UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO COMPARATIVO CON APLICACIÓN DE PERFILES DE DISOLUCIÓN DE TRES PRODUCTOS COMERCIALES CONTENIENDO TARTRATO DE METOPROLOL A TRES DIFERENTES pHs

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MARICELA YERENA GONZÁLEZ

Jurado asignado:

MÉXICO, D. F. 2006

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

Presidente	Prof.	Inés Fuentes Noriega
Vocal:	Prof.	Lauro Misael Del Rivero Ramírez
Secretario	Prof.	Liz Jannet Medina Reyes
1er. Suplente	Prof.	Maria de Lourdes Mayet Cruz
2do. Suplente	Prof.	Luis Jesús García Aguirre

Sitio donde se realizó el tema:

Facultad de Química, conjunto E
Laboratorios 112 y 113 Biofarmacia

Asesor: Dra. Inés Fuentes Noriega

Sustentante: Maricela Yerena González

DEDICATORIAS

A Martis y al Che (Andrés)

Por ser los padres más malos del mundo. Porque sin su apoyo incondicional en todas las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida, difícilmente hubiese llegado a ser la mujer que ahora soy.
Muchas gracias. Los amo.

A Daniela, Andrea, Penélope y Andrés

Mis niñas y niño, ustedes son los arquitectos de su propio destino y en ustedes esta la decisión entre lo que quisieran ser y lo que quieren ser. Trabajen por ello. Los quiero.

Al simple mortal que persigue la sombra que un ave majestuosa refleja sobre la tierra desde el azul en donde flota.

Marco, gracias por estar a mi lado durante todo este tiempo. Te amo, mi amor.

A Elena y Andrés

Por el simple hecho de estar. Los quiero.

A todas las personas que creyeron en mí y han estado a mi lado en el camino que llevo recorrido. Gracias.

AGRADECIMIENTOS

A Dra. Inés Fuentes Noriega

Por permitirme realizar este trabajo experimental y darme el apoyo necesario para concluirlo.

Al M. en C. Lauro Misael del Rivero R.

Por las aportaciones hechas a este trabajo.

A la Lic. Elvira Ceballos Yerena

Por el apoyo en la revisión y conclusión de este trabajo.

A los chavos del 112

Por hacer mas amenos y divertidos los días de trabajo

A todos *los profesores* que aportaron un poco de su experiencia a mi formación tanto académica como personal.

A la UNAM, en especial a la *Facultad de Química* por darme las bases académicas necesarias para ser un profesional en el área, y por ser mi segunda casa durante todo este tiempo.

Índice por temas

1.0 Introducción.....1
2.0 Generalidades 3
2.1 Importancia del proceso de disolución.....3
2.2 Perfiles de disolución.....6
2.3 Factores que afectan a la velocidad de disolución.....10
2.4 Estudios de biodisponibilidad 12
2.5 Clasificación biofarmacéutica.....16
2.6 Validación del método analítico.....20
2.7 Monografía del tartrato de metoprolol.....23
3.0 Parte experimental.....30
3.1 Material.....30
3.2 Medicamentos estudiados.....32
3.3 Pruebas de control de calidad.....33
3.3.1 Identidad.....33
3.3.2 Valoración.....34
3.3.3 Uniformidad de dosificación.....37
3.4 Preparación de medios de disolución.....39
3.5 Desgasificación de los medios de disolución.....40
3.6 Validación del método analítico.....41
3.6.1 Validación del sistema.....41
3.6.1.1 Linealidad.....41
3.6.1.2 Precisión.....43
3.6.2 Validación del método.....43
3.6.2.1 Linealidad.....43
3.6.2.2 Precisión.....45
3.6.2.2.1 Repetibilidad.....45

3.6.2.2.2 Reproducibilidad.....45
3.6.2.3 Exactitud.....46
3.6.2.4 Especificidad.....46
3.6.3 Estabilidad de la muestra.....47
3.6.4 Evaluación del filtro.....48
3.7 Estudio de los perfiles de disolución.....49
4.0 Resultados y análisis de resultados.....53
4.1 Pruebas de control de calidad.....53
4.1.1 Identidad.....53
4.1.2 Valoración.....58
4.1.3 Uniformidad de dosificación.....59
4.2 Validación del método analítico.....61
4.2.1 Validación del sistema.....61
4.2.1.1 Linealidad.....61
4.2.1.2 Precisión.....62
4.2.2 Validación del método.....66
4.2.2.1 Linealidad.....66
4.2.2.2 Precisión.....69
4.2.2.2.1 Repetibilidad.....69
4.2.2.2.2 Reproducibilidad.....70
4.2.2.3 Exactitud.....71
4.2.2.4 Especificidad.....72
4.2.3 Estabilidad de la muestra.....77
4.2.4 Evaluación del filtro.....78
4.3 Estudio de perfil de disolución.....79
5.0 Conclusiones.....86
6.0 Anexos.....87
7.0 Bibliografía.....100

Índice de cuadros

Cuadro 1. Resumen de los estudios de biodisponibilidad.....13
Cuadro 2. Parámetros farmacocinéticos a evaluar en estudios de Biodisponibilidad.....14
Cuadro 3. Medicamentos estudiados.....32
Cuadro 4. Preparación de la curva de calibración.....42
Cuadro 5. Tiempos de retención de las muestras de medicamentos estudiados 53
Cuadro 6. Resultados de valoración.....58
Cuadro 7. Resultados de uniformidad de contenido en las tabletas.....60
Cuadro 8. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en medio HCl 0.1 N pH = 1.2 63
Cuadro 9. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en S.A. Acetatos 0.05 M pH = 4.5 ± 0.05.....64
Cuadro 10. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en medio S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.....65
Cuadro 11. Linealidad del método de tartrato de metoprolol en los diferentes productos y medios estudiados.....67
Cuadro 12. Repetibilidad del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en diferentes medios de disolución.....69
Cuadro 13. Reproducibilidad del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en diferentes medios de disolución.....70
Cuadro 14. Exactitud del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en los diferentes medios de disolución.....71

Cuadro 15. Longitudes de onda (λ) de máxima o mínima absorción de productos que contienen tartrato de metoprolol en los diferentes medios de disolución.....73

Cuadro 16. Estabilidad de la muestra a 37 °C ± 0.5 °C en los diferentes medios de disolución.....77

Cuadro 17. Influencia de la concentración y el medio de disolución sobre los filtros de teflón.....78

Cuadro 18. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el medio de disolución.....80

Cuadro 19. Cinética de disolución para los medicamentos estudiados a los diferentes pHs.....85

Cuadro 20. Cálculos para el producto C en medio fosfatos.....87

Cuadro 21. Resultados de la validación de método.....89

Cuadro 22. Resultados de la validación de método.....90

Cuadro 23. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio HCl 0.1 N.....91

Cuadro 24. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio HCl 0.1 N.....92

Cuadro 25. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio HCl 0.1 N.....93

Cuadro 26. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio S.A. Acetatos pH 4.5.....94

Cuadro 27. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio S.A. Acetatos pH 4.5.....95

Cuadro 28. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio S.A. Acetatos pH 4.5.....96

Cuadro 26. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio S.A. Fosfatos pH 6.8.....97
Cuadro 27. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio S.A. Fosfatos pH 6.8.....98
Cuadro 28. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio S.A. Fosfatos pH 6.8.....99

Índice de figuras

Fig. 1 Proceso de disolución 5
Fig. 2 Equipo desgasificador.....40
Fig.3 Cromatograma típico del tartrato de metoprolol solución de referencia.54
Fig.4 Cromatograma típico del tartrato de metoprolol en el producto 55
Fig.5 Cromatograma típico del tartrato de metoprolol en el producto B.....56
Fig.6 Cromatograma típico del tartrato de metoprolol en el producto C.....57
Fig.7 Linealidad del sistema en medio HCl 0.1 N pH 1.2.....63
Fig.8 Linealidad del sistema en medio S.A Acetatos 0.05 N pH 4.5 64
Fig.9 Linealidad del sistema en medio S.A. Fosfatos pH 6.8.....65
Fig.10 Linealidad del método en medio S.A. Fosfatos pH 6.8.....68
Fig.11 Espectro de absorción UV del tartrato de metoprolol en medio HCl.....74
Fig.12 Espectro de absorción UV del tartrato de metoprolol en medio acetatos....75
Fig.13 Espectro de absorción UV del tartrato de metoprolol en medio fosfatos....76
Fig.14 Perfiles de disolución de tabletas de tartrato de metoprolol en medio HCl.81
Fig.15 Perfiles de disolución de tabletas de tartrato de metoprolol en medio acetatos....82
Fig.16 Perfiles de disolución de tabletas de tartrato de metoprolol en medio fosfatos.....83
Fig.17 Grafica del ln de la cantidad remanente de tartrato de metoprolol vs tiempo....88

1.0 Introducción

El tartrato de metoprolol (1-(Isopropilamino)-3-[p-(2-metoxietil)-fenoxi]-2-propanol (2:1) sal de dextro-tartrato) es un beta bloqueador cardioselectivo ampliamente utilizado en trastornos cardiovasculares como agente antihipertensivo y como regulador de la frecuencia cardiaca.

Su empleo en la terapia se ha incrementado considerablemente en el país debido a la alta prevalencía de trastornos cardiacos, que solo en hipertensión arterial, aumentaron de 401.4 a 529.8 habitantes por cada 100 mil del año 2000 al 2004.[1] Esto constituyen uno de los mas importantes problemas de salud pública en el país.

Sus principales ventajas son: su rápida absorción en el tracto gastrointestinal y su bajo costo; como desventaja presenta un rápido metabolismo lo que implica una baja biodisponibilidad (10-30%).

En la actualidad existen en el mercado nacional al menos cinco productos comerciales que contienen este fármaco como principio activo.[2,3,4]

Al ser el tartrato de metoprolol uno de los fármacos de primera elección en el tratamiento de problemas cardiovasculares es necesario comprobar que existe bioequivalencia entre los diversos productos genéricos que se encuentran en el mercado nacional como el producto innovador con el fin de satisfacer las necesidades terapéuticas en el organismo receptor. Por lo que el objetivo de este estudio, basándose en lo establecido en el proyecto de NOM-177-SSA1-1998[5], es determinar las características de disolución *in vitro* de diferentes productos que contienen tartrato de metoprolol a tres diferentes pHs y comparar los resultados obtenidos entre ellos.

Al no encontrar un producto innovador en el mercado nacional cuya forma farmacéutica y fármaco sea igual al de los diferentes productos genéricos se comparan los resultados como alternativas farmacéuticas, la cual puede demostrar intercambiabilidad si se demuestra su biodisponibilidad relativa.

En la NOM-177-SSA1-1998[5] existe una propuesta sobre el concepto de que si un medicamento cumple con el 85 % de fármaco disuelto antes de los 15 minutos se clasificará como clase 1 (alta solubilidad, alta permeabilidad) y estaría dentro de los productos con bioexención. Sin embargo, por tratarse de formas farmacéuticas diferentes y al existir una alta variabilidad biológica del principio activo debido a su metabolismo dicha premisa debe ser discutida para este fármaco.

2.0 Generalidades

2.1 Importancia del proceso de disolución

El efecto terapéutico de un medicamento es la suma de dos aspectos complementarios: la calidad biofarmacéutica uniforme y reproducible del producto y el estado fisiopatológico del organismo que lo recibe. El primer aspecto es fundamental para la optimización de la terapia y es la meta de los estudios biofarmacéuticos. [6]

Para que un fármaco ejerza su acción debe ser absorbido, distribuido, biotransformado y excretado por el organismo. Lo anterior esta en función de las características intrínsecas de absorción y su estado físico, que debe ser el de la molécula disuelta.[6]

La cinética de disolución de sustancias sólidas ha generado gran atención por su aplicación al estudio de productos farmacéuticos, relacionando este proceso con la biodisponibilidad de fármacos en el organismo.[7] Muchos investigadores han establecido el concepto de que el proceso de absorción de fármacos a nivel del tracto gastrointestinal esta controlado por la velocidad con que estos se disuelven en los medios fisiológicos que allí se encuentran.

La disolución es el proceso por medio del cual una sustancia se dispersa en otra a nivel molecular y el proceso esta determinado por la afinidad química entre ambas especies.[6] Cuando el fármaco se encuentra dentro de una formulación sólida, los procesos de disolución se verán modificados debido a los componentes de la misma. Por lo tanto, conocer los factores que afectan este proceso es de suma importancia; esto permite correlacionar los resultados con parámetros *in vivo*, y por ende asegurar que el fármaco se encuentra biodisponible para ser absorbido.

La figura 1 muestra el proceso de disolución *in vivo* de una forma farmacéutica sólida. Se puede observar que la disolución del fármaco dependerá de la liberación del mismo medicamento, y esto a su vez será un factor determinante para la absorción del mismo.[8]

PROCESO DE DISOLUCIÓN

Forma farmacéutica sólida

⇩ *Desintegración y disgregación*

Liberación

⇩

Disolución

⇩ *Difusión de moléculas en el medio*

Absorción

⇩

Fármaco en sistema

⇩

Efecto terapéutico

Figura 1. Proceso de disolución.

2.2 Perfiles de disolución

El perfil de disolución se define como la curva característica al proceso de disolución, cuando se representa gráficamente la cantidad o concentración de fármaco disuelto contra tiempo.[6] A diferencia de la prueba de disolución, el perfil contempla un muestreo del fármaco disuelto en intervalos de tiempo cortos durante un periodo tal que permita la cuantificación del 100% de la dosis contenida en la forma de dosificación, obteniendo mayor información sobre todo el proceso de disolución y bases de datos potencialmente útiles para efectos de correlación *in vivo* con resultados de biodisponibilidad.

Las pruebas de disolución *in vitro* deben imitar directamente al medio ambiente en el tracto gastrointestinal, por lo que los medios de disolución se preparan de acuerdo a las características del mismo.

El proyecto de NOM-177-SSA1-1998[5] establece en su apartado siete los criterios y requisitos para la evaluación de perfiles de disolución como prueba de intercambiabilidad para formas farmacéuticas de liberación inmediata. Entre las características que debe tener el estudio destacan las siguientes:

1. El método de evaluación del perfil de disolución debe realizarse de acuerdo con las monografías de perfiles de disolución de la FEUM cuando esté descrito.
2. Los estudios de perfil de disolución se llevaran a cabo en el aparato I (canasta) a 100 rpm o el aparato II (paletas) a 50 rpm empleando 900 mL de los siguientes medios de disolución:

   a) Solución 0,1 N de ácido clorhídrico o fluido gástrico simulado sin enzima.
   b) Solución reguladora pH 4,5.
   c) Solución reguladora pH 6,8 o fluido intestinal simulado sin enzima.

3. Realizar los perfiles de disolución con 12 unidades, tanto del medicamento de prueba como el de referencia, en cada uno de los medios de disolución.

4. Para realizar el perfil de disolución, deben seleccionarse por lo menos 5 tiempos de muestreo, que permitan caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta.
5. En cada uno de los medios de disolución utilizar una curva de calibración de la sustancia de referencia para calcular por interpolación la concentración del fármaco disuelto.
6. Se debe validar el método analítico de cuantificación de fármaco.
7. El porcentaje disuelto debe calcularse con respecto a la dosis nominal del fármaco.
8. Se deben reportar los porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación, así como los porcentajes disueltos promedio, los coeficientes de variación y los valores máximo y mínimo en cada uno de los medios de disolución.
9. Se deben graficar los porcentajes disueltos promedio en cada uno de los medios de disolución.
10. Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes, se comparan los perfiles de disolución usando el factor de similitud (f_2) definido en la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50\mathrm{Log}\left\{\left[1+\left(\frac{1}{n}\right)\sum_{t=1}^{n}\left(R_t - P_t\right)^2\right]\right\}^{-0.5} \times 100$$

Donde:

n= número de tiempos de muestreo

Rt= porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia

Pt= porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba

11. Calcular el valor de f_2 en cada uno de los medios de disolución. Si el valor de f_2 es mayor a 50, en los 3 medios de disolución, los perfiles de disolución son similares.
12. En el caso que tanto el producto de prueba como el producto de referencia se disuelvan más del 85% en menos de 15 minutos en los tres medios de disolución, no es necesario emplear el factor de similitud y los productos se clasifican como de rápida disolución.
13. Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es mayor al establecido en el numeral 10, utilizar una prueba estadística científicamente sustentable.

2.3 Factores que afectan la velocidad de disolución[6,7,8]

Los factores que afectan la velocidad de disolución se clasifican en:

A) Factores fisicoquímicos del fármaco

- Solubilidad
- Naturaleza química
- Tamaño de partícula
- Forma cristalina

B) Factores relacionados con el medicamento, dentro de los cuales se encuentran:

- Formulación de la forma farmacéutica
- Procesos de manufactura
- Empaque y edad del producto

C) Factores que dependen del medio de disolución, dentro de los cuales se encuentran:

- pH del medio y pKa del fármaco
- Temperatura
- Volumen
- Mezcla de disolventes
- Adición de tensoactivos
- Viscosidad
- Tensión superficial
- Gases disueltos.

D) Factores relacionados con el disolutor

- Geometría del disolutor
- Geometría del agitador
- Velocidad de agitación
- Calibración del equipo
- Vibración

2.4 Estudios de biodisponibilidad

La biodisponibilidad es la medida tanto de velocidad como de cantidad, con que un fármaco llega a circulación sistémica a partir del medicamento en que fue administrado.[6]

Los estudios de biodisponibilidad pueden dividirse en tres grupos dependiendo de los fines que estos tengan. En el cuadro 1, se presentan un resumen de la aplicación y utilidad de los estudios de biodisponibilidad.[6]

Los parámetros farmacocinéticos a evaluar en un estudio de biodisponibilidad dependen del fluido biológico en que se llevara a cabo la cuantificación. En el cuadro 2 se presenta un resumen de los parámetros farmacocinéticos a evaluar en un estudio de bioequivalencia en humanos.[6]

Cuadro 1. Resumen de los estudios de biodisponibilidad[6]

Estudio de biodisponibilidad	
Para moléculas nuevas	• Determinar la eficiencia de absorción o fracción disponible por las distintas vías • Determinar la influencia de las formulaciones y diversos procesos de manufactura del medicamento sobre la biodisponibilidad del principio activo • Determinar la posibilidad de rediseño molecular del principio activo para mejorar sus características de disolución, absorción, distribución, biotransformación y excreción para mejorar el efecto farmacológico
Para productos genéricos	• Determinar la bioequivalencia entre medicamentos genéricos (biodisponibilidad comparativa) • Determinar la biodisponibilidad de un fármaco contenido en formas farmacéuticas distintas
Para diversos fines	• Apoyar estudios de correlación entre concentraciones plasmáticas de fármaco y la respuesta farmacológica observada • Apoyar al ajuste de regimenes de dosificación diseñados con bases farmacocinéticas • Apoyar al monitoreo de concentraciones plasmáticas de fármacos de empleo delicado

Cuadro 2. Parámetros farmacocinéticas a evaluar en estudios de biodisponibilidad[5, 6]

Datos	Parámetros	Símbolo
Plasmáticos	Concentración máxima de fármaco alcanzada	Cmax
	Tiempo al que se alcanza la concentración máxima de fármaco	Tmax
	Área bajo la curva desde el tiempo cero hasta un tiempo t	ABC 0-t
	Área bajo la curva desde el tiempo cero extrapolada a tiempo infinito	ABC 0-∞
Urinarios	Velocidad máxima de excreción urinaria	(dAex/dt)max
	Cantidad total acumulada de fármaco en orina	Aex∞
	Tiempo en el que se alcanza la cantidad total acumulada de fármaco en orina	T∞

Para evaluar la equivalencia clínica entre medicamentos genéricos, debe ser establecida primero su bioequivalencia, a través de estudios de biodisponibilidad comparativa, con el fin de que no existan cambios de la respuesta farmacológica en el paciente.[6]

Un equivalente farmacéutico debe contener la misma cantidad de principio activo y forma farmacéutica, pero no necesariamente los mismos excipientes[5]; mientras que la alternativa farmacéutica son aquellos productos que contienen idéntico principio activo o precursor, pero no necesariamente en la misma cantidad, forma farmacéutica o sal.[6]

Algunos equivalentes o alternativas farmacéuticas pueden diferir en la velocidad de absorción del fármaco que contienen, sin que esto influya para alcanzar las concentraciones plasmáticas necesarias durante el tratamiento multidosis.

2.5 Clasificación biofarmacéutica

El sistema de clasificación biofarmacéutica[10] (BCS) se basa en la solubilidad del fármaco en una forma farmacéutica de liberación inmediata con dosis específica y en la permeabilidad del mismo dentro del organismo.

Para determinar los límites de solubilidad y permeabilidad para esta clasificación se consideran los siguientes criterios:

a) Para solubilidad

La determinación del limite solubilidad para clasificar a un fármaco que se encuentra en una forma farmacéutica de liberación inmediata se realiza utilizando la dosificación más alta que se encuentre del fármaco, la cual debe estar sujeta a los requerimientos para la biodisponibilidad. Un fármaco se considera altamente soluble cuando el 85 % del total de la dosis estudiada se solubiliza en 250 mL o menos de un medio de disolución acuoso cuyo intervalo de pH se encuentre entre 1 y 7.5.[12,10]

b) Para permeabilidad

La determinación del límite de permeabilidad para clasificar a un fármaco se realiza de forma indirecta, cuantificando el grado de absorción del fármaco en el organismo humano; y directa, midiendo la razón de la cantidad de masa transferida a través de una membrana de intestino humano. Alternativamente, se puede utilizar algún sistema no humano para predecir la capacidad de absorción en el organismo. En ausencia de evidencia de inestabilidad en el tracto gastrointestinal, un fármaco es considerado altamente permeable cuando el grado de absorción en humanos esta determinado en un 90% o mas de la dosis administrada en base al método en el que se realizó el estudio.[12]

La clasificación se da en base al comportamiento de los fármacos en las condiciones anteriores. A partir de esto la clasificación biofarmacéutica es la siguiente:

- Clase 1 : alta solubilidad , alta permeabilidad
- Clase 2 : baja solubilidad , alta permeabilidad
- Clase 3 : alta solubilidad , baja permeabilidad
- Clase 4 : baja solubilidad , baja permeabilidad

Se puede utilizar esta clasificación como base para establecer las especificaciones de disolución in vitro y también puede proveer una base para predecir la probabilidad de lograr una correlación in vivo-in vitro (IVIVT) exitosa.[11]

El BCS sugiere que para fármacos de alta solubilidad, alta permeabilidad (clase 1) y en algunos casos para fármacos de alta solubilidad, baja permeabilidad (clase 3), una disolución del 85% en 0,1N de HCl en 15 minutos puede asegurar que la biodisponibilidad del fármaco no esté limitada por disolución. En estos casos, el paso de limitación de velocidad para la absorción del fármaco es el vaciamiento gástrico. [11]

El tiempo de residencia (vaciamiento) gástrico, t ½, es de 15-20 minutos bajo condiciones de ayuno. En base a esta información, una conclusión conservadora es que un producto medicinal que experimenta una disolución del 85% en 15 minutos bajo condiciones de prueba de disolución suaves en 0.1 N de HCl se comporta como una solución y por lo general no debería tener ningún problema de biodisponibilidad. [11]

En el caso de fármacos de baja solubilidad/alta permeabilidad (clase 2), la disolución del fármaco puede ser la limitante para la velocidad de absorción del fármaco y se puede esperar una IVIVT. Se recomienda un perfil de disolución en medios múltiples para los productos medicinales de esta categoría. En el caso de fármacos de alta solubilidad/baja permeabilidad (clase 3), la permeabilidad es el factor importante a cuidar, por lo que es posible una IVIVT limitada, según las velocidades relativas de disolución y tránsito intestinal. Los fármacos del clase 4 (es decir, baja solubilidad/baja permeabilidad) presentan problemas significativos para la entrega oral del fármaco. [11]

La BCS ha propuesto que los medicamentos cuya clasificación es clase 1, pueden ser candidatos a aplicarles la bioexención, es decir, que basados en los resultados obtenidos en disolución in-vitro, y en una investigación que sustente la alta solubilidad y alta permeabilidad del fármaco se puede considerar que el medicamento es bioequivalente con respecto a un medicamento de referencia, sin realizar estudios de bioequivalencia en humanos.[10] Esto implica una disminución de costos en el desarrollo y aprobación de productos genéricos.

2.6 Validación del método analítico

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se demuestra, por medio de estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación deseada. [13]

Este se justifica en virtud de que al realizar las pruebas de perfil de disolución se cuantifican las concentraciones menores al valor de Q, además de que hay que evaluar que no haya interferencias debidas a los excipientes.[9]

Los parámetros a evaluar en la validación de un método analítico de cuantificación de principio activo en la prueba de disolución son los siguientes: [13,11]

- Validación del sistema
    - Linealidad
    - Precisión
- Validación del método
    - Linealidad

- Precisión
  - Repetibilidad
  - Reproducibilidad
- Exactitud
- Especificidad

- Influencia del filtro
- Estabilidad

La *linealidad* es la capacidad del método analítico de que en un intervalo de trabajo se obtengan resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.[13]

La *precisión* es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto.[14]

La *repetibilidad* es la precisión de un método analítico que expresa la variación obtenida en determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones[13].

La *reproducibilidad* es la precisión de un método analítico que expresa la concordancia entre determinaciones independientes realizadas en diferentes condiciones como, días, laboratorios, equipos y/o analistas[5].

La *exactitud* es la concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.[14]

La *especificidad* es la capacidad del método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.[14]

La *filtración* es una operación que puede causar interferencia en la determinación de la disolución, causada por el efecto del material filtrante sobre el principio activo. Para tomar las alícuotas en el perfil de disolución el filtro debe tener un tamaño de poro no mayor de 1 µm, debe ser inerte y sin causar absorción significativa del ingrediente de la solución, no debe contener materiales extraíbles por el medio de disolución y no debe interferir con los procedimientos analíticos preescritos.[9]

La *estabilidad* es la propiedad de la muestra preparada de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito durante el tiempo de análisis almacenada bajo condiciones especificas.[14]

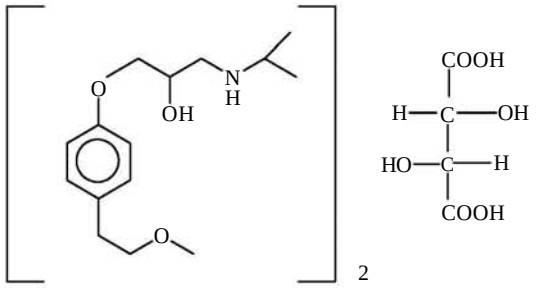
2.5 Monografía del tartrato de metoprolol

Nombre genérico: Tartrato de metoprolol

Nombre químico: 1-(Isopropilamino)-3-[p-(2-metoxietil)-fenoxi]-2-propanol (2:1) sal de dextro-tartrato [15]

Forma condensada: $(C_{15}H_{25}NO_3)_2 * C_4H_6O_6$ [15]

Forma desarrollada: [15]



Masa molecular: 684.82 g/mol [15]

Descripción: polvo blanco cristalino o cristales incoloros. Presenta polimorfismo.[15]

Rotación óptica: dextro acido tartárico [α] 20°C 2%= 6.5° y 10.5°[15]

Punto de fusión: 120-123°C[15]

pKa: 8.9± 0.2 H_2O 25°C
9.6±0.2 Solución iónica 0.1%[15]

λ max: 223, 274, 280 nm[15]

Solubilidad:[9]

	mg/mL
Agua	>1000
Metanol	>500
Cloroformo	496
Acetona	1.1
Acetonitrilo	0.89
Hexano	0.001

Clasificación biofarmacéutica: Clase 1 alta solubilidad, alta permeabilidad.[12]

Presentaciones disponibles en el mercado nacional:[2,3,4]

Marca	Forma farmacéutica	Dosis (mg)	Fabricante
Lopresor 100	Grajeas	100	Lab. Novartis S.A. de C,V.
Metobest	Tabletas	100	Lab. Best S.A. de C.V.
Promiced	Tabletas	100	IQFA S.A de C.V.
Metopresol	Tabletas	100	Tecnofarma S.A. de C.V.
Sermetrol	Tabletas	100	Lab. Serral S.A. de C.V.
Mezelol	Tabletas	100	Victory Enterprises S.A. de C.V.

Indicaciones terapéuticas: Se utiliza para el control de hipertensión en régimen monoterápeutico o en combinación con otros antihipertensores, preferentemente con un diurético o un vasodilatador periférico. También esta indicado para la profilaxis prolongada en angina de pecho, arritmias cardiacas y como prevención de la migraña.[4]

Farmacocinética

Presenta actividad farmacológica una hora después de su administración oral, la cual continúa de 3 a 6 horas mas, alcanzando su concentración máxima antes de las 2 horas. Solo el 50% de la dosis llega a circulación sanguínea debido al efecto del primer paso. En administración intravenosa el efecto se alcanza 20 minutos después. La concentración terapéutica en la que presenta actividad debe estar entre 35 y 212 ng/mL.[16]

El tiempo de vida media de absorción se reporta en 12 minutos, aunque este puede ser variable. Se une en un 12 % a proteínas plasmáticas, en particular albúmina, y se distribuye en humor acuoso y en líquidos raquídeos. Presenta un volumen de distribución de 5.6 L/kg.[16]

Estudios farmacocinéticas han reportado eventos adversos como resultado de errores en el metabolismo del fármaco causados por las variaciones genéticas de las enzimas que metabolizan el fármaco.[18]

La falla en la actividad terapéutica puede deberse en parte a la extremadamente rápida inactivación del metoprolol resultado de la replicación del gen CYP2D6.[18]

El gen CYP2D6 cataliza O-dimetilación y más específicamente la α-hidroxilación del metoprolol. [18]

Los principales metabolitos encontrados en orina es el producto oxidado (60% de la dosis) mientras que el hidroximetoprolol ocupa solo el 7% de la dosis en orina excretada. Las concentraciones de plasma y los efectos en el corazón de rata tienen una correlación significativa con el fenotipo metabólico CYP2D6. Las consecuencias en la farmacocinética y farmacodinámicas del gen que duplica al CYP2D6 no son conocidas por completo. La frecuencia de esta duplicación genética difiere entre poblaciones.[18]

La eliminación se realiza principalmente en el hígado, siendo el tiempo medio de eliminación entre 3 y 7 horas aproximadamente. Se excreta un 95 % del fármaco por orina, presentando un aclaramiento renal de 109 mL/min de fármaco inalterado y de 120mL /min de sus metabolitos. El recobro del 95% de una dosis oral o intravenosa se realiza en 72 horas. Menos del 5% de dosis intravenosa y 10 % de dosis oral se encuentra como fármaco inalterado en orina.[16,17]

Farmacodinamia:

El metoprolol es un β-bloqueador cardioselectivo que actúa sobre receptores β1 localizados principalmente sobre el corazón, y en dosis pequeñas actúa sobre receptores β2 que se encuentran en bronquios y vasos periféricos. Disminuye el efecto estimulante de las catecolaminas reduciendo la frecuencia, contractilidad y gasto cardiaco.[4]

El blanco primario del metoprolol es el receptor β-adrenergico que esta codificado por el gen ADRβ1, que presenta polimorfismos funcionales.[18]

Estudios en vitro han confirmado que existen diferencias importantes en el haplotipo del receptor β1-adrenergico, lo que hace necesario determinar la importancia del polimorfismo para el blanco de la droga. [19]

Se ha estudiado el impacto de los polimorfismos Gly389Arg y Ser49Gly en el receptor β1-adrenergico por el efecto del metoprolol en pacientes con hipertensión. Se encontró que el polimorfismo Arg389 provoca una gran reducción en 24 horas y de día en la presión sanguínea diastolica comparado con pacientes con el alelo Gly 389. Pacientes con el

haplotipo 49Ser389Arg / 49Ser389Arg mostraron una reducción significativa en la presión sanguínea diastolita, mientras que el haplotipo 49Ser389Gly/49Gly389Arg no muestra reducción en la presión sanguínea diastolica. Una tendencia similar se encontró para la reducción de la presión sanguínea sistólica.[19]

Hay evidencia de que una sola dosis con antagonistas β-adrenergicos mejoraran la salud de pacientes diagnosticados con fallos cardiacos. Sin embargo para el tratamiento de hipertensión solo aproximadamente el 50 % de los pacientes responde satisfactoriamente a la mono terapia con metoprolol. Su ultrarrápido metabolismo es uno de los factores para que falle la terapia.[18]

3.0 Parte experimental

3.1 Material

3.1.1 Reactivos

-	Ácido clorhídrico concentrado	J. T. Baker
-	Acido acético glacial	J. T. Baker
-	Acetato de sodio trihidratado	Merck
-	Acetato de sodio anhidro	Merck
-	Fosfato monobásico de sodio monohidratado	Mallinckodf
-	Fosfato dibásico de sodio dodecahidratado	J. T. Baker
-	Metanol HPLC	Tecnolab
-	Hexansulfonato de sodio	Aldrich
-	Agua desionizada	Equipo Millipor
-	Tartrato de metoprolol	Pureza 99.4%
		Donado por Laboratorios Serral SA
-	Oxprenolol	Referencia USP
		Donación de Laboratorios Tecnofarma SA

3.1.2 Equipo e instrumentos

- Disolutor marca Vankel modelo VK 7000
- Espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV-1609
- Cromatógrafo de líquidos marca Shimadzu modelo SCL-10A VP
- Balanza analítica marca Sartorius modelo A210P
- Termómetro marca Brand -2 °C – 68 °C divisiones 0.1 °C
- Baño ultrasonido marca Transsonic 700/H
- Potenciómetro marca Termo Orion
- Desionizador marca Millipor
- Filtros de teflón 0.45 μm

3.2 Medicamentos estudiados

En el listado de medicamentos de referencia de la Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios (COFEPRIS)[20] se establece que para tabletas de metoprolol medicamento de referencia es Seloken® 100 mg, de laboratorios Astra Zenenca. Sin embargo este producto se encuentra descontinuado en el mercado nacional, además de contener como principio activo el succinato de metoprolol.

Por esta razón se decidió utilizar el producto Lopresor 100® en grageas, el cual también estaba enlistado como producto de referencia. Este contiene tartrato de metoprolol y su liberación es inmediata. Se decidió evaluar el compartimiento de los productos genéricos comparando los resultados como alternativas farmacéuticas.

En el cuadro 3 se muestran los medicamentos estudiados así como la clave asignada a cada uno para el estudio. Estos se adquirieron directamente en la farmacia, evaluando un solo lote por producto.

Cuadro 3. Medicamentos estudiados

Clave	Forma Farmacéutica	Marca	Lote
A	Grajeas 100 mg	Lopresor 100	N0003
B	Tabletas 100 mg	Metobest	0509106
C	Tabletas 100 mg	Promiced	1360605

3.3 Pruebas de control de calidad

Se realizaron estas pruebas para asegurar que los productos que se utilizaron en el estudio cumplieran con los requerimientos establecidos en el proyecto de NOM-177-SSA1-1998[5] para el estudio de perfiles de disolución. Las especificaciones del producto se encuentran en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 8va. Edición en la monografía del producto. (FEUM 8va. edicion).[9]

3.3.1 Identidad

Las pruebas de identidad se realizaron por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) empleando la técnica descrita en el punto 3.3.2. El tiempo de retención obtenido para el cromatograma de la muestra de referencia debe corresponder al tiempo obtenido en los cromatogramas de la muestra.

3.3.2 Valoración

Se realizó por medio de un método de CLAR basado en lo establecido en la FEUM 8va. edición.[3]

Condiciones cromatográficas del equipo

Fase movil: Hexansulfonato de sodio 1.731 mg/mL en metanol: acetato de sodio anhidro 0.148 mg/mL en agua desionizada: acido acetico glacial (50:49.9:0.1).
Columna: Phenomenex luna 5 µ C 18, tamaño 4.6 X 250 mm.
Flujo: 1 mL/min.
Deteccion: detector de luz UV, longitud de onda 254 nm.
Temperatura de la columna: Ambiente.
Temperatura del inyector: Ambiente.
Volumen del inyector: 10 µL

Preparación de las soluciones

Patrón interno: se pesaron 0.072 g de oxprenolol y se colocaron en un matraz de 100 mL. Se llevó a volumen con fase móvil; la concentración final fue de 720 µg/mL.

Referencia: Se pesaron 25 mg de Sref de tartrato de metoprolol y se llevó a volumen con 25 mL de patrón interno. Se mezcló y se paso una alícuota de 2.5 mL a un matraz de 5 mL se llevó a volumen con metanol. La concentración final fue de 500 µg/mL.

Muestra: Se pesaron 10 tabletas del producto a probar, se calculó su peso promedio y se trituraron hasta obtener un polvo fino. Se pesó un equivalente a 25 mg de tartrato de metoprolol y se colocó en un matraz volumétrico de 25 mL. Se agregaron aproximadamente 20 mL de metanol, se colocó en el baño de ultrasonido por 10 minutos y después se llevo a volumen con metanol. Se dejó reposar y se tomó una alícuota de 2.5 mL de sobrenadante, se pasó a un matraz de 5 mL y se llevo a volumen con patrón interno. Se filtro a través de una membrana de 0.45 µm.

Procedimiento: Se inyectaron al cromatógrafo 10 µL del blanco (mezcla 1:1 de metanol: patrón interno), la preparación de referencia (por triplicado) y las muestras de los productos a estudiar (por duplicado). Se obtuvieron los cromatogramas con los parámetros tiempo de retención y área. Con estos datos se calcularon las áreas relativas, por medio del cociente del área obtenida de cada una de los analitos entre el área obtenida para el patrón interno en cada cromatograma. Con estos resultados se calculó la cantidad de tartrato de metoprolol en la muestra tomada por medio de la siguiente formula:

$$CD(Am/Aref)$$

Donde C es la concentración de la referencia, D es el factor de dilución de la muestra, Am es el área relativa obtenida para la preparación de la muestra y Aref área relativa para la preparación de la referencia. La muestra debe contener no menos del 90.0 por ciento y no más del 110.0 por ciento de la cantidad de tartrato de metoprolol indicada en el marbete.

3.3.3 Uniformidad de dosificación

El método que se aplica es el de uniformidad de contenido, ya que en los productos por analizar el contenido de principio activo es menos del 50 por ciento de la masa total de la forma farmacéutica.[9]

El método analítico utilizado fue el propuesto para la valoración, modificando solo la preparación de la muestra de acuerdo a lo establecido en la FEUM 8va. edición.

Preparación de la muestra: Se pesaron 10 tabletas del producto a probar de forma individual. Se colocó la tableta entera en un matraz volumétrico de 25 mL. Se agregaron aproximadamente 20 mL de metanol, se colocó en el baño de ultrasonido por 10 minutos y después se llevo a volumen con metanol. Se dejo reposar y se tomó una alícuota de 2.5 mL de sobrenadante a un matraz de 10 mL llevando a volumen con metanol. De esta solución se tomó una alícuota de 2.5 mL y se colocó en un matraz aforado de 5 mL llevando a volumen con patrón interno. Se filtró a través de una membrana de 0.45 µm.

Limites: Cada una de las tabletas deben encontrarse dentro de un intervalo de 85.0 por ciento a 115.0 por ciento de la cantidad indicada en el marbete, y la desviación estándar relativa no debe ser mayor al 6.0 por ciento.

3.4 Preparación de los medios de disolución

3.4.1 HCl 0.1 N pH 1.2 ± 0.05 (Medio HCL)

Agregar 8.5 mL de ácido clorhídrico concentrado a 700 mL de agua destilada; mezclar con agitación constante hasta alcanzar temperatura ambiente. Aforar a 1L con agua destilada.

3.4.2 Solución amortiguadora (S.A.) acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05 (S.A. acetatos)

Disolver 3.0 g de acetato de sodio trihidratado en 700 mL de agua destilada. Agregar 1.7 mL de acido acético glacial y aforar a un litro. Ajustar pH con NaOH 0.1 N o acido acético 1:1 (v/v).

3.4.3 Solución amortiguadora (S.A.) fosfatos 0.1 M pH 6.8 ± 0.05 (S.A. fosfatos).

Disolver 10.2 g de de fosfato dibásico de sodio dodecahidratado en 600 mL de agua destilada; después agregar 9.8 g de fosfato monobásico de sodio monohidratado y aforar a 1L con agua destilada. Ajustar pH con NaOH 0.1 N o acido fosfórico 1:1 (v/v).

3.5 Desgasificación de los medios de disolución

Para desgasificar los medios de disolución se utilizó el equipo de desgasificación mostrado en la figura 2. Se colocó la solución en el recipiente no. 2 del equipo y se conectó al vació. Se abrió la llave del vació y se espero a que pasara todo el medio de disolución al recipiente no. 1. Se cerro la llave de vació y se invirtieron las conexiones de los recipientes, para repetir el procedimiento tres veces mas y eliminar por completo el aire. Este procedimiento se realiza 30 minutos antes de montar el equipo de disolución.

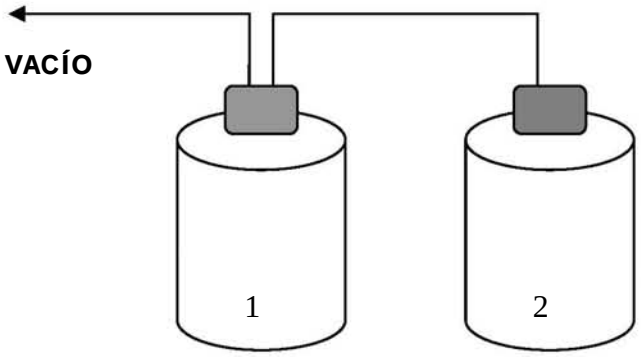


Figura 2. Equipo desgasificador.

3.6 Validación del método analítico

Previo al estudio de perfiles de disolución se validó el método analítico cuantificando el tartrato de metoprolol en los tres diferentes medios de disolución.

3.6.1 Validación del sistema

3.6.1.1 Linealidad

Este parámetro se determinó realizando una curva de calibración (concentración-absorbancia), en un intervalo de 22.2 - 111.1 µg/mL partiendo de una misma solución de referencia para cada uno de los medios de disolución donde se realizaran los perfiles. La curva se hizo por duplicado.

Preparación de la solución de referencia. Pesar 0.0222 g de referencia de tartrato de metoprolol y colocarlos en un matraz aforado de 10 mL disolver y llevar a volumen con el medio de disolución. Tomar una alícuota de 5 mL y colocarla en un matraz aforado de 50 mL, llevar a volumen con el medio. Esta solución contiene 222 µg/mL.

Elaboración de la curva de calibración: De la solución anterior tomar las alícuotas especificadas en el cuadro 4 para obtener las concentraciones requeridas.

Cuadro 4. Preparación de la curva de calibración

matraz	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración Final (µg/mL)
1	1	10	22.2
2	2	10	44.4
3	3	10	66.6
4	4	10	88.8
5	5	10	111.1

Las absorbancias se determinaron espectrofotométricamente a una longitud de onda de 275 nm, utilizando como blanco para cada medición el medio con el que se realiza la curva.

Se demuestra linealidad del sistema si en tres curvas el coeficiente de correlación es mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no es mayor al 2%.

3.6.1.2 Precisión

La cuantificación de este parámetro se obtuvo a partir del cálculo de factor de respuesta para cada uno de los resultados obtenidos en la linealidad. Con los resultados obtenidos se calcula el coeficiente de variación del factor de respuesta, el cual se calcula dividiendo la absorbancia obtenida para cada punto entre la concentración de la muestra.

La precisión del sistema se cumple si el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) del factor de respuesta no es mayor al 2 %.

3.6.2 Validación del método

3.6.2.1 Linealidad

Se determino la linealidad para cada una de las formulaciones a estudiar y en cada uno de los medios de disolución en los que realizaron los perfiles. Para ello se prepararon tres curvas de calibración en un intervalo de 22.2-111.1 µg/mL.

El procedimiento fue el siguiente:

Preparación de la solución de referencia del método: Se pesaron 10 tabletas del producto a probar, se calculo su peso promedio y se trituraron hasta obtener un polvo fino. Se pesó un equivalente a 22.2 mg de tartrato de metoprolol del polvo y se realizó el mismo procedimiento que en el punto 3.5.1.1, con la diferencia de que la muestra se filtra después de la primera dilución. Se prepararon tres curvas con las mismas concentraciones de linealidad de sistema.

Con los resultados obtenidos se graficó la concentración vs. absorbancia para cada uno de los medicamento en los distintos medios.

El método es lineal si el factor de correlación es mayor o igual a 0.99 y el error relativo debido a la regresión no es mayor al 3%.

3.6.2.2 Precisión

3.6.2.2.1 Repetibilidad

Se determino por medio del coeficiente de variación de las tres curvas obtenidas para linealidad del método realizadas en el punto 3.6.2.1. En cada punto el %CV no debe ser mayor al 3%.

3.6.2.2.2 Reproducibilidad

Esta se cuantificó realizando por duplicado en días distintos el procedimiento de linealidad del método. Con los resultados obtenidos se cálculo la ecuación de la curva y con ella, la concentración en cada punto a partir del valor de absorbancia obtenidos. Con los resultados se cálculo el coeficiente de variación.

Si el coeficiente de variación es menor del 3% el método es reproducible.

3.6.2.3 Exactitud

Con los resultados de linealidad se obtuvo la ecuación de la curva y se calculó la concentración en cada punto a partir del valor de absorbancia obtenida. Se calculó la desviación estándar relativa (DEA) a partir de la siguiente ecuación:

%DEA = ([teórica] - [experimental]) / [teórica] x 100

El valor de % DEA debe ser menor al 3 %.

3.6.2.4 Especificidad

Se evaluó obteniendo el espectro de absorción de 200-350 nm de las siguientes soluciones: solución de referencia de tartrato de metoprolol y soluciones cada uno de los medicamentos estudiados a partir del polvo de los mismos; todas a una concentración aproximada de 11.1 µg/mL.

El método es específico si no existe diferencia entre los espectros de absorción obtenidos.

3.6.3 Estabilidad de la muestra

Este parámetro se evaluó a través de una solución que contenía tartrato de metoprolol a una concentración de 111 µg/mL en cada uno de los medios en estudio. Esta solución se hizo por triplicado y se coloco en un baño de agua a 37° C ± 0.5°C. Se muestreó a los 15, 30, 45 y 90 minutos cada una de las muestras y se leyó en el espectrofotómetro a 275 nm utilizando como blanco el medio correspondiente.

Con los resultados de absorbancia se calculó la desviación estándar relativa (DEA) a partir de la siguiente ecuación:

%DEA = ([tiempo cero] – [tiempo t]) / [tiempo cero] x 100

El valor de % DEA debe ser menor al 3 %.

3.6.4 Evaluación del filtro

La evaluación se realizó preparando dos soluciones de referencia de tartrato de metoprolol una a 22.2 µg/ mL y otra a 88.8 µg/mL. Los filtros utilizados fueron de teflón de 0.45 µm de adaptación directa. Se tomo una alícuota sin filtrar de ambas soluciones y subsecuentemente se tomaron 6 alícuotas de la soluciones con los filtros adaptados.

El coeficiente de variación de la absorbancia entre la solución filtrada y la no filtrada no debe ser mayor al 2%.

3.7 Estudio de los perfiles de disolución

El estudio de perfiles de disolución se realizó a tres diferentes pH utilizando diferentes medios de disolución HCl 0.1 N pH 1.2, solución amortiguadora acetatos 0.05 M pH 4.5 ± 0.05 y solución amortiguadora fosfatos 0.1 M pH 6.8 ± 0.05.

La metodología utilizada es la propuesta en la F.E.U.M. 8va. Edición[9], cambiando solo el medio de disolución para el desarrollo de la prueba. El valor de Q no debe ser menor a 75 por ciento en 30 minutos.

Condiciones:

- Aparato utilizado: No. 1 canastillas a 100 r.p.m.
- Medio de disolución: Medio HCl, S.A. acetatos, S.A. fosfatos.
- Volumen del medio de disolución: 900 mL
- Temperatura del medio: 37 °C ± 0.5 °C
- Tiempos de muestreo: 5, 10, 15, 20, 30 y 45 minutos.
- Volumen de la alícuota tomada: 5 mL sin reposición de medio.
- Dilución de la muestra: con dilución.

Procedimiento:

Se colocaron 900 mL del medio de disolución previamente desgasificado, en cada vaso del disolutor, este se calentó hasta obtener una temperatura de 37 ° C ± 0.5 ° C. Se colocó una tableta del producto a estudiar en el interior de la canastilla, y se empezó la agitación. Se tomaron 5 mL de muestra en los tiempos indicados con filtración inmediata. Las muestras se leyeron directamente o por dilución en el espectrofotómetro a 275 nm utilizando como blanco el medio correspondiente. Esto resultados se interpolaron en una curva de calibración preparada el mismo día del estudio.

El porcentaje de tartrato de metoprolol recuperado se obtuvo por medio de las siguientes ecuaciones:

$$Di = [Yi - (A/B)] * [V_0 - (N-1)\ v]$$

Donde Di son los miligramos del principio activo disueltos en el volumen de muestra tomada a el i-ésimo tiempo de muestreo, Yi es la absorbancia del principio activo en la preparación de la muestra al i-

ésimo tiempo de muestreo, A la ordenada al origen de la curva de calibración, B le pendiente de la curva de calibración, V_0 es el volumen inicial del medio de disolución, N es el numero de extracciones, y v es el volumen de la muestra tomada.

$$\% Di = Di / dosis (100)$$

Donde %Di es el por ciento de principio activo disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo, Di son los mg de principio activo disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo, y dosis son los miligramos de principio activo indicados en la etiqueta.

Con los resultados obtenidos se evaluó la cinética de disolución aplicando el modelo de cinética de orden uno por el método de cantidad remanente. Se determinó el tiempo de vida media de disolución (t ½) y la constante de disolución (Kdis) aplicando el método de mínimos cuadrados.

Los pasos a seguir para el cálculo de los parámetros son los siguientes:

1. Graficar % disuelto de fármaco vs. tiempo

2. Suponer que a tiempo cero se tiene el 100% del fármaco sin disolver y restar a este las cantidades fármaco obtenidas en cada tiempo de muestreo (cantidad remanente).

3. Graficar el logaritmo natural de la cantidad remanente vs. t.

4. Calcular la ecuación de la recta obtenida. La pendiente es la constante de disolución y el tiempo de vida media de disolución se calcula de la siguiente manera: $t_{½} = \ln 2/K_{dis}$

En el *anexo 1* se muestra un ejemplo numérico del cálculo realizado.

4.0 Resultados y análisis de resultados

4.1 Pruebas de control de calidad

4.1.1 Identidad

A continuación se presentan los resultados obtenidos para el ensayo de identidad (cuadro 5). Se observa que los tiempos de retención de las muestras corresponden a los obtenidos en la solución de referencia (Sref) el cual fue 8.3. En la figura 3 se muestra un cromatograma típico de tartrato de metoprolol.

Cuadro 5. Tiempos de retención de las muestras de medicamentos estudiados.

Muestra	**SRef**	**A**	**B**	**C**
Tiempo de retención	8.30	8.45	8.33	8.36

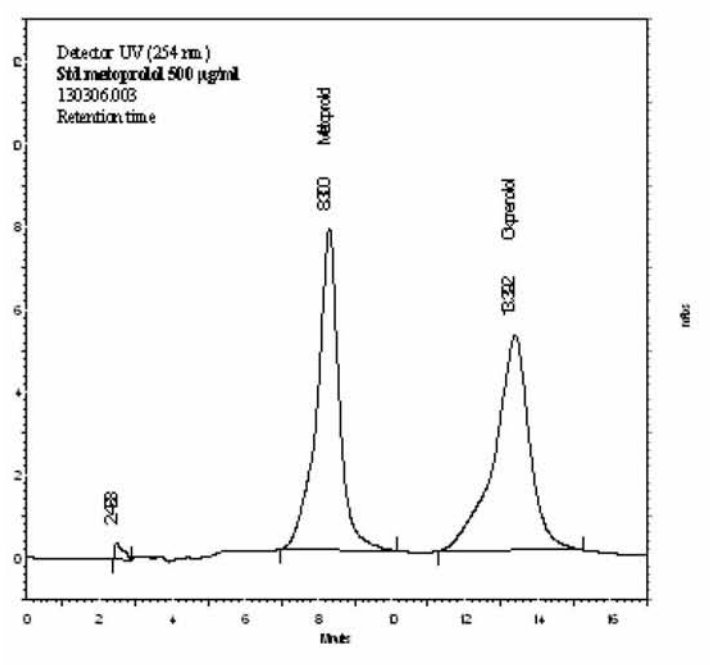


Figura 3. Cromatograma típico de tartrato de metoprolol solución de referencia.

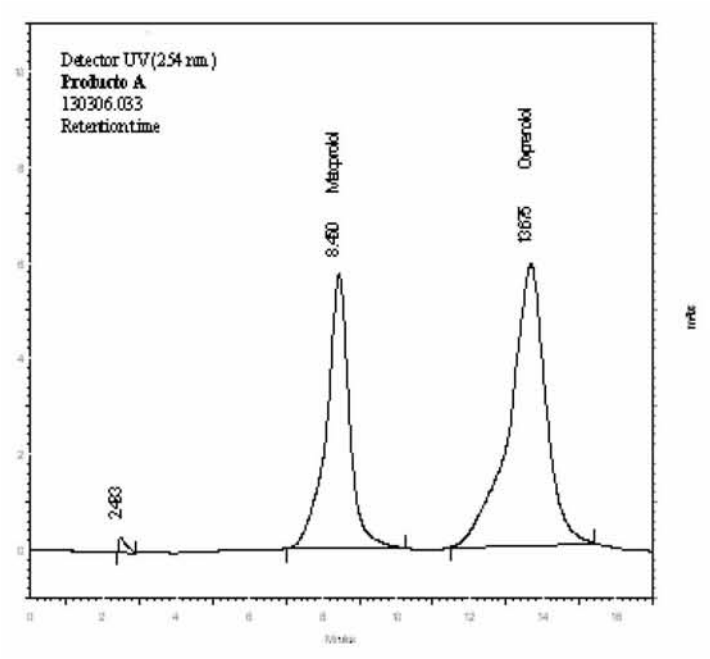


Figura 4. Cromatograma típico de tartrato de metoprolol en el producto A.

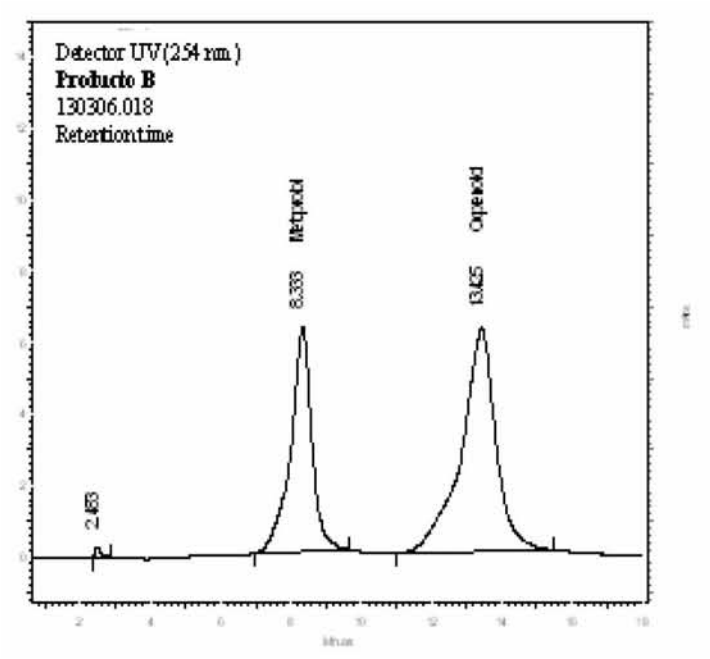


Figura 5. Cromatograma típico de tartrato de metoprolol en el producto B.

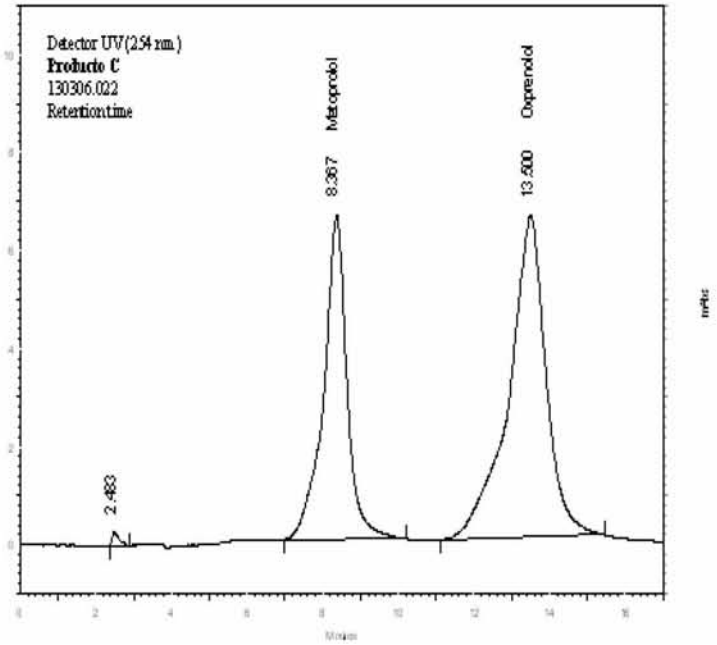


Figura 6. Cromatograma típico de tartrato de metoprolol en el producto C.

4.1.2 Valoración

Los resultados se expresaron en porcentaje de principio activo (p.a.) mostrados en el cuadro 6. Se observa que todas las muestras de los medicamentos estudiados cumplen con las especificaciones, es decir, contienen no menos del 90.0 por ciento y no más del 110.0 por ciento de la cantidad de tartrato de metoprolol indicada en el marbete, además de no presentar una diferencia mayor al 5 % entre el compuesto de referencia y los de prueba.

Cuadro 6. Resultados de valoración

Muestra	Peso promedio tabletas (g)	Valoración (mg)	Valoración % p.a.	% C.V.
A	0.4998	99.5227	99.5	0.7540
B	0.2997	96.2755	96.3	1.0681
C	0.3399	100.4926	100.5	1.1072

% C.V. : porcentaje de coeficiente de variación.

4.1.3 Uniformidad de dosificación

Los resultados se obtuvieron por el método de uniformidad de contenido calculando el % de principio activo. Todas las tabletas cumplieron con la especificación, la cual dice que cada una debe contener entre de un 85.0 por ciento a 115.0 por ciento de principio activo declarado en el marbete, y la desviación estándar relativa (DER) no debe ser mayor al 6.0 por ciento. Los resultados se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7. Resultados de uniformidad de contenido en las tabletas.

	Uniformidad de contenido %		
Muestra	**A**	**B**	**C**
1	89.3	91.0	103.8
2	94.3	88.8	99.2
3	95.0	90.7	102.1
4	99.3	94.0	94.0
5	92.3	87.5	97.8
6	91.2	97.3	101.5
7	88.4	96.5	107.3
8	97.4	93.6	96.3
9	90.9	88.5	101.4
10	99.8	91.3	103.3
Promedio	**93.8**	**91.9**	**100.7**
DER	**4.3**	**3.6**	**3.9**

4.2 Validación del método analítico

4.2.1 Validación del sistema

4.2.1.1 Linealidad

Los resultados de linealidad para cada uno de los medios de disolución utilizados se presentan en el cuadro 8. Se puede observar que el sistema es lineal en el intervalo de concentraciones de 22.2 a 111.1 µg/mL, ya que cumple con la especificación de que el coeficiente de correlación para cada curva es mayor o igual al 0.99 y el error relativo debido a la regresión en todos los casos es menor al 2%.

En las figuras 7, 8 y 9 se presentan de manera grafica la tendencia de linealidad del sistema para cada curva en el intervalo de cuantificación en los diferentes medios de disolución.

4.2.1.2 Precisión

Los resultados se muestran en el cuadro 8. Se observa que el % CV del factor de respuesta para cada curva no es mayor al 2%, por lo tanto se cumple el parámetro de precisión del sistema.

Los resultados completos obtenidos para la validación del sistema en cada uno de los medios se presentan en el anexo 2.

Cuadro 8. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en medio HCl 0.1 N pH = 1.2

	HCl 0.1 N pH = 1.2			
	Curva 1	**Curva 2**	**Factor de respuesta**	
m	0.0041	0.0041	**Media**	0.0042
b	0.0045	0.0027	**DE**	4.3×10^{-5}
r	0.9999	0.9999	**CV**	1.0357
ERDR	0.2175	0.1247		

m: pendiente, **b**: ordenada al origen, **R**: coeficiente de correlación, **ERDR**: error relativo debido a la regresión, **DE**: desviación estándar, **CV**: coeficiente de variación.

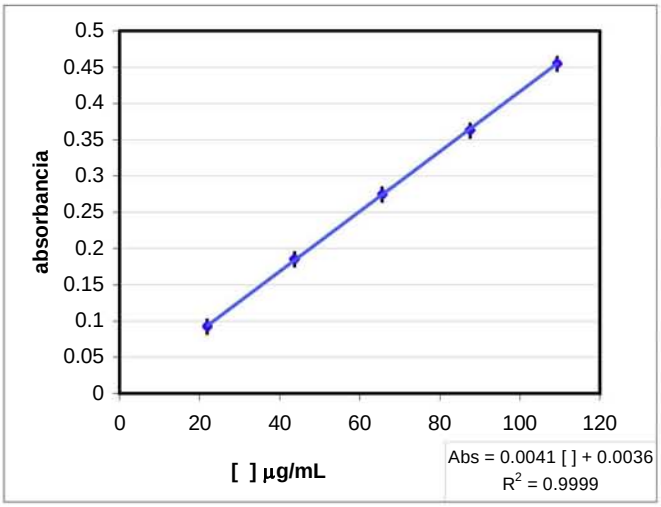


Figura 7. Linealidad del sistema de tartrato de metoprolol en medio HCl 0.1 N pH = 1.2

Cuadro 9. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en medio S.A. Acetatos 0.05 M pH = 4.5 ± 0.05

	S.A. Acetatos 0.05 M pH = 4.5 ± 0.05			
	Curva 1	**Curva 2**	**Factor de respuesta**	
m	0.0041	0.0040	**Media**	0.0041
b	0.0038	0.0044	**DE**	4.8×10^{-5}
r	0.9999	0.9999	**CV**	1.1682
ERDR	0.1533	0.1621		

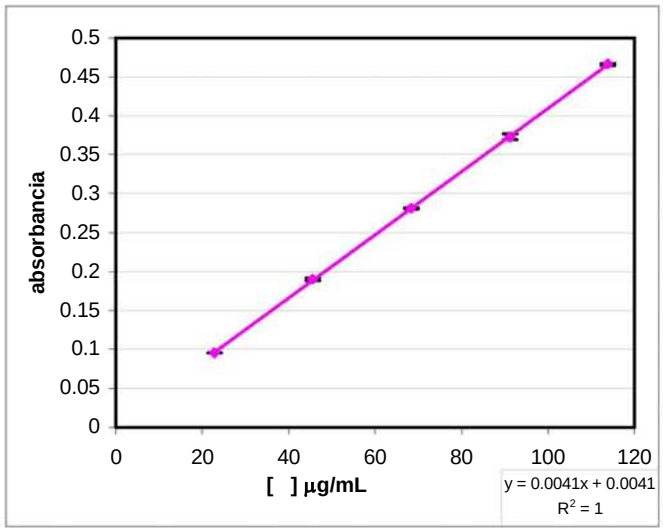


Figura 8. Linealidad del sistema de tartrato de metoprolol en medio S.A. Acetatos 0.05 M pH = 4.5 ± 0.05

Cuadro 10. Linealidad y precisión del sistema de tartrato de metoprolol en medio S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.

	S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.			
	Curva 1	**Curva 2**	**Factor de respuesta**	
m	0.0041	0.0041	**Media**	0.0041
b	0.0050	-0.0004	**DE**	4.5×10^{-5}
r	0.9998	0.9999	**CV**	1.0889
ERDR	0.2725	0.1366		

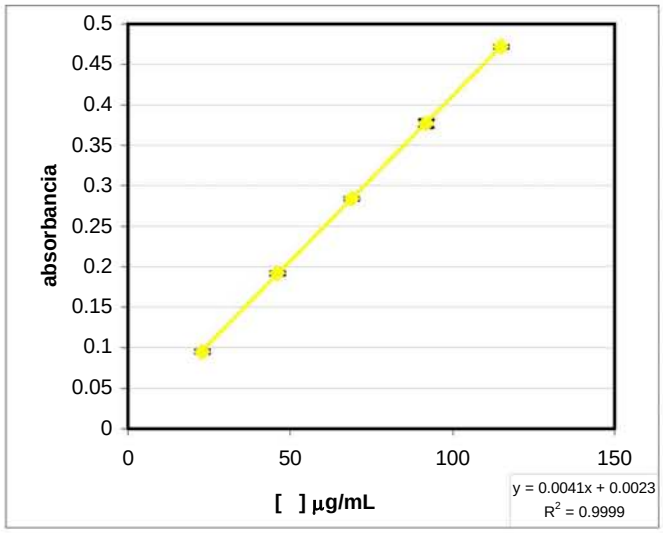


Figura 9. Linealidad del sistema de tartrato de metoprolol en medio S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.

4.2.2 Validación del método

4.2.2.1 Linealidad

Los resultados de linealidad para cada medicamento estudiado en los distintos medios de disolución se presentan en el cuadro 11. Se puede observar que en todos los casos se cumple con la especificación, obteniendo un valor de factor de correlación (R) mayor o igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 3%.

En la figura 10 se presenta un ejemplo de la linealidad del método de los diferentes productos en medio fosfatos.

Los resultados completos obtenidos para la validación del sistema en cada uno de los medios se presentan en el anexo 3.

Cuadro 11. Linealidad del método de tartrato de metoprolol en los diferentes productos y medios estudiados.

	Producto A								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
Curva	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
m	0.0039	0.0040	0.0040	0.0042	0.0043	0.0044	0.0042	0.0041	0.0043
b	0.0012	0.0003	0.0017	0.0055	0.0020	0.0002	-0.0009	0.0027	-0.0059
R	0.9999	0.9997	0.9999	0.9982	0.9998	0.9999	0.9998	0.9998	0.9997
ERDR	0.138	0.396	0.225	1.020	0.296	0.252	0.251	0.285	0.372
	Producto B								
	HCl 0.1 N			**S.A. Acetatos pH 4.5**			**S.A. Fosfatos pH 6.8**		
Curva	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
m	0.0039	0.0039	0.0039	0.0044	0.0043	0.0043	0.0040	0.0040	0.0040
b	-0.0015	0.0029	0.0045	0.0009	0.0079	0.0028	-0.0047	-0.0026	-0.0008
R	0.9998	0.9999	0.9998	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
ERDR	0.305	0.211	0.253	0.349	0.217	0.098	0.198	0.090	0.090
	Producto C								
	HCl 0.1 N			**S.A. Acetatos pH 4.5**			**S.A. Fosfatos pH 6.8**		
Curva	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
m	0.0037	0.0037	0.0037	0.0036	0.0036	0.0036	0.0035	0.0034	0.0034
b	0.0008	0.0016	-0.0009	0.0027	0.0047	0.0044	0.0020	0.0065	0.0032
R	0.9999	0.9999	0.9998	0.9999	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997
ERDR	0.148	0.033	0.290	0.061	0.232	0.188	0.026	0.154	0.312

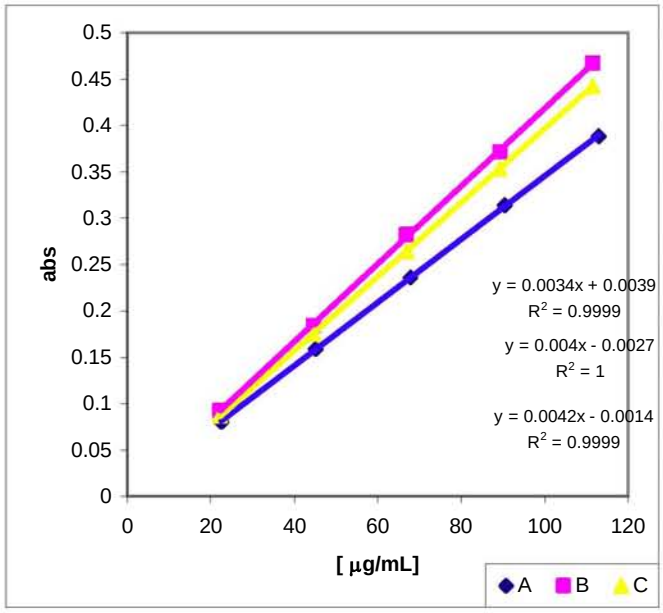


Figura 10. Linealidad del método de tartrato de metoprolol en medio S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.

4.2.2.2 Precisión

4.2.2.2.1 Repetibilidad

Los resultados se obtuvieron a partir de las curvas de linealidad y se muestran en el cuadro 12. En todos los casos el coeficiente de variación de las tres curvas obtenidas no fue mayor al 3%.

Cuadro 12. Repetibilidad del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en diferentes medios de disolución.

	Medio de disolución								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
Producto	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**
[µg/mL]$_{teórica}$	**% CV**			**% CV**			**% CV**		
22.2	1.7	2.0	0.4	1.9	1.4	0.9	2.7	0.3	1.3
44.4	0.7	1.0	1.1	0.5	0.7	0.2	1.7	1.0	0.4
66.6	0.9	1.0	0.9	1.7	1.0	0.3	0.8	0.5	1.3
88.8	1.3	0.6	1.2	2.7	1.6	0.9	1.2	0.3	0.9
111.1	0.3	0.7	0.5	0.1	0.8	0.8	0.7	0.6	1.4

4.2.2.2.2 Reproducibilidad

Los resultados se obtuvieron a partir de los datos de linealidad de dos días diferentes y se presentan en el cuadro 13. El método resultó reproducible ya que en todos los casos el coeficiente de variación es menor del 3%.

Cuadro 13. Reproducibilidad del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en diferentes medios de disolución.

	Medio de disolución								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
Producto	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**
[µg/mL]$_{teórica}$	**% CV**			**% CV**			**% CV**		
22.2	2.6	1.5	1.6	1.5	1.7	1.6	1.5	1.4	0.7
44.4	1.9	0.4	0.8	0.8	0.4	1.1	1.3	0.8	0.4
66.6	0.9	0.5	1.0	1.4	0.7	0.8	0.9	0.9	0.6
88.8	0.8	1.5	0.7	1.5	1.0	0.9	0.5	0.4	1.0
111.1	0.4	0.7	0.3	1.1	0.6	0.5	0.5	0.96	0.3

4.2.2.3 Exactitud

Los resultados se obtuvieron a partir de los datos de linealidad y se muestran en el cuadro 14. Se puede observar que en todos los medios de disolución y productos, el valor de DEA fue menor al 3 %.

Cuadro 14. Exactitud del método de cuantificación de tartrato de metoprolol en los diferentes medios de disolución.

	Medio de disolución								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
Producto	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**
[µg/mL]$_{teórica}$	**% DEA**			**% DEA**			**% DEA**		
22.2	0.7	0.5	1.1	0.2	0.0	0.2	1.5	0.8	0.2
44.4	0.5	0.0	0.0	1.4	1.3	1.4	1.5	0.2	2.5
66.6	0.5	0.4	0.8	1.3	1.1	1.4	0.9	0.3	1.2
88.8	1.0	1.0	0.4	0.8	1.5	0.9	0.5	0.4	1.0
111.1	0.1	0.0	0.6	1.2	0.6	0.8	0.5	0.4	1.2

4.2.2.4 Especificidad

En las figuras 11, 12 y 13 se presentan los espectros de absorción del tartrato de metoprolol contenido en los diferentes productos comerciales disuelto en diferentes medios de disolución. Se puede observar que los espectros de absorción obtenidos de los productos comerciales coinciden con el obtenido para el estándar en la zona de cuantificación del producto (250-280 nm). En el cuadro 15 se presentan las longitudes de onda (λ) de máxima o mínima absorción. Las variaciones que se presentan entre los espectro pueden ser provocadas por los excipientes presentes en cada una de ellas.

Cuadro 15. Longitudes de onda (λ) de máxima o mínima absorción de productos que contienen tartrato de metoprolol en los diferentes medios de disolución.

	HCl 0.1 N			
Producto	**Sref**	**A**	**B**	**C**
λ max	221.4	225.9	222.6	223.4
λ min	243.8	243.6	244.0	244.0
λ max	274.6	274.8	274.6	274.6
	S.A. Acetatos pH 4.5			
Producto	**Sref**	**A**	**B**	**C**
λ max	225.0	225.2	221.8	226.0
λ min	243.7	243.6	244.2	243.8
λ max	274.8	274.8	274.8	274.6
	S.A. Fosfatos pH 6.8			
Producto	**Sref**	**A**	**B**	**C**
λ max	222.0	223.4	221.8	223.2
λ min	243.8	243.6	244.4	243.8
λ max	274.8	274.8	274.8	274.6

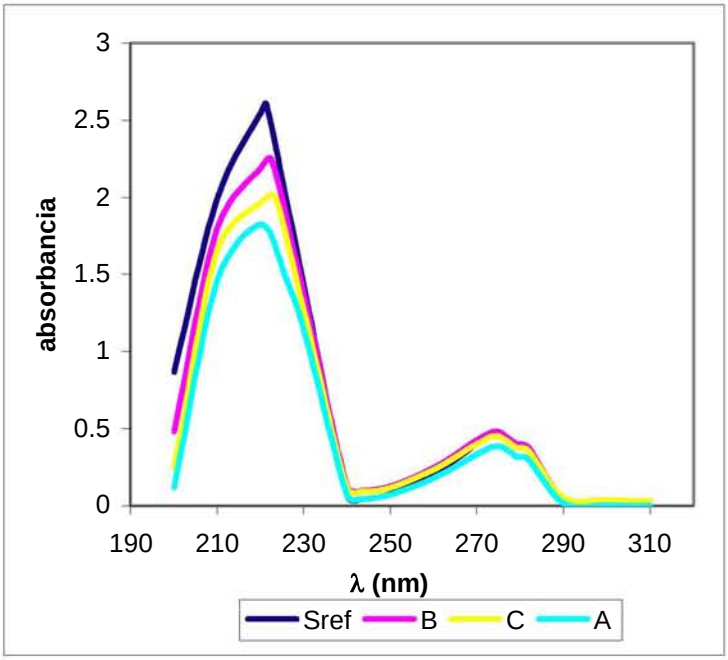


Figura 11. Espectros de absorción de tabletas de tartrato de metoprolol en medio HCl 0.1 M pH 1.2

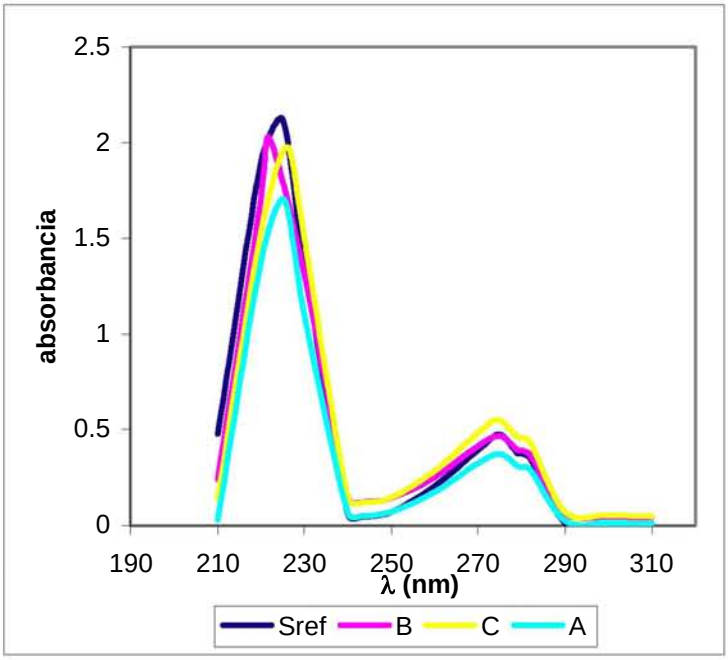


Figura 12. Espectros de absorción de tabletas de tartrato de metoprolol en medio acetatos 0.05M pH 4.5.

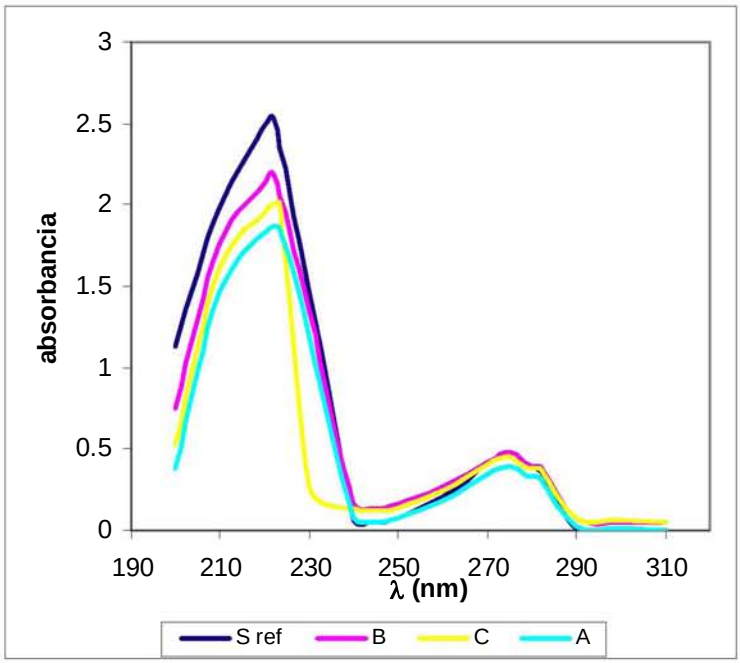


Figura 13. Espectros de absorción de tabletas de tartrato de metoprolol en medio fosfatos 0.1 M pH 6.8.

4.2.2.5 Estabilidad de la muestra

Los resultados se muestran en el cuadro 16. Se observó que la muestra es estable en el intervalo de tiempo de 0 a 90 minutos, ya que la DEA en cada tiempo fue menor al 3%.

Cuadro 16. Estabilidad de la muestra a 37 °C ± 0.5 °C en los diferentes medios de disolución.

	Medio de disolución		
Tiempo de muestreo (min)	**HCl 0.1 N**	**Acetatos pH 4.5**	**Fosfatos pH 6.8**
	% DEA		
15	0.1	1.5	0.9
30	0.8	0.7	0.1
45	0.1	0.8	0.2
90	0.1	1.3	0.4

4.2.2.6 Evaluación del filtro

Los resultados se muestran en el cuadro 17. El porcentaje de coeficiente de variación a las concentraciones estudiadas fue menor al 2%, por lo que se puede utilizar el filtro de teflón durante el estudio en los diferentes medios estudiados.

Cuadro 17. Influencia de la concentración y el medio de disolución sobre los filtros de teflón.

	HCl 0.1 N pH 1.2		***Acetatos 0.05 M pH 4.5***		***Fosfatos 0.1 M pH 6.8***	
Muestras	**Absorbancia**		**Absorbancia**		**Absorbancia**	
[µg/mL]	22.265	89.062	22.763	91.050	22.961	91.846
s/filtrar	0.111	0.366	0.096	0.382	0.093	0.382
filtradas						
1	0.113	0.361	0.097	0.383	0.094	0.383
2	0.112	0.365	0.098	0.381	0.091	0.381
3	0.110	0.365	0.096	0.381	0.091	0.381
4	0.112	0.364	0.096	0.379	0.090	0.380
5	0.112	0.363	0.095	0.380	0.090	0.380
6	0.111	0.362	0.095	0.392	0.091	0.392
Promedio	0.112	0.364	0.096	0.383	0.091	0.382
%CV	**0.931**	**0.519**	**1.050**	**1.139**	**1.628**	**1.139**

4.3 Estudio de perfiles de disolución

En el cuadro 18 se presentan los % de disolución promedio obtenidos para cada perfil de disolución con su respectivo % CV. Los resultados individuales para cada perfil (12 unidades por medio) se presentan en el anexo 4, señalando el valor del máximo y mínimo en cada caso.

En las figuras 14, 15 y 16 se observan los perfiles de disolución de los productos estudiados en los diferentes medios de disolución

En todos los casos los productos cumplieron con la especificación farmacopeica, Q>75 % en 30 minutos.

Los medicamentos estudiados presentan más del 85% de fármaco disuelto en 15 minutos, a los tres pHs estudiados, por lo que no es necesaria la realización de pruebas estadísticas para comparar los perfiles de disolución del medicamento innovador con los genéricos, como lo establece la NOM-177-SSA1-1998.[5]

Cuadro 18. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el medio de disolución.

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
	Medio HCl 0.1 N pH 1.2					
A	33	59	85	93	94	92
%CV	6.2	3.7	1.5	1.0	2.4	1.7
B	32	63	91	97	97	95
%CV	6.3	4.3	3.0	1.4	1.4	1.7
C	35	67	93	101	100	99
%CV	7.6	6.7	6.2	1.4	2.1	2.6
	Medio S. A. Acetatos 0.05 M pH 4.5					
A	35	68	95	104	103	101
%CV	7.6	6.7	6.2	1.4	2.1	2.7
B	45	73	93	98	97	97
%CV	8.6	6.3	6.4	3.4	2.3	2.6
C	36	68	94	101	100	100
%CV	7.1	2.6	2.9	1.8	1.9	2.3
	Medio S. A. Fosfatos 0.1 M pH 6.8					
A	40	72	95	100	99	98
%CV	3.1	1.9	1.5	1.7	1.7	2.2
B	46	76	92	96	95	94
%CV	7.4	5.9	2.6	2.0	0.9	1.2
C	31	60	85	93	92	90
%CV	6.3	2.6	1.8	1.7	1.5	1.2

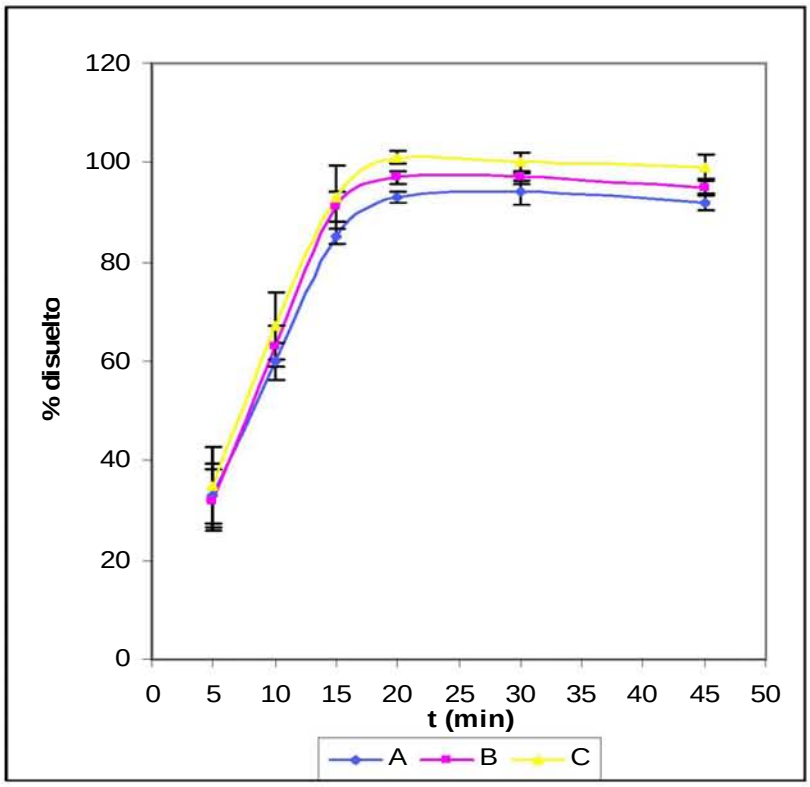


Figura 13. Perfiles de disolución de los productos en medio HCl 0.1 N pH 1.2

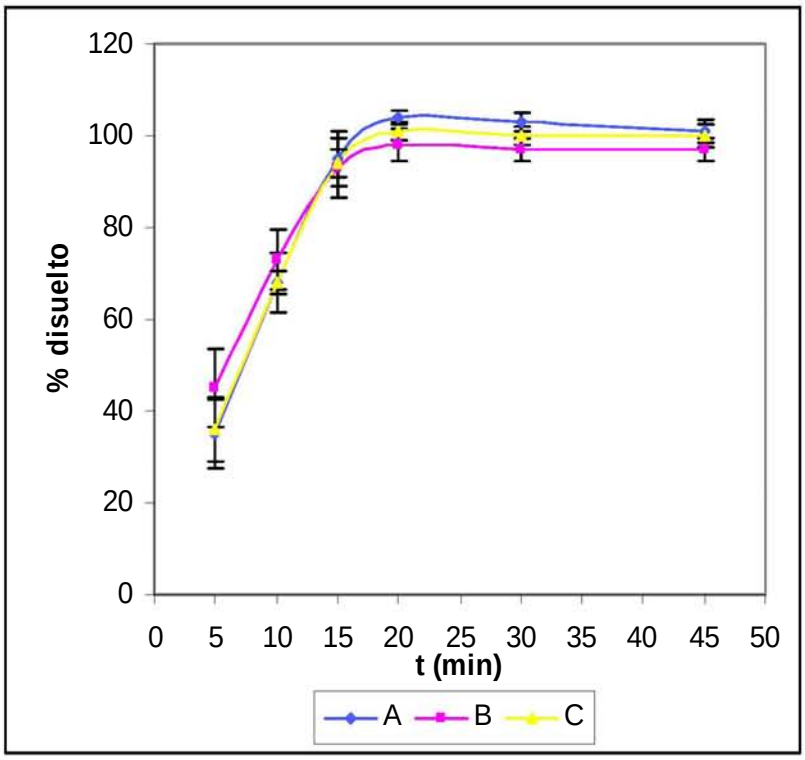


Figura 14. Perfiles de disolución de los productos en medio Acetatos 0.05 M pH 4.5

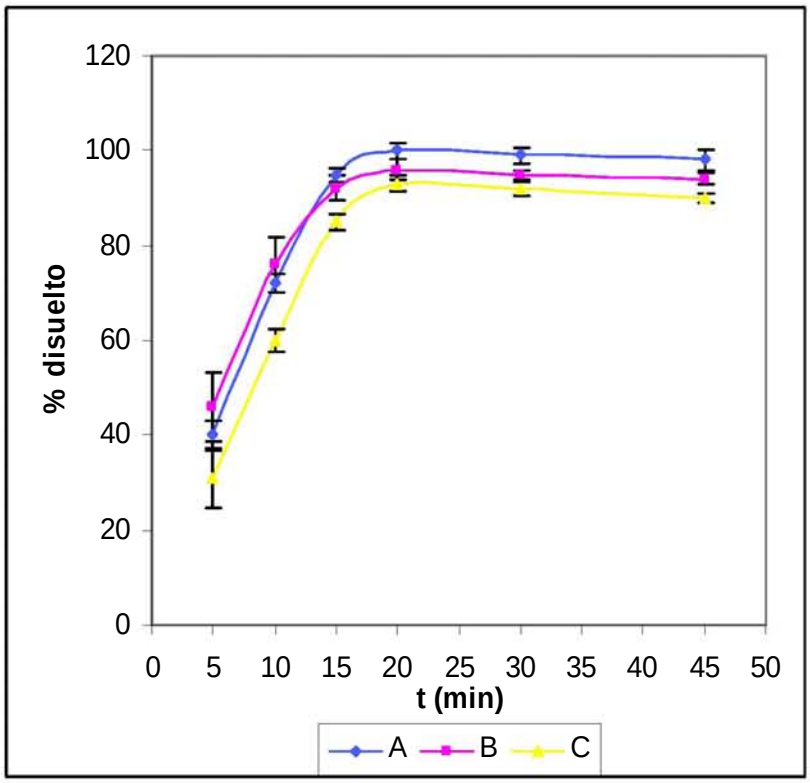


Figura 15. Perfiles de disolución de los productos en medio fosfatos 0.1 M pH 6.8

Los medicamentos estudiados pueden ser considerados alternativas farmacéuticas, ya que el perfil de disolución del medicamento innovador (A) es similar al de los medicamentos prueba (B y C) en los medios estudiados. Sin embargo, es necesario realizar un estudio de biodisponibilidad comparada para verificar si se alcanzan las mismas concentraciones de fármaco en el organismo.

Dado que el metoprolol presenta un metabolismo alto y debido a la variabilidad genética existente entre los individuos, la absorción de éste en el organismo se puede ver afectada, por lo que es necesario considerar la cantidad activa de fármaco que se encuentra en el organismo.

En base a los resultados obtenidos en el estudio *in vivo,* se puede determinar si los resultados son consistentes con el perfil de disolución, y por ende, aplicar la bioexensión de pruebas de biodisponibilidad a los medicamentos de prueba.

Los perfiles de disolución se ajustaron a una cinética de orden uno. El valor de las constantes de disolución y del tiempo medio de disolución se presentan en el cuadro 19.

Cuadro 19. Cinética de disolución para los medicamentos estudiados a los diferentes pHs.

	HCL			Acetatos			fosfatos		
Producto	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**	**A**	**B**	**C**
K_{dis} (min^{-1})	0.103	0.216	0.223	0.249	0.226	0.237	0.256	0.178	0.157
T½ (min)	6.7	3.2	3.1	2.8	3.1	2.9	2.7	3.9	4.4

5.0 Conclusiones

Las tabletas de tartrato de metoprolol cumplieron con las pruebas de control de calidad establecidas en la FEUM 8va. ed., por lo que los medicamentos propuestos se pudieron emplear en el estudio de disolución.

Se demostró que el método analítico propuesto para la cuantificación de tartrato de metoprolol es lineal en el intervalo de concentraciones de 22.2-111.1 µg/mL. También se encontró que es preciso, exacto, estable y específico.

Los perfiles de disolución de los diferentes productos comerciales que contenían tartrato de metoprolol presentaron mas del 85% de fármaco disuelto en un intervalo de 15 minutos en los tres pH estudiados (pH= 1.2, pH = 4.5 y pH = 6.8), por lo que se comprueba que es un fármaco altamente soluble.

Se propone realizar un estudio de biodisponibilidad comparativa en individuos sanos para concretar la bioequivalencia de los medicamentos de prueba. En base a ello, se podría determinar si los productos estudiados pudieran ser considerados para la aplicación de la bioexensión de estudios de biodisponibilidad.

6.0 Anexos

Anexo 1

Cálculo de la constante de disolución y el tiempo de vida media

Ejemplo:

Cuadro 20. Cálculos para el producto C en medio fosfatos

T (min)	Disueltos (mg)	Cantidad remanente (mg)	Ln rema
5	46	54	3.98898405
10	76	24	3.17805383
15	92	8	2.07944154
20	96	4	1.38629436
30	95	5	1.60943791
45	94	6	1.79175947

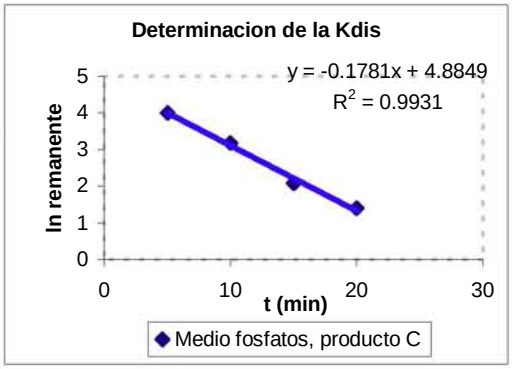


Figura 17. Grafica del ln de la cantidad remanente de tartrato de metoprolol vs tiempo.

K dis = - pendiente = 0.1781 min -1
T ½ = ln2 / 0.1781 min -1= 3.9 min

Anexo 2

Resultados obtenidos para la validación de sistema de tartrato de metoprolol en diferentes medios

Cuadro 21. Resultados de la validación del sistema

	HCl 0.1 N pH = 1.2	
µg/mL	**Curva 1**	**Curva 2**
21.868	0.0933	0.092
43.736	0.1855	0.1852
65.604	0.2764	0.2734
87.472	0.3617	0.3647
109.34	0.4551	0.4543
	S.A. Acetatos 0.05 M pH = 4.5 ± 0.05	
µg/mL	**Curva 1**	**Curva 2**
22.7626	0.0955	0.0955
45.5252	0.1912	0.1891
68.2878	0.2808	0.2817
91.0504	0.3755	0.3702
113.813	0.467	0.4648
	S.A. Fosfatos 0.1 M pH = 6.8 ± 0.05.	
µg/mL	**Curva 1**	**Curva 2**
22.9614	0.0963	0.0938
45.9228	0.1931	0.1901
68.8842	0.285	0.2827
91.8456	0.3732	0.3801
114.807	0.4706	0.4725

Anexo 3

Resultados obtenidos para la validación de método de tartrato de metoprolol en diferentes medios

Cuadro 22. Resultados de la validación del método

Conc nominal	Producto A								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
µg/mL	1	2	3	1	2	3	1	2	3
22	0.09	0.0876	0.0905	0.0999	0.0992	0.0964	0.0913	0.0952	0.0905
44	0.1744	0.1754	0.1769	0.1975	0.1973	0.1956	0.1862	0.1863	0.1807
66	0.2632	0.2681	0.2649	0.2959	0.2877	0.297	0.2832	0.2795	0.2839
88	0.3502	0.3583	0.3574	0.3707	0.3873	0.3894	0.3754	0.3663	0.3721
111	0.4391	0.4382	0.4409	0.4882	0.4869	0.488	0.4653	0.4648	0.4706
Conc nominal	Producto B								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
µg/mL	1	2	3	1	2	3	1	2	3
22	0.0867	0.09	0.0891	0.0991	0.1019	0.1	0.0865	0.0865	0.0869
44	0.1741	0.1774	0.1766	0.1998	0.2006	0.198	0.1738	0.1742	0.1769
66	0.2612	0.2644	0.2667	0.2983	0.2985	0.2933	0.2625	0.264	0.2653
88	0.3444	0.3478	0.348	0.403	0.3915	0.3927	0.3521	0.3538	0.3539
111	0.4392	0.4397	0.434	0.4941	0.4862	0.4889	0.4452	0.4409	0.441
Conc nominal	Producto C								
	HCl 0.1 N			S.A. Acetatos pH 4.5			S.A. Fosfatos pH 6.8		
µg/mL	1	2	3	1	2	3	1	2	3
22	0.0828	0.0835	0.083	0.0847	0.0833	0.0837	0.0804	0.0811	0.0791
44	0.1655	0.1644	0.162	0.1663	0.1669	0.1661	0.1593	0.1593	0.1582
66	0.2502	0.246	0.2467	0.2469	0.2482	0.2482	0.2382	0.2363	0.2324
88	0.3324	0.328	0.3246	0.3293	0.3239	0.3285	0.3163	0.3109	0.3152
111	0.4124	0.4095	0.413	0.4116	0.4065	0.4059	0.395	0.3854	0.3854

Anexo 4

Resultados individuales para cada perfil de disolución en los diferentes medios de disolución estudiados.

Cuadro 23. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio HCl 0.1 N.

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
A	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio HCl 0.1 N pH 1.2					
1	32	69	98	102	99	98
2	38 M	72 M	100 M	103 M	102	100
3	37	72 M	98	99	98	99
4	36	70	98	101	99	96 m
5	36	70	97	102	99	97
6	38 M	72 M	98	98 m	96 m	96 m
7	34	61	84 m	101	102	94
8	34	63	93	103 M	103 M	102
9	32	60 m	84 m	102	101	103 M
10	29 m	63	89	102	103 M	101
11	35	64	88	102	102	101
12	33	65	93	102	101	100

M: máximo m: mínimo

Cuadro 24. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio HCl 0.1 N.

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
B	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio HCl 0.1 N pH 1.2					
1	36	63	86	94	94	94
2	32	60	89	92 m	95	94
3	31 m	57 m	84 m	95	93 m	94
4	36	59	86	94	95	96
5	31 m	63	85	95	96	95
6	32	62	85	96	96	96 M
7	34	64 M	88	93	97	96 M
8	35	64 M	87	95	94	91 m
9	36	63	86	93	95	94
10	33	61	87	96	95	93
11	35	61	85	97 M	100 M	93
12	37 M	63	90 M	95	100 M	93

Cuadro 25. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio HCl 0.1 N.

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
C	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio HCl 0.1 N pH 1.2					
1	32	60	85	91	93 m	97
2	32	62 M	86	92	96	94 m
3	32	60	83	90 m	97	94 m
4	31 m	61	85	94	97	96
5	33	62 M	82 m	93	97	96
6	31 m	60	85	94	98	97
7	32	60	83	93	97	95
8	33	57	85	95	98	95
9	32	52 m	86	94	99	96
10	31 m	57	87	95	96	94 m
11	35 M	58	88	97 M	100	98 M
12	35 M	57	89 M	97 M	101 M	98 M

Cuadro 26. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio S.A. Acetatos pH 4.5

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
A	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Acetatos pH 4.5					
1	34	67	98 M	102	101	102
2	36	69	95	103 M	102 M	104 M
3	38	71 M	97	100	97 m	104 M
4	37	69	94	98 m	97 m	99
5	41 M	70	96	100	98	98
6	39	69	95	101	100	100
7	31 m	66 m	90	102	101	100
8	38	68	93	103 M	101	100
9	34	67	91	102	100	100
10	36	67	92	103 M	102 M	100
11	36	66 m	89 m	98 m	97 m	95 m
12	34	71 M	95	102	100	99

Cuadro 27. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio S.A. Acetatos pH 4.5

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
B	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Acetatos pH 4.5					
1	33	70	100	104	101	100
2	39 M	73 M	102 M	102	106 M	104
3	38	73 M	100	102	101	98
4	37	72	100	103	101	99
5	37	72	100	104	101	98
6	39 M	73 M	101	100 m	98 m	96 m
7	35	62 m	86 m	103	104	104
8	35	65	95	105 M	105	105 M
9	33	61	86 m	104	104	104
10	30 m	65	91	105 M	105	104
11	36	66	90	104	104	103
12	34	67	95	104	104	102

Cuadro 28. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio S.A. Acetatos pH 4.5

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
C	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Acetatos pH 4.5					
1	43	73	98 M	98	97	96
2	42	66	89	101	98	96
3	43	74	91	98	95	93 m
4	39 m	63	82 m	92 m	96	95
5	42	70	96	99	97	95
6	44	73	98 M	102 M	101 M	99
7	44	76	98 M	100	101 M	101 M
8	43	72	95	95	95	95
9	49	72	94	98	97	98
10	40	62 m	82 m	93	99	101 M
11	52 M	84 M	97	95	94 m	95
12	42	76	97	100	99	100

Cuadro 29. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto A en medio S.A. Fosfatos pH 6.8

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
A	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Fosfatos pH 6.8					
1	34	63	97 M	94	95	92
2	38 M	66 M	94	95	94	91
3	31 m	61	88 m	96	95	93
4	32	62	89	98 M	96 M	93
5	31 m	62	88 m	96	93	93
6	33	63	89	94	93	94 M
7	31 m	60 m	89	94	94	91
8	34	64	89	90 m	91 m	92
9	34	63	90	95	94	90 m
10	32	61	88 m	94	94	93
11	34	63	88 m	93	93	91
12	31 m	60	89	93	91 m	91

Cuadro 30. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto B en medio S.A. Fosfatos pH 6.8

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
B	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Fosfatos pH 6.8					
1	42 M	73	97	97 m	97 m	95 m
2	39	74 M	96	98	97 m	95 m
3	40	69 m	95	99	98	97
4	40	71	98 M	100	100	97
5	40	70	97	99	100	96
6	41	72	96	99	97 m	95 m
7	38 m	71	93 m	101	100	98
8	40	73	96	103 M	102 M	100 M
9	38 m	72	93 m	101	100	99
10	41	73	96	102	101	100 M
11	39	71	94	101	100	99
12	41	71	95	101	101	100 M

Cuadro 31. Porcentaje de tartrato de metoprolol disuelto en el producto C en medio S.A. Fosfatos pH 6.8

Producto	Tiempo de muestreo (min)					
C	5	10	15	20	30	45
	% disuelto					
Unidad	Medio S.A. Fosfatos pH 6.8					
1	40 m	72	90 m	95	92	89 m
2	45	82	91	95	91 m	89 m
3	42	66	82	98	96 M	94 M
4	47	80	94	99 M	96 M	94 M
5	43	78	92	96	93	92
6	49	83	92	96	93	90
7	44	77	95 M	97	95	89 m
8	50	84 M	94	98	95	92
9	43	74	91	96	93	92
10	49	78	94	98	95	93
11	45	58 m	91	94 m	92	90
12	51 M	81	91	94 m	92	90

7.0 Bibliografía

1. "*Estadística de morbilidad de los principales casos nuevos de enfermedades, 2000-2004"* disponible en http://www.inegi.gob.mx consultada el 25 de junio 2006.
2. "*Productos"* disponible en http://www.tecnofarma.com.mx/ products/metopre.htm consultada el 25 de julio 2006.
3. "Medicamentos" disponible en http://www.serral.com.mx/ consultada el 25 de Julio 2006.
4. Thomson, PLM 2005 DEF, 51va edición. pp 2055-2057.
5. Proyecto de modificación a la norma oficial mexicana NOM-177-ssa1-1998, que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
6. Cárdenas, R.; Cortes, A. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos 1ra. Edición. México: UAM, 1996. pp. 31-38, 45-89, 170-176.
7. Cid Corcano, Edson. Cinética de disolución de medicamentos. Washington, D. C.: Secretaria General de Organización de Estados Americanos, 1981. pp. 1,2.
8. Abdou, H.M. *Disolución. En*: Reminton, Farmacia. 20va. Edición. Tomo 1. Argentina: Editorial Panamericana, 2003. pp. 765-768.

9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 8va. Edición. México: SSA, 2004. pp. 392-400, 1876-1877, 2133-2136.
10. Lindenberg, M.; Kopp, Sabine "*Classification of orally administered drugs on de WHO model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system" En*: European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 58 (2004)256-278.
11. *"Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata"* disponible en http://www.fda.gov/cder/audiences/iact/1713bp1.htm consultada el 23 de junio 2006.
12. Guiadance for industry "*Waiver of in vitro bioavaility and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification systems"* USA: FDA ; CDER, 2000.
13. Guiadance for industry "*Text on validation of analytical procedures"* ICH Q2A Marzo, 1995.
14. Guía de validación de métodos analíticos. México: CNQFB, 2002.
15. Luch, James; *Metoprolol tartrate*. *En:* Florey, Analitical profiles of drug substances. Vol.12 EUA: American Pharmaceutical Association, 1983. pp 325-353.
16. "Metoprolol" consultado en Http://www.micromedex.com el 18 de junio del 2006.

17. "Metoprolol tartrate" consultado en http://www.rxlist.com/cgi/generic/metopro_cp.htm el 26 de junio 2006.
18. Fux, Richard; Mörike, Klaus; [et. al.] "*Impact of the ultrarapid metabolizer genotype of citochrome P450 2D6 on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics*". En: Clinical pharmacology & therapeutics 2004;76(4):302- 312
19. Liu, Yi; Qian-Liu, Zhao; [et. al.] *" β1 – Adrenergic receptor polymorphisms influence the response to metoprolol monotherapy in patients with essential hipertension*" *En:* Clinical pharmacology & therapeutics 2006; ;79(6)
20. *Relacion de compuestos innovadores y/o productos de referencia.* Mexico: COFEPRIS : SSA, 2005.
21. Miranda, Javier. Evaluación de la incertidumbre en datos experimentales. México: UNAM, 2001. pp 12-13.
22. Polli J; Shan, *V " Methods to compare dissolution profiles"* Drug Information Journal 30 (1996) 1113-1120.
23. Lin, H.; Liaw, S. *" On the assessment of similitary of drug dissolution profiles – a simulation study" En:* Drug Information Journal 31 (1997) 1273-1289.