETAZINE IN OVINE PLASMA USING SOLID-PHASE EXTRACTION ON DISPOSABLE CARTRIDGES AND LIQUID CHROMATOGRAPHY" Journal of Chromatography. 622 (1993) pp.53-60.
- 21-. Iain J. McGilveray. "OVERVIEW OF WORKSHOP: IN VITRO DISSOLUO OF IMMEDIATE RELEASE DOSAGE FORMS DEVELOPMENT OF IN VIVO RELEVANCE AND QUALITY CONTROL ISSUES. Drug Information Journal (1996) 30, pp. 1029-1037.
- 22-. Lathia, Banakar. "ADVANCES IN DISSOLUTION TECHNOLOGY: DESING, PROS AND CONS." Drug Development And Industrial Pharmacy (1986)), pp. 71-105.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 23-. Lieberman Herbert A. "PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS" Marcel Dekker Inc. Vol. 1. EU. 1996 pp. 102-115
- 24-. Mildred J. T. "EFFECT OF DISSOLUTION RATE OF SULFAMETHAZINE FROM TABLETS ON ABSORPTION AND EXCRETION OF SULFAMETHAZINE. Journal Pharmaceutical Science (1979) pp. 207-209.
- 25-. M. Nawaz. "PHARMACOKINETICS AND URINARY EXCRETION OF SULPHADIMIDINE IN SHEEP DURING SUMMER AND WINTER. Veterinary Record (1983) 16, pp. 379-381.
- 26-. MS. Bulgin. "PHARMACOKINETICS, SAFETY AND TISSUE RESIDUES OF SUSTAINED-RELEASE SULFAMETHAZINE IN SHEEP. Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics (1991) 14, pp. 36-45
- 27-. Narváez Álvarez Mariela. "ELABORACIÓN DE UN SISTEMA COMPUTACIONAL MULTIMEDIA SOBRE DISOLUCIÓN DE POLVOS Y COMPRIMIDOS" Tesis. Químico Farmacéutico Biólogo. FES Cuautitlán. UNAM 2000 pp 2-9, 38-40
- 28-. Parrot Eugene L. "PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY FUNDAMENTAL PHARMACEUTICS" Burgess Publishing Company. Minneapolis. Minn. USA. 1970 pp. 75-79
- 29-. Rémington. "FARMACIA" 17a Edición. Editorial Medica Panamericana. Cap.35. Buenos Aires. 1987 pp. 892-911
- 30-. Richard F Bevill. DVM, Rajinder M. "DISPOSITION OF SULFONAMIDES IN FOOD-PRODUCING ANIMALS: CONCENTRATIONS OF SULFAMETHAZINE AND ITS METABOLITES IN PLASMA, URINE, AND TISSUES OF LAMBS FOLLOWING INTRAVENOUS ADMINISTRATION" American Journal Veterinary Research (1977) 38(7), pp. 967-972.
- 31-. Sampieri, Roberto Collado, C. "METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN" Editorial Mc Graw Hill. México. 2000. pp. 499.
- 32-. Shetty I. U. Asuzu "SOME PHARMACOKINETIC ASPECTS OF SULPHACETAMIDE, SULPHADIMIDINE AND SULPHANILAMIDE IN WEST AFRICAN DWARF (WAD) GOATS" Indian Journal of Pharmacology (1989) 21, pp. 73-80.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 33-. Skoug, J. "PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY " 1996. pp.8-15
- 34-. Van Gogh H. "PHARMACOKINETICS OF NINE SULPHONAMIDES IN GOATS" Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics (1980) 3, pp. 69-81.
- 35-. Van Gogh H. INFLUENCE OF GESTATION ON THE PHARMACOKINETICS OF FOUR SULPHONAMIDES IN GOATS. Research Veterinary Science (1990) 48, pp. 152-157.
Van Deurzen
- 36-. Wagner, J. " FARMACOCINÉTICA CLÁSICA " Editorial Reverte España 1983 pp347-364.
- 37-. <http://biologia.med.ob.es.8080/curso/curso.html>
- 38-. www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/cze.htm

FALTA DE ORIGEN
TESIS CON