



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN DE
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS CONTENIENDO
METRONIDAZOL**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FÁRMACO BIÓLOGO**

PRESENTA:

XIUHTIC SARASUADI BECERRIL NAVARRO



México D.F.

2008



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.

Jurado asignado

Presidente: Alfredo Garzón Serra

Vocal: Inés Fuentes Noriega

Secretario: María de Lourdes Mayet Cruz

Primer suplente: Luis Jesús García Aguirre

Segundo Suplente: Lauro Misael del Rivero Ramírez

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Biofarmacia
Departamento de Farmacia
Edificio E
Facultad de Química
UNAM

Asesor: Inés Fuentes Noriega

Supervisor Técnico: Sofía Margarita Rodríguez Alvarado

Sustentante: Xiuhtic Sarasuadi Becerril Navarro

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Inés Fuentes y a la M. en C. Margarita Rodríguez por su orientación y apoyo.

A la Facultad de Química y a su proyecto PAIP 6390-05.

Al programa PAPIME PE205805.

A mi familia

A mis profesores

A mis amigos

A mi Universidad

GRACIAS

*Todo está en todo,
Todo es realmente cada cosa.*

A. Huxley

Índice de temas

1. Introducción	1
2. Generalidades	2
2.1. Factores que afectan la absorción de un fármaco.	2
2.2. Factores que afectan la velocidad de disolución.	2
2.3. Prueba de disolución.	3
2.4. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS).	4
2.5. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998.	6
2.6. Monografía del Metronidazol.	7
2.6.1. Propiedades Farmacológicas.	7
2.6.2. Farmacocinética.	8
2.6.3. Toxicidad.	9
2.7. Planteamiento del problema	9
3. Parte experimental.	11
3.1. Materiales.	11
3.1.1. Reactivos.	11
3.1.2. Equipo e instrumentos.	11
3.1.3. Medicamentos estudiados.	12
3.1.4. Preparación de soluciones.	12
3.2. Métodos.	13
3.2.1. Pruebas de control de calidad.	13
3.2.1.1. Identidad.	13
3.2.1.2. Uniformidad de dosis.	14
3.2.1.3. Valoración.	14
3.2.2. Validación del sistema.	15
3.2.2.1. Linealidad.	15
3.2.2.2. Precisión.	16
3.2.3. Validación del método.	16
3.2.3.1. Linealidad.	16
3.2.3.2. Precisión.	17
3.2.3.3. Exactitud.	17
3.2.3.4. Estabilidad del Metronidazol.	17
3.2.3.5. Influencia del Filtro.	17

3.2.3.6. Diluciones.	18
3.2.4. Perfiles de disolución.	18
3.2.4.1. Condiciones experimentales.	18
3.2.4.2. Método analítico.	19
4. Resultados y discusión.	20
4.1. Control de Calidad.	20
4.1.1. Identidad.	20
4.1.2. Uniformidad de dosis.	20
4.1.3. Valoración.	22
4.2. Validación del sistema.	24
4.2.1. Linealidad.	24
4.2.2. Precisión.	25
4.3. Validación del método.	26
4.3.1. Linealidad.	26
4.3.2. Precisión.	29
4.3.2.1. Repetibilidad.	29
4.3.2.2. Reproducibilidad.	30
4.3.3. Exactitud.	32
4.3.4. Estabilidad del Metronidazol.	34
4.3.5. Influencia del filtro.	35
4.3.6. Diluciones.	36
4.4. Perfiles de disolución.	37
5. Conclusiones.	39
6. Anexo.	40
7. Bibliografía.	43

Índice de Tablas

Tabla 1. Medicamentos estudiados.	12
Tabla 2. Preparación de la curva patrón para linealidad del sistema.	15
Tabla 3. Preparación de la curva patrón para linealidad del método.	16
Tabla 4. Preparación de la curva patrón para la cuantificación de Metronidazol.	19
Tabla 5. Longitudes de onda máximas y mínimas en los espectros UV de los productos.	20
Tabla 6. Uniformidad de dosis del producto Innovador.	21
Tabla 7. Uniformidad de dosis del producto Genérico Intercambiable.	21
Tabla 8. Uniformidad de dosis del producto Genérico.	22
Tabla 9. Resultados de la valoración.	23
Tabla 10. Linealidad del sistema en solución de HCl 0.1 N.	25
Tabla 11. Precisión del sistema en solución de HCl 0.1 N.	26
Tabla 12. Linealidad del método producto Innovador.	27
Tabla 13. Linealidad del método producto Genérico Intercambiable.	28
Tabla 14. Linealidad del método producto Genérico.	29
Tabla 15. Repetibilidad del método producto Innovador.	29
Tabla 16. Repetibilidad del método producto Genérico Intercambiable.	30
Tabla 17. Repetibilidad del método producto Genérico.	30
Tabla 18. Reproducibilidad del método producto Innovador.	31
Tabla 19. Reproducibilidad del método producto Genérico Intercambiable.	31
Tabla 20. Reproducibilidad del método producto Genérico.	32
Tabla 21. Exactitud del método producto Innovador.	33
Tabla 22. Exactitud del método producto Genérico Intercambiable.	33
Tabla 23. Exactitud del método producto Genérico.	33
Tabla 24. Estabilidad del Metronidazol producto Innovador.	34
Tabla 25. Estabilidad del Metronidazol producto Genérico Intercambiable.	34
Tabla 26. Estabilidad del Metronidazol producto Genérico.	35
Tabla 27. Influencia del filtro de teflón.	35
Tabla 28. Influencia del filtro de membrana.	36
Tabla 29. Diluciones 1/10 de la solución 70 µg/mL.	36
Tabla 30. Diluciones 0.5/10 de la solución 400 µg/mL.	36
Tabla 31. Porcentaje disuelto producto Innovador.	37

Tabla 32. Porcentaje disuelto producto Genérico Intercambiable.	37
Tabla 33. Porcentaje disuelto producto Genérico.	38
Tabla 34. Comparación de los productos de prueba con el producto Innovador. mediante el factor de similitud (f_2).	38

Índice de Figuras

Figura 1. Formula estructural del Metronidazol.	7
Figura 2. Dispositivo desgasificador.	12
Figura 3. Cromatograma de la referencia.	23
Figura 4. Cromatograma del producto Innovador.	23
Figura 5. Cromatograma del producto Genérico Intercambiable.	24
Figura 6. Cromatograma del producto Genérico.	24
Figura 7. Linealidad del sistema en solución de HCl 0.1 N.	25
Figura 8. Linealidad del método producto Innovador.	26
Figura 9. Linealidad del método producto Genérico Intercambiable.	27
Figura 10. Linealidad del método producto Genérico.	28
Figura 11. Perfiles de disolución de los productos.	38

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la prueba de disolución se ha convertido en una herramienta útil para evaluar productos farmacéuticos de administración oral. Esta prueba, que inicialmente se empleó como control de calidad, actualmente es utilizada para establecer la equivalencia de algunos productos farmacéuticos de administración oral.¹

En ciertos casos la comparación del perfil de disolución de un producto genérico con el perfil de un producto de referencia es adecuada para establecer la bioequivalencia o justificar una bioexención.

La experiencia ha demostrado que cuando se ha encontrado diferencia clínica significativa entre productos supuestamente idénticos, un perfil de disolución puede ser capaz de distinguirlos. Sin embargo también, se ha observado que las pruebas de disolución pueden ser discriminantes, es decir, productos clínicamente aceptables pueden no cumplir con los criterios de una prueba de disolución³.

En el presente trabajo se evaluaron las características de disolución de tres productos de tabletas de Metronidazol (Innovador, Genérico y Genérico Intercambiable) y se compararon sus perfiles de disolución mediante el factor de similitud (f_2). Adicionalmente, se realizaron las pruebas de identidad, uniformidad de dosis y valoración de acuerdo con la monografía de la FEUM 8ª ed, y se validó el método analítico para la cuantificación del fármaco con aplicación en perfiles de disolución.

Se encontró que los tres productos cumplen con los requisitos de la pruebas de control de calidad de la FEUM 8ª ed. Con base en las especificaciones de la NOM-177-SSA-1998, se comprobó que el método analítico es lineal, preciso y exacto, y que el tipo de filtro empleado no interfiere con la prueba.

La comparación de los perfiles de disolución, demostró que los perfiles del medicamento Innovador y Genérico son semejantes, mientras que el perfil del medicamento genérico Intercambiable es significativamente diferente al del Innovador, lo que sugiere que estos dos productos podrían no tienen el mismo comportamiento *in vivo*.

2. GENERALIDADES

Para que se presente una respuesta farmacológica, un medicamento que sea administrado por cualquier vía deberá liberar su principio activo (excepto soluciones), el cual tendrá que ser absorbido y transportado al tejido u órgano blanco. La liberación del fármaco es la salida del mismo de la forma farmacéutica y su disolución; estos procesos, que se efectúan bajo la influencia del medio biológico y de las condiciones mecánicas del sitio de administración, pueden cambiar la velocidad de absorción, la cantidad de fármaco absorbido y, en consecuencia, la bioisponibilidad.²

Con el fin de que el fármaco sea absorbido, es necesario que se encuentre en solución en el sitio de absorción, por esto la solubilidad es una de las características más relevantes de un medicamento de administración oral.

2.1. Factores que afectan la absorción del fármaco

La absorción es el paso del fármaco a través de diversas membranas desde su sitio de administración hasta la circulación sistémica; básicamente depende de los siguientes factores:

- Físicoquímicos: polimorfismo, pKa, liposolubilidad, forma y tamaño de la molécula, estabilidad, distribución de carga, entre otros.
- Biológicos: viscosidad y pH del medio, permeabilidad de la membrana, superficie de absorción, presencia de alimentos en el tracto gastrointestinal, trastornos fisiológicos, etc.

2.2. Factores que afectan la velocidad de disolución

La disolución es el proceso por el cual una sustancia sólida interactúa con un disolvente para producir una solución³. La velocidad a la que se efectúa dicho proceso puede ser modificada por:

a) Factores relacionados con las propiedades físicoquímicas del fármaco.

- Solubilidad: la solubilidad acuosa del principio activo determina la velocidad de disolución.

- Tamaño de partícula: la velocidad de disolución se favorece con el aumento en el área superficial expuesta al medio, lo que se logra con la reducción del tamaño de la partícula.
 - Estado cristalino: se ha observado que las características del activo en fase sólida como la cristalinidad, el grado de hidratación, la estructura polimórfica, el estado de hidratación etc, tienen influencia significativa⁴.
 - Estado químico: es posible alterar la solubilidad de un compuesto mediante la formación de sales ya que en general las sales orgánicas son más solubles en agua que su correspondiente molécula no ionizada. En el caso de moléculas que carecen de grupos ionizables, la forma química y en consecuencia la solubilidad, pueden ser modificadas adicionando una molécula orgánica con un grupo funcional reactivo.¹⁸
- b) Factores relacionados con la forma farmacéutica.
- Método de fabricación: los diferentes métodos de manufactura (compresión directa, granulación vía seca y granulación vía húmeda) influyen sobre la dureza y la porosidad de las tabletas.
 - Fuerza de compresión: a medida que la fuerza de compresión aumenta, la superficie de contacto entre las partículas es mayor, lo cual provoca que la porosidad de la tableta sea baja. Dado que los poros son una vía de entrada del agua hacia el interior del comprimido, la disminución de la porosidad implica una reducción en la velocidad de disgregación y, por consiguiente, en la velocidad de disolución del principio activo.²
 - Formulación: Los excipientes necesarios para elaborar tabletas pueden tener un papel fundamental sobre la velocidad de disolución y la biodisponibilidad de un fármaco. Esta influencia es mayor cuando la dosis del principio activo contenida en el medicamento es baja y su absorción es pobre². Los excipientes que pueden afectar la velocidad de disolución son diluyentes, aglutinantes, desintegrantes y lubricantes.

2.3. Prueba de disolución

Debido a la estrecha relación entre la velocidad de disolución y la biodisponibilidad de ciertos productos, en las últimas décadas la prueba se ha convertido en una herramienta valiosa.

En algunos casos, la prueba se emplea para identificar problemas de biodisponibilidad relacionados con escalamiento o cambios después de la aprobación y para determinar si son necesarios estudios de bioequivalencia.

Se ha empleado para guiar el desarrollo de nuevas formulaciones, monitorear el proceso de manufactura, predecir el comportamiento *in vivo* de medicamentos sólidos de administración oral y asegurar la calidad; cuando se utiliza con este objetivo, la prueba de disolución es la base para establecer especificaciones que permitan la liberación del producto al mercado, verificar algunas características físicas como distribución del tamaño de partícula, forma cristalina, etc. Para productos de liberación inmediata, la prueba de disolución es, comúnmente, de un solo punto, sin embargo, se ha sugerido una prueba de dos puntos o un perfil de disolución para caracterizar la forma farmacéutica³.

Bajo ciertas condiciones, la prueba de disolución puede ser un sustituto de la bioequivalencia y puede justificar una bioexención.

Para que sea útil, una prueba debe ser simple, económica, confiable, reproducible y debe ser capaz de discriminar diferentes formulaciones y comportamientos *in vivo*.³

Los parámetros que pueden afectar la velocidad de disolución en una prueba son:

- Agitación: la forma y diseño del agitador, tipo y velocidad de agitación.
- Temperatura: puesto que la solubilidad depende de la temperatura, su control cuidadoso es esencial y debe mantenerse dentro de un rango determinado.
- Equipo de disolución: tipo de aparato, vibración, calibración del equipo.
- Medio de disolución: volumen, composición, pH, temperatura, gas disuelto, presencia de enzimas o tensoactivos, viscosidad.

2.4. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS)

La disolución del fármaco contenido en una forma farmacéutica depende considerablemente de la solubilidad intrínseca del principio activo; asimismo, la absorción en el tracto gastrointestinal depende de la permeabilidad del fármaco. Por otra parte, la velocidad de disolución está ligada a las características biofarmacéuticas de la formulación, mientras que la absorción

puede ser afectada por la presencia de ciertos excipientes que modifiquen el tránsito intestinal o la permeabilidad de la membrana.⁵

De acuerdo con los principios de solubilidad, permeabilidad y velocidad de disolución, el sistema de clasificación biofarmacéutico (BCS) puede ser usado para establecer las especificaciones de las pruebas de disolución y predecir el comportamiento *in vivo* de un fármaco.¹

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico considera factores fisiológicos del tracto gastrointestinal como pH, volumen del fluido gástrico, tiempo de tránsito intestinal vaciamiento gástrico, y permeabilidad; agrupa los fármacos en:

Clase I: Alta solubilidad- Alta permeabilidad

Clase II: Baja solubilidad- Alta permeabilidad

Clase III: Alta solubilidad - Baja permeabilidad

Clase IV: Baja solubilidad - Baja permeabilidad

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, un fármaco es de alta solubilidad cuando la relación entre la dosis más alta y la solubilidad es menor a 250 mL a 37° C en un rango de pH de 1.2 a 6.8. Asimismo, un principio activo es de alta permeabilidad cuando se absorbe el 85 % o más.⁶

Con base en la velocidad de disolución del fármaco, las formas farmacéuticas pueden ser consideradas de muy rápida y rápida disolución.

Un producto farmacéutico se considera de muy rápida disolución cuando no menos del 85 % de la cantidad de principio activo indicada en el marbete se disuelve en 15 minutos o menos en el aparato I a 100 r.p.m. o en el aparato II a 75 r.p.m. en un volumen de no más de 900 mL de cada uno de los siguientes medios: solución de HCl pH 1.2, solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

Si no menos del 85 % del fármaco se disuelve en 30 minutos en las condiciones ya mencionadas, se considera de rápida disolución.¹

Actualmente se ha establecido que los productos de liberación inmediata incluidos en la clase I del BCS y que son de rápida disolución pueden ser considerados para la exención de una prueba de biodisponibilidad *in vivo*.⁶

Cabe mencionar que aunque la Relación de Especialidades Farmacéuticas Susceptibles de Incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos⁷ establece que para demostrar la intercambiabilidad del Metronidazol se

requiere un estudio de bioequivalencia, el fármaco pertenece a la clase I del BCS.^{6,8}

2.5. 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.

El propósito de la Norma es establecer los criterios y requisitos que deben cumplir las pruebas para demostrar la intercambiabilidad de los medicamentos genéricos. Para la determinación de los perfiles de disolución, en el apartado 7 recomienda:

- Realizar los perfiles de disolución con 12 unidades, tanto del medicamento de prueba como del de referencia, en las mismas condiciones experimentales.
- Para cada perfil de disolución, seleccionar por lo menos cinco tiempos de muestreo (excepto el tiempo cero) que permitan caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta. Únicamente dos puntos estarán en la meseta de la curva y los otros tres distribuidos entre la fase ascendente y de inflexión. Cuando el 85% del fármaco se disuelve en un tiempo menor o igual a 15 minutos, no es necesario caracterizar la curva ascendente, pero los tiempos de muestreo deben estar suficientemente espaciados a lo largo del perfil de disolución.
- El volumen extraído puede o no reemplazarse. Cuando no se reemplace el volumen, no se debe extraer más del 10% del medio de disolución. En cualquier caso, para el cálculo de porcentaje disuelto se debe considerar el volumen de la alícuota y la cantidad extraída en cada muestreo.
- El porcentaje disuelto debe calcularse con respecto a la dosis nominal del fármaco.
- Graficar los porcentajes disueltos promedio y los de cada unidad de dosificación contra el tiempo.
- 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:

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

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.

- Un factor de similitud entre 50 y 100 indica perfiles de disolución similares.

2.6. Monografía del Metronidazol¹⁰

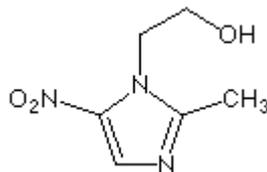


Figura 1. Fórmula estructural del Metronidazol.

Nombre químico (IUPAC): 2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol.

Fórmula condensada: C₆H₉N₃O₃

Peso molecular: 171.16

Punto de fusión: 158-160 °C

Solubilidad a 20°C (g/100 mL): agua 1.0; etanol 0.5; éter < 0.05; cloroformo < 0.05.

Descripción: cristales color amarillo claro o blanco.

2.6.1. Propiedades farmacológicas¹¹

El Metronidazol es un fármaco muy versátil y relativamente poco costoso, tiene eficacia clínica contra una amplia variedad de protozoarios anaeróbios y

bacterias microaerofilas y anaerobias. Se utiliza en el tratamiento de infecciones por *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Campylobacter*, entre otras.

Es efectivo en el tratamiento de infecciones por *T. vaginalis* en el 90 % de los casos, se emplea también en el tratamiento de tricomoniasis y amebiasis. El fármaco se ha usado en combinación con otros antibióticos para prevenir infecciones postoperatorias. Asimismo se emplea en conjunto con un inhibidor de la bomba de hidrógeno en el tratamiento de infecciones por *Helicobacter pylori*, una de las causas de úlcera gástrica y gastritis, aunque se ha observado que *Helicobacter* desarrolla rápidamente resistencia al fármaco.

Estudios *in vitro* en protozoarios resistentes y sensibles al fármaco, indican que el grupo nitro en la posición 5 es fundamental para la actividad. El Metronidazol es un profármaco que requiere la activación reductiva del grupo nitro. Los organismos susceptibles tienen componentes transportadores de electrones, la transferencia de estos forma un radical nitro altamente reactivo capaz de interactuar con moléculas de ADN y posiblemente con otras biomoléculas esenciales.

2.6.2. Farmacocinética

Después de la administración oral, el Metronidazol generalmente se absorbe por completo, alcanza concentraciones plasmáticas de 8 a 13 µg/mL dentro de los 15 minutos a 4 horas (después de una dosis de 500 mg). Para la mayoría de los protozoarios y bacterias susceptibles, la concentración plasmática efectiva es de 8 µg/mL aproximadamente.

El tiempo de vida media del fármaco es de alrededor de 8 horas, su volumen de distribución es semejante al volumen total de agua en el cuerpo. Menos del 20 % del fármaco se une a proteínas plasmáticas. Con excepción de la placenta, el Metronidazol penetra en los tejidos y fluidos incluyendo secreciones vaginales, seminales, saliva y leche materna.

Más del 50 % del fármaco se metaboliza en el hígado y después de una dosis oral, al menos el 75 % del fármaco se elimina por vía renal.

2.6.3. Toxicidad

Los efectos secundarios raramente son de tal intensidad que se requiera la suspensión de la administración, los más comunes son dolor de cabeza, náusea, sequedad de la boca y sabor metálico, ocasionalmente se presentan diarrea, vómito y dolor abdominal. Urticaria, prurito y enrojecimiento son signos de alergia que requieren la suspensión del tratamiento.

En pacientes con enfermedades del sistema nervioso central, el Metronidazol debe emplearse cuidadosamente ya que puede causar neurotoxicidad.

Los niveles plasmáticos de Metronidazol pueden elevarse si se administra con fármacos que inhiban el metabolismo microsomal hepático tales como la Cimetidina, por otro lado, los barbitúricos disminuyen el efecto terapéutico del fármaco.²¹

Se ha observado que el fármaco es carcinogénico en roedores si se administra en dosis altas durante largos periodos de tiempo, además, se ha encontrado que es mutagénico en bacterias. Sin embargo no hay evidencia que sugiera que, en dosis terapéuticas, el Metronidazol tiene riesgo significativo de producir cáncer en pacientes.

2.7. Planteamiento del problema

El Metronidazol está indicado en el tratamiento de amibiasis intra y extraintestinal, ésta y otras enfermedades gastrointestinales, las cuales son más frecuentemente reportadas en las zonas donde se sabe que las condiciones de vida son precarias, representan la tercera causa de morbilidad en el país.¹⁹ Es importante señalar que en México, cerca del sesenta por ciento de la población no está asegurada¹⁹ y casi el veinte por ciento tiene ingresos que son insuficientes para cubrir las necesidades alimentarias básicas;²⁰ por ello es necesario que los medicamentos a los que la población puede tener acceso sean de calidad.

En el 2002, el Consejo de Salubridad General acordó que las instituciones públicas del Sistema Nacional de Salud deberían adquirir medicamentos Genéricos Intercambiables,¹⁶ con el objeto de asegurar a la población las mejores condiciones en cuanto a pureza, estabilidad, seguridad, efectividad, confiabilidad y precio.

En estudios previos¹⁷ se han encontrado diferencias entre los perfiles de disolución de algunos productos Genéricos Intercambiables de Metronidazol en relación al perfil del medicamento Innovador por lo que se decidió realizar el presente estudio, para lo que se validó el método analítico para la cuantificación de Metronidazol con aplicación en perfiles de disolución y se evaluaron las características de disolución de tres productos de tabletas de Metronidazol (Innovador, Genérico y Genérico Intercambiable) comparando sus perfiles de disolución.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiales

3.1.1. Reactivos

Nombre	Marca
Agua destilada	Millipore
Agua desionizada	Millipore
HCl	J.T. Baker
Metanol HPLC	Tecnolab
Estándar de referencia secundario de Metronidazol 99.73 % BH, lote: 26580, fecha de expiración: 12/10/2008	Sanofi Aventis

3.1.2. Equipo e instrumentos

Cromatógrafo Shimadzu con bomba LC-10ADVP, detector SPD-10AVP, automuestreador SIL-10A, controlador SCL-10AVP y programa Shimadzu Class VP Versión 5.03

Columna C8 150 x 4.6 mm ACE

Ultrasonido FS60, Fisher Scientific

Dosificador con capacidad de 25 mL, calibrado, protocolo no. 306, fecha de calibración 2007/10/08, Brand

Disolutor USP TDL-08L, Pharma Alliance Group

Espectrofotómetro Helios γ , Thermo Electron Corporation

Espectrofotómetro UV-1601, Shimadzu

Balanza analítica, Sartorius

Desionizador, Milli Q

Termómetro -1°C – 51°C divisiones 0.1 °C, Brand

Pipeta automática 100-1000 μ L calibrada, protocolo no.132, fecha de calibración 2007/ 05/03, Eppendorf.

Pipeta automática 500-5000 μ L, Eppendorf.

Filtros de membrana de 0.45 μ m, lote R4SN24288, Millipore.

Filtros de teflón de 0.35 μ m, lote 21024A, Varian.

3.1.3. Medicamentos estudiados

Nombre Comercial	Denominación	Lote	Laboratorio
Flagyl	Innovador ¹³ (In)	B7B801	Sanofi Aventis
Avidal 500	Genérico Intercambiable (GI) ¹⁴	610138	Bruluart
Messeldazol	Genérico (G)	1007582	Best

Tabla 1. Medicamentos estudiados.

3.1.4. Preparación de soluciones

Solución de HCl 0.1 N. Se colocaron 200 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L, se adicionaron 8.5 mL de HCl y se llevó a volumen con agua destilada.¹²

Medio de disolución, solución de HCl 0.1 N. Se colocaron 200 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L, se adicionaron 8.5 mL de HCl y se llevó a volumen con agua destilada. Para desgasificar el medio de disolución se utilizó un dispositivo que consta de dos garrafones de vidrio, dos mangueras y dos tapones de hule (figura 2). Después de colocar le medio de disolución en uno de los contenedores (B), ambos garrafones se sellaron con los tapones y se conectaron las mangueras como se muestra en la figura 2. Se abrió la llave de vacío y se dejó pasar todo el medio de disolución del garrafón B al A, al término, se cerró la llave y se invirtieron las conexiones de las mangueras. El proceso se repitió tres veces.

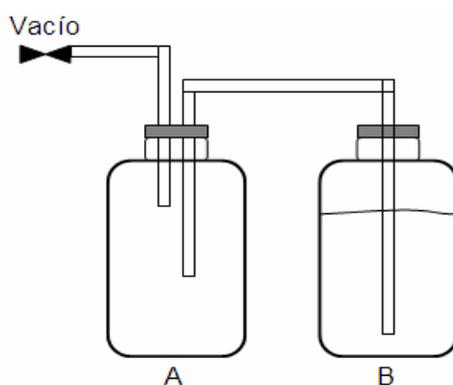


Figura 2. Dispositivo desgasificador.

Fase móvil. Agua: metanol (80:20). Se mezclaron 160 mL de agua desionizada con 40 mL de metanol HPLC filtrado. La fase se desgasificó durante 20 minutos en el ultrasonido.

3.2. Métodos

3.2.1. Pruebas de control de calidad

Las pruebas de identidad, uniformidad de dosis y valoración están basadas en los métodos descritos en la FEUM 8ª ed, pero debido a la disponibilidad de algunos materiales y reactivos, fue necesario hacer algunas modificaciones.

El uso de un dosificador en la adición de volúmenes para preparar algunas soluciones y diluciones, se debe a que se obtuvieron coeficientes de variación más bajos en comparación con los datos obtenidos con material volumétrico.

3.2.1.1. Identidad

Se pesó una cantidad de estándar de referencia equivalente a 10 mg de Metronidazol, se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N. De ésta solución se tomaron 0.8 mL, se colocaron en un tubo de ensaye, se añadieron 10 mL de solución de HCl 0.1 N con un dosificador y se homogeneizó.

De cada producto se pesaron individualmente 10 tabletas, se calculó el peso promedio y la desviación estándar y se trituraron hasta polvo fino.

Se pesó una cantidad equivalente a 10 mg de Metronidazol, se pasó a un matraz volumétrico de 50 mL, se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N y se filtró con papel Whatman #42 desechando los primeros 5 mL. De la solución se tomaron 0.8 mL, se transfirieron a un tubo de ensaye y se añadieron 10 mL de solución de HCl 0.1 N. Este procedimiento se realizó con los tres productos estudiados.

Se determinó el espectro UV de las muestras de los productos y de la referencia a 278 nm, se emplearon celdas de cuarzo de 1 cm y solución de HCl 0.1 N como blanco de ajuste.

3.2.1.2.Uniformidad de dosis

Puesto que la cantidad de fármaco en el medicamento es de más de 50 mg y constituye más del 50 por ciento de la masa total de la tableta, se empleó el método de variación de masa.

Se pesaron exacta e individualmente 10 tabletas de cada producto. Empleando el resultado de la valoración del principio activo se calculó el contenido de fármaco en cada una de las 10 tabletas de los tres productos.

Los requisitos para uniformidad de dosis se cumplen cuando la cantidad de fármaco en cada una de las 10 unidades está dentro del intervalo de 85.0 por ciento al 115.0 por ciento de la cantidad declarada en el marbete y si la desviación estándar relativa es menor o igual que 6.0 por ciento.¹²

3.2.1.3.Valoración

Preparación de la solución de referencia

Se pesaron 10.3 mg de estándar de referencia de Metronidazol, se transfirieron a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con fase móvil. De la solución anterior se tomó una alícuota de 0.125 mL, se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con fase móvil. Esta solución contenía aproximadamente 0.5 µg/mL.

Preparación de las muestras.

Por cada producto, se colocaron 5 tabletas en un matraz volumétrico de 250 mL, se adicionaron aproximadamente 100 mL de metanol, se agitó mecánicamente durante 30 minutos y se llevó a volumen con metanol. Se dejó sedimentar la mezcla, se tomó una alícuota de 2.5 mL del sobrenadante, se llevó a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con fase móvil. Las preparaciones de las muestras contenían aproximadamente 500 µg/mL.

Condiciones del equipo¹²

Detector de luz UV a una longitud de onda de 254 nm.

Columna de 4.6 nm x 15 cm empacada con L7

Velocidad de flujo 1.0 mL/min

Procedimiento.¹² Se inyectó al cromatógrafo cinco veces y por separado volúmenes de 10 µL de solución 0.5 µg/mL de referencia de Metronidazol. Se

determinó el factor de coeio y la desviación estándar relativa del área, los cuales, no deben ser mayores que 2.0 por ciento.

Se inyectaron 10 µL de la solución de referencia 0.5 µg/mL y 10 µL de la preparación de la muestra de cada producto. Se obtuvieron los cromatogramas y se determinó el área bajo los picos. La cantidad de Metronidazol se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Cantidad de Metronidazol} = DC(A_m/A_r)/ 5$$

donde:

D = Factor de dilución de la muestra (5000 mL).

C = Cantidad de Metronidazol por mililitro en la preparación de la referencia.

A_m= Área bajo el pico en el cromatograma de la preparación de la muestra.

A_r= Área bajo el pico en el cromatograma de la solución de referencia.

Criterio de aceptación: contiene no menos del 90.0 por ciento y no más de 110.0 por ciento de la cantidad indicada en el marbete.¹²

3.2.2. Validación del Sistema

3.2.2.1. Linealidad

Se pesaron 10 mg de estándar de referencia de Metronidazol, se llevaron a un matraz de 50 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N, la solución contenía 200 µg/mL. De esta solución se preparó la curva patrón por duplicado. Se tomaron alícuotas de la solución anterior y, con un dosificador, se adicionaron los volúmenes de solución de HCl 0.1 N indicados en la siguiente tabla:

Volumen de la alícuota (mL)	HCl 0.1 N adicionado (mL)	Concentración aproximada (µg/mL)
0.250	25.0	2
0.200	10.0	4
0.800	10.0	16
1.200	10.0	22
2.500	10.0	40

Tabla 2. Preparación de la curva patrón para linealidad del sistema.

Se determinó la absorbancia de las soluciones a 278 nm. Si el sistema es lineal, el coeficiente de regresión es mayor o igual que 0.99 y el error relativo debido a la regresión no es mayor al 2 por ciento.⁹

3.2.2.2. Precisión

La precisión se demuestra si el coeficiente de variación del factor de respuesta de los datos de linealidad no es mayor al 2 por ciento.⁹

3.2.3. Validación del Método

3.2.3.1. Linealidad

Se pesaron individualmente 10 tabletas de cada producto, se determinó el peso promedio y la desviación estándar y se pulverizaron.

Se pesó una cantidad equivalente a 10 mg de Metronidazol, se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N, la solución contenía 200 µg/mL. De ésta solución se preparó la curva patrón por triplicado de acuerdo a la siguiente tabla:

Volumen de la alícuota (mL)	HCl 0.1 N adicionado (mL)	Concentración aproximada (µg/mL)
0.250	25.0	2
0.200	10.0	4
0.800	10.0	16
1.200	10.0	22
2.500	10.0	40

Tabla 3. Preparación de la curva patrón para linealidad del método.

La linealidad se demuestra con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 3 por ciento.⁹

3.2.3.2. Precisión

Se demostró mediante la repetibilidad y la reproducibilidad del método. El método es repetible si el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no es mayor que al 3 por ciento.⁹

Para evaluar la reproducibilidad se prepararon tres curvas de calibración en diferentes días y se determinó su absorbancia a 278 nm. Cuando el método es reproducible el coeficiente de variación global del porcentaje de recuperación no es mayor al 3 por ciento.⁹

3.2.3.3. Exactitud

Se determinó el promedio del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad, el cual no debe variar en relación con la cantidad nominal en más del 3 por ciento.⁹

3.2.3.4. Estabilidad del Metronidazol

Se prepararon 100 mL de una solución de 15 µg/mL para lo cual se tomó una alícuota de 7.5 mL de la solución de 200 µg/mL preparada en la linealidad del método, se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N. La solución contenía 15 µg/mL.

De esta solución se tomaron tres alícuotas de 5 mL cada una y se determinó su absorbancia a 278 nm, a estas muestras les corresponde el tiempo cero. El volumen restante de la solución se colocó en un baño a 37 ± 0.5 °C, se tomaron 3 muestras de 5 mL a los 30, 60 y 90 minutos y se determinó su absorbancia a 278 nm.

La muestra se considera estable si la respuesta no varía con respecto a la respuesta de la muestra al tiempo cero en más del 3 por ciento.¹⁵

3.2.3.5. Influencia del filtro

De la solución de 200 µg/mL preparada en la linealidad del método se tomaron 7.5 mL, en un matraz volumétrico se llevaron a 100 mL con solución de HCl 0.1 N, la solución contenía 15 µg/mL. Se tomó una muestra de 6 mL y se determinó su absorbancia a 278 nm. Se tomaron otras 12 muestras de 6 mL cada una,

seis de las cuales se filtraron consecutivamente a través de un filtro de membrana de 0.45 μm .

Las seis muestras restantes, se filtraron consecutivamente a través de un filtro de teflón de 35 μm . Las absorbancias de las muestras filtradas se determinaron a 278 nm.

Las absorbancias de las muestras filtradas no deben variar con respecto a la absorbancia de la muestra sin filtrar en más del 2 por ciento.¹⁵

3.2.3.6. Diluciones

Para determinar la absorbancia de las muestras de disolución, fue necesario hacer diluciones de las mismas; con el fin de que esto no tuviera algún efecto sobre la exactitud y la precisión del método para la cuantificación del fármaco, se requirió que las diluciones se realizaran consistentemente. Con el propósito de verificar lo anterior, se preparó una solución con 400 $\mu\text{g/mL}$ para lo que se pesó una cantidad de estándar equivalente a 10 mg de Metronidazol, se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N, de ésta solución se tomó una alícuota 4.375 mL y se llevó a 25 mL con solución de HCl 0.1 N, la solución contenía 70 $\mu\text{g/mL}$. A partir de la solución anterior se realizaron seis diluciones 1/10 y se determinó su absorbancia a 278 nm. De la solución de 400 $\mu\text{g/mL}$ se hicieron seis diluciones 0.5/10 y se determinó su absorbancia. Las diluciones 1/10 y 0.5/10 se realizaron empleando un dosificador.

3.2.4. Perfiles de disolución

3.2.4.1. Condiciones experimentales

Los perfiles de disolución se determinaron con 12 unidades tanto del producto innovador como de los productos Genérico Intercambiable y Genérico. Las condiciones para evaluar los perfiles fueron las siguientes:

Aparato: 1 (canastillas).

Velocidad de agitación: 100 r.p.m.

Medio de disolución: solución de HCl 0.1 N

Volumen del medio: 900 mL.

Temperatura del medio: 37 ± 0.5 °C.

Tipo de filtro: teflón.

Tiempos de muestreo: 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos.

Volumen de la muestra: 5 mL, sin reposición de medio.

Dilución de la muestra: 0.5:10 mL para el primer tiempo de muestreo, 1:10 mL para los tiempos de muestreo subsecuentes.

Q = 85 % a los 60 min

3.2.4.2. Método analítico

Se pesó una cantidad de referencia equivalente a 10 mg de Metronidazol, se pasó a un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N. De ésta solución con concentración de 200 µg/mL se preparó la curva patrón como se indica en la tabla siguiente. La solución de HCl 0.1 N se adicionó con dosificador.

Volumen de la alícuota (mL)	HCl 0.1 N adicionado (mL)	Concentración aproximada (µg/mL)
0.250	25.0	2
0.200	10.0	4
0.800	10.0	15
1.200	10.0	22
2.500	10.0	40

Tabla 4. Preparación de la curva patrón para la cuantificación de Metronidazol.

Las absorbancias de las soluciones de la curva de calibración se determinaron a 278 nm.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Control de calidad

4.1.1. Identidad

En la tabla 5 se aprecia que existen escasas diferencias entre las longitudes de onda máximas y mínimas de los productos estudiados con respecto a las longitudes de onda de la referencia. Estas divergencias, que pueden ser ocasionadas por la presencia de los excipientes en los medicamentos, no son significativas, por lo que se considera que los espectros UV de los productos Innovador, Genérico Intercambiable y Genérico corresponden con el obtenido con la referencia de Metronidazol.

Producto	Picos		Valle
	λ_{\max}	λ_{\max}	λ_{\min}
Referencia	277.5	205.0	241.5
Innovador	277.5	205.0	241.5
Genérico Intercambiable	277.5	205.0	241.0
Genérico	277.5	205.5	241.5

Tabla 5. Longitudes de onda máximas y mínimas en los espectros UV de los productos.

4.1.2. Uniformidad de dosis

Las tablas 6, 7 y 8 presentan el peso de 10 tabletas de cada uno de los productos, la cantidad de Metronidazol por tableta calculado de acuerdo al resultado de la valoración y el porcentaje de Metronidazol en cada tableta con respecto a lo indicado en el marbete. Los resultados cumplieron con los criterios de aceptación que establece la FEUM 8ª ed ya que el porcentaje de principio activo está dentro del 85 al 115 por ciento de lo indicado en el marbete y la desviación estándar relativa es menor al 6 por ciento.

Peso/ tableta (g)	Cantidad Metronidazol / tableta (mg)	% Metronidazol
0,754	504	100,9
0,7773	520	104,0
0,7533	504	100,8
0,7659	512	102,5
0,7659	512	102,5
0,7614	509	101,9
0,7637	511	102,2
0,7631	510	102,1
0,7715	516	103,2
0,7512	503	100,5
	Promedio	102,0
	DE	1,1
	CV (%)	1,1

Tabla 6. Uniformidad de dosis del producto Innovador.

Peso/ tableta (g)	Cantidad Metronidazol/ tableta (mg)	% Metronidazol
0,6197	502	100,4
0,6169	500	100,0
0,6186	501	100,2
0,6208	503	100,6
0,6087	493	98,6
0,6089	493	98,7
0,6118	496	99,1
0,6086	493	98,6
0,6161	499	99,8
0,6167	500	99,9
	Promedio	99,6
	DE	0,8
	CV (%)	0,8

Tabla 7. Uniformidad de dosis del producto Genérico Intercambiable.

Peso/ tableta (g)	Cantidad Metronidazol/ tableta (mg)	% Metronidazol
0,6876	507	101,5
0,7028	519	103,7
0,6940	512	102,4
0,6978	515	103,0
0,6982	515	103,0
0,6968	514	102,8
0,7060	521	104,2
0,7003	517	103,3
0,7013	517	103,5
0,6953	513	102,6
	Promedio	103,0
	DE	0,8
	CV (%)	0,7

Tabla 8. Uniformidad de dosis del producto Genérico.

4.1.3. Valoración

En la tabla 9 se presentan los tiempos de retención, el área y el factor de coileo de los picos, así como la cantidad de Metronidazol contenida en las tabletas de cada producto. Dado que la diferencia entre los tiempos de retención de la referencia y de las muestras no es significativa, es posible afirmar que el compuesto detectado es el mismo en las cuatro muestras inyectadas (figuras 3, 4, 5 y 6).

La cantidad de Metronidazol que contienen las tabletas está dentro del intervalo aceptable de 90.0 – 110.0 por ciento, además, los porcentajes de los productos Genérico Intercambiable y Genérico no difieren en más del 5 por ciento con respecto al porcentaje del producto Innovador.

Muestra	Tiempo retención (min)	Área	Factor de Coleo	Cantidad de Metronidazol/ tableta (mg)	%
Referencia	4.600	3769	1.1	—	—
In	4.575	3782302	1.2	501.2	100.2
GI	4.592	3733386	1.2	495.3	99.1
G	4.608	3858185	1.2	511.8	102.4

Tabla 9. Resultados de la valoración.

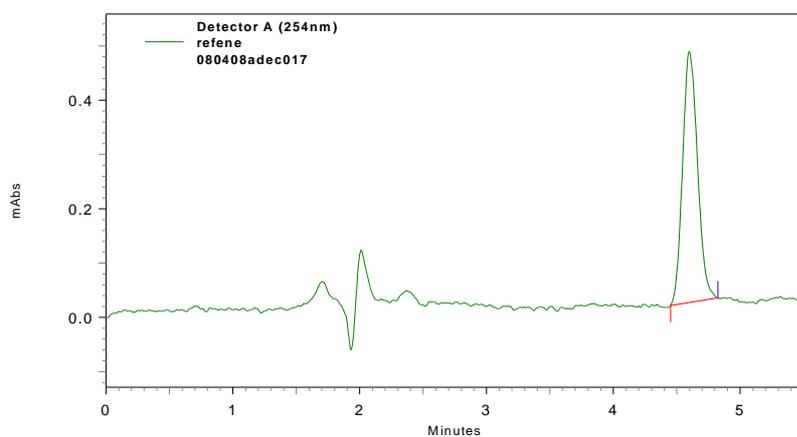


Figura 3. Cromatograma de la referencia (0.5 µg/mL).

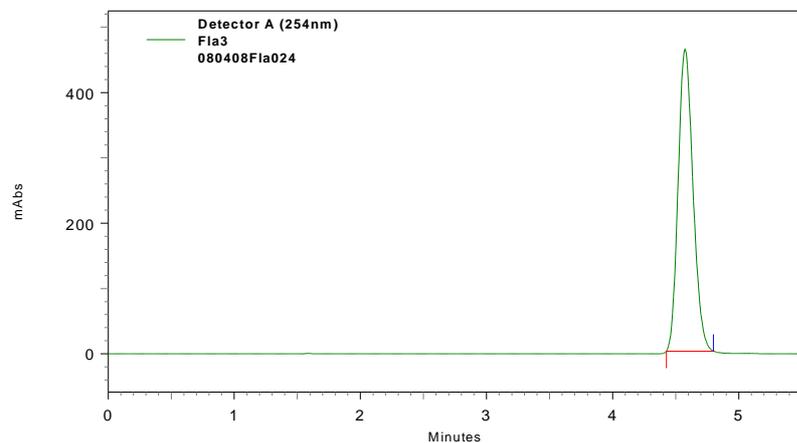


Figura 4. Cromatograma del producto Innovador (500 µg/mL).

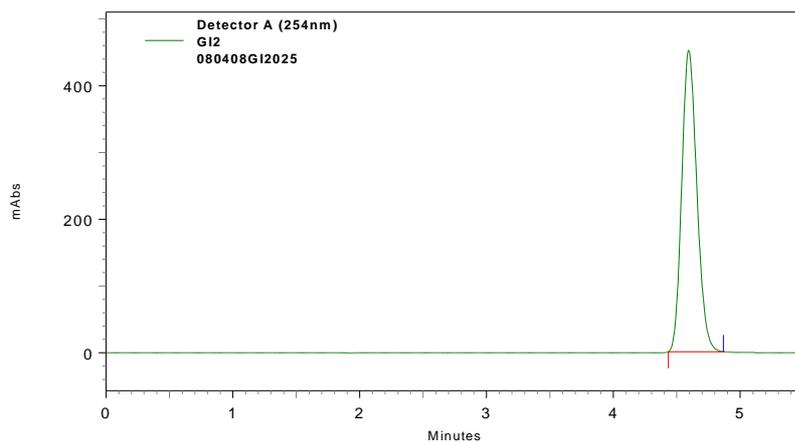


Figura 5. Cromatograma del producto Genérico Intercambiable (500 µg/mL).

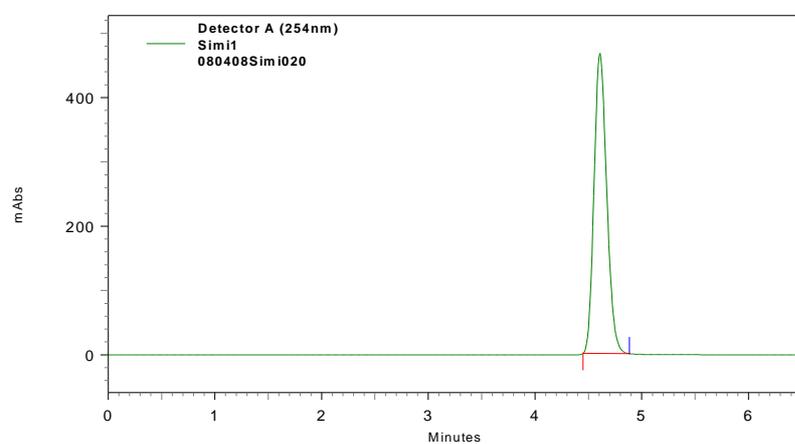


Figura 6. Cromatograma del producto Genérico (500 µg/mL).

4.2. Validación del Sistema

4.2.1. Linealidad

En la figura 7 y en la tabla 10 se puede ver que el error relativo debido a la regresión no es mayor al 2 por ciento, adicionalmente, el coeficiente de regresión es mayor a 0.99 lo que indica que el sistema es lineal, es decir, la absorbancia y la concentración son directamente proporcionales.

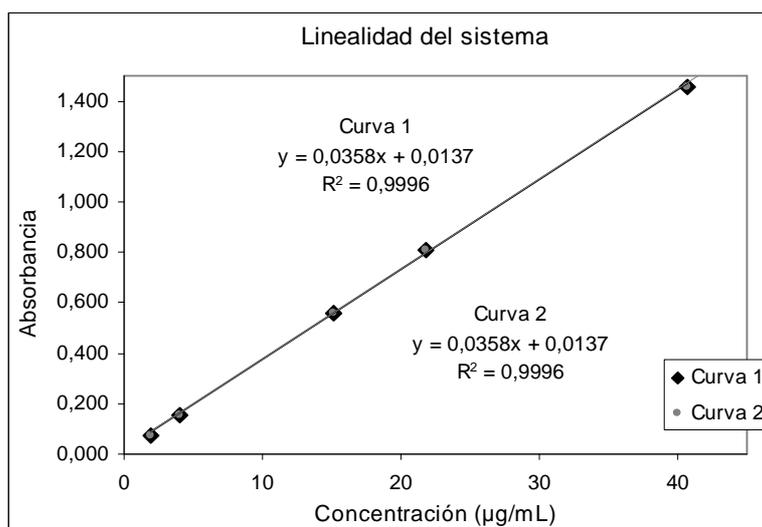


Figura 7. Linealidad del sistema en solución de HCl 0.1 N.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Curva 1	Curva 2
2	0,076	0,076
4	0,153	0,152
15	0,561	0,562
22	0,809	0,808
41	1,459	1,459
pendiente	0,036	0,036
ordenada	0,014	0,013
R^2	0,9996	0,9996
Error relativo debido a la regresión (%)	2.0	2.0

Tabla 10. Linealidad del sistema en solución de HCl 0.1 N.

4.2.2. Precisión

La tabla 11 muestra el factor de respuesta de los datos de linealidad, así como el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación, el cual es ligeramente mayor a lo especificado en la NOM-177-SSA.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Factor de respuesta	
	Curva 1	Curva 2
2	0,037811	0,037811
4	0,038346	0,038095
15	0,037226	0,037293
22	0,037127	0,037081
41	0,035865	0,035865
	Promedio (n=10)	0,037
	DE (n=10)	0,001
	CV %(n=10)	2,3

Tabla 11. Precisión del sistema en solución de HCl 0.1 N.

4.3. Validación del Método

4.3.1. Linealidad

El coeficiente de regresión y el error relativo debido a la regresión de los datos de los productos Innovador, Genérico Intercambiable y Genérico se presenta en las tablas 12,13 y 14, y en las figuras 8, 9 y 10 respectivamente. Dado que en todos los casos el coeficiente de regresión es mayor a 0.99 y el error relativo debido a la regresión es menor al 2 por ciento, es posible decir que el método es lineal en el intervalo de 2 a 41 $\mu\text{g/mL}$.

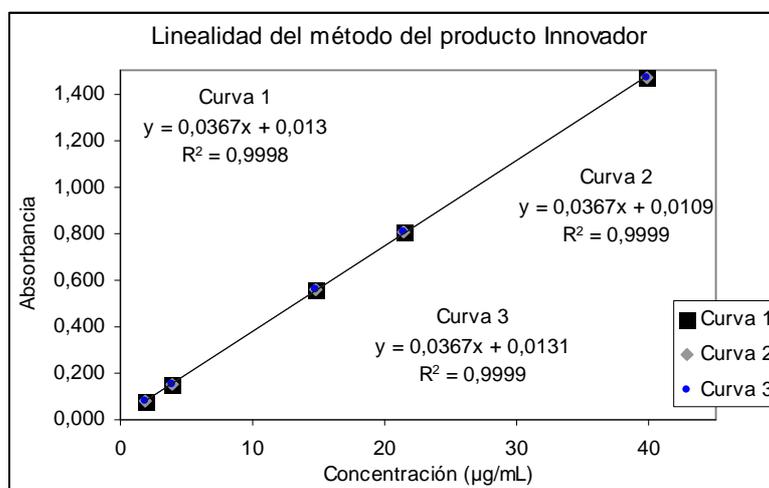


Figura 8. Linealidad del método producto Innovador.

Concentración (µg/mL)	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	0,077	0,076	0,077
4	0,154	0,152	0,155
15	0,561	0,559	0,560
21	0,807	0,802	0,806
40	1,471	1,470	1,471
pendiente	0,037	0,037	0,037
ordenada	0,013	0,011	0,013
R ²	0,9998	0,9999	0,9999
Error relativo debido a la regresión (%)	1.4	1.1	1.2

Tabla 12. Linealidad del método producto Innovador.

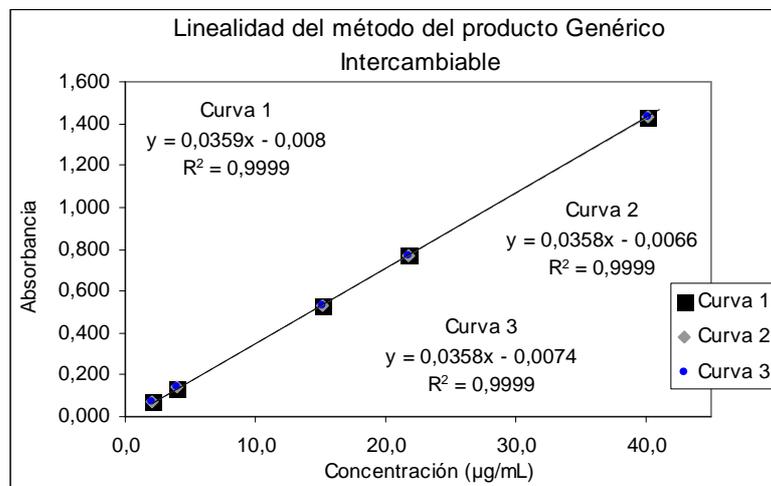


Figura 9. Linealidad del método producto Genérico Intercambiable.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	0,067	0,068	0,067
4	0,137	0,138	0,139
15	0,527	0,531	0,53
22	0,773	0,768	0,767
40	1,433	1,432	1,434
pendiente	0,036	0,036	0,036
ordenada	-0,008	-0,007	-0,007
R2	0,9999	0,9999	0,9999
Error relativo debido a la regresión (%)	0.8	0.8	1.0

Tabla 13. Linealidad del método producto Genérico Intercambiable.

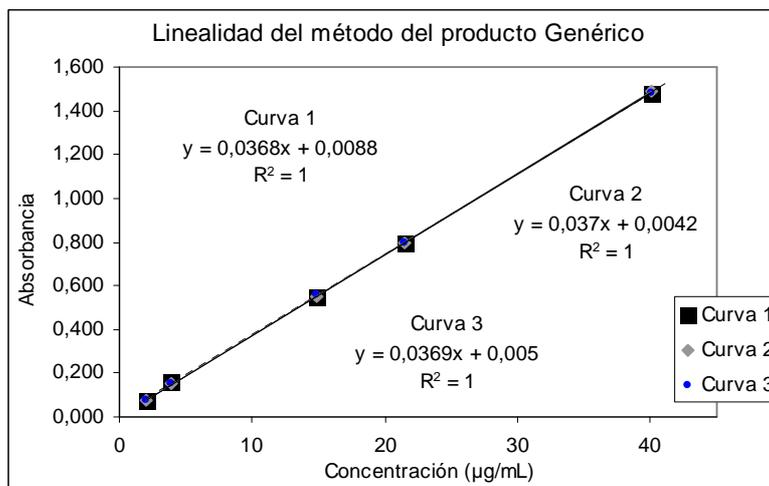


Figura 10. Linealidad del método producto Genérico.

Concentración (µg/mL)	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	0,08	0,078	0,077
4	0,158	0,152	0,152
15	0,554	0,554	0,555
22	0,796	0,793	0,794
40	1,485	1,489	1,485
pendiente	0,037	0,037	0,037
ordenada	0,009	0,004	0,005
R ²	1,000	1,000	1,000
Error relativo debido a la regresión (%)	0.7	0.7	0.5

Tabla 14. Linealidad del método producto Genérico.

4.3.2. Precisión

4.3.2.1. Repetibilidad

En las tablas 15, 16 y 17 se muestra el porcentaje de recuperación de los datos de linealidad del método, el promedio y el coeficiente de variación; dado que éste es menor al 3 por ciento en cada nivel de concentración con cada uno de los productos, el método cumple con los criterios de aceptación y es repetible.

Concentración (µg/mL)	% Recuperación			Prom	DE	CV %
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2	91,0	92,5	92,5	92,0	0,82	0,9
4	97,5	97,5	98,8	97,9	0,80	0,8
15	100,3	100,3	100,3	100,3	0,00	0,0
21	100,5	100,1	100,5	100,4	0,22	0,2
40	98,9	98,9	98,9	98,9	0,04	0,0

Tabla 15. Repetibilidad del método producto Innovador.

Concentración (µg/mL)	% Recuperación			Prom	DE	CV%
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2	104,2	104,2	102,8	103,7	0,80	0,8
4	100,7	100,7	101,4	100,9	0,40	0,4
15	98,4	99,0	98,8	98,7	0,38	0,3
21	99,5	98,8	98,6	99,0	0,58	0,5
40	99,8	99,7	99,8	99,8	0,18	0,1

Tabla 16. Repetibilidad del método producto Genérico Intercambiable.

Concentración (µg/mL)	% Recuperación			Prom	DE	CV%
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2	95,9	100,0	97,3	97,7	2,06	2,1
4	103,3	102,6	101,9	102,6	0,69	0,7
15	98,9	99,8	99,8	99,5	0,52	0,5
21	98,9	99,2	99,2	99,1	0,15	0,1
40	99,5	100,1	99,8	99,8	0,30	0,3

Tabla 17. Repetibilidad del método producto Genérico.

4.3.2.2. Reproducibilidad

Se evaluó el efecto de los días sobre este parámetro. Las tablas 18, 19 y 20 demuestran que el método es reproducible para los tres productos, pues el coeficiente de variación de los porcentajes de recuperación es menor al 3 por ciento en todos los casos.

Después de verificar que el método es repetible y reproducible, se puede afirmar que es preciso.

Concentración (µg/mL)	% Recuperación					
	Día 1			Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	91,0	92,5	92,5	93,9	95,3	95,6
4	97,5	97,5	98,8	98,8	97,5	97,6
15	100,3	100,3	100,3	101,8	101,6	99,7
21	100,5	100,1	100,5	100,8	100,8	98,5
40	98,9	98,9	98,9	100,0	99,9	98,4
Promedio(n=30)	98,3					
DE(n=30)	2,8					
CV %	2,9					

Tabla 18. Reproducibilidad del método producto Innovador.

Concentración (µg/mL)	% Recuperación					
	Día 1			Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	104,2	104,2	102,8	102,8	105,6	100,0
4	100,7	100,7	101,4	100,0	101,4	102,8
15	98,4	99,0	98,8	99,5	99,2	99,5
22	99,5	98,8	98,6	99,8	99,6	99,9
40	99,8	99,7	99,8	99,9	100,4	100,2
Promedio(n=30)	100,6					
DE (n=30)	1,8					
CV %	1,8					

Tabla 19. Reproducibilidad del método producto Genérico Intercambiable.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	% Recuperación					
	Día 1			Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2	95,9	100,0	97,3	100,0	98,6	100,0
4	103,3	102,6	101,9	102,6	104,0	104,0
15	98,9	99,8	99,8	100,3	99,9	99,2
22	98,9	99,2	99,2	99,2	98,7	98,7
40	99,5	100,1	99,8	100,4	100,3	100,2
Promedio(n=30)	100,1					
DE (n=30)	1,8					
CV %	1,8					

Tabla 20. Reproducibilidad del método producto Genérico.

4.3.3. Exactitud

En las tablas 21, 22 y 23 se presentan las concentraciones de las muestras, así como la concentración promedio y la desviación estándar relativa, las cuales se calcularon a partir de los datos de linealidad. El método es exacto en las concentraciones de 4, 15, 21 y 40 $\mu\text{g/mL}$, pues la desviación estándar relativa cumple con el criterio de aceptación que indica que debe ser menor al 3 por ciento. Sin embargo, con excepción del producto genérico, no se acepta que el método es exacto en la concentración más baja (2 $\mu\text{g/mL}$), ya que la desviación estándar relativa es superior a la especificación. Para evitar errores en la cuantificación del fármaco, se decidió que durante la preparación de las muestras, se realizaran diluciones con concentraciones mayores o iguales a 4 $\mu\text{g/mL}$.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)			Concentración promedio ($\mu\text{g/mL}$)	DER (%)
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
2	1,73	1,76	1,76	1,75	8
4	3,81	3,81	3,86	3,83	2
15	14,81	14,81	14,81	14,81	0
21	21,46	21,38	21,46	21,43	0
40	39,41	39,43	39,43	39,42	1

Tabla 21. Exactitud del método producto Innovador.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)			Concentración Promedio ($\mu\text{g/mL}$)	DER (%)
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
2	2,08	2,08	2,06	2,07	4
4	4,03	4,03	4,06	4,04	1
15	14,86	14,94	14,92	14,91	1
22	21,69	21,53	21,50	21,57	1
40	40,03	39,97	40,03	40,01	0

Tabla 22. Exactitud del método producto Genérico Intercambiable.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)			Concentración Promedio ($\mu\text{g/mL}$)	DER (%)
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
2	1,92	2,00	1,95	1,95	2
4	4,03	4,00	3,97	4,00	3
15	14,73	14,86	14,86	14,82	1
22	21,27	21,32	21,32	21,31	1
40	39,89	40,14	40,00	40,01	0

Tabla 23. Exactitud del método producto Genérico.

4.3.4. Estabilidad del Metronidazol

Simulando las condiciones a las que se sometería una muestra en una prueba de perfil de disolución, se encontró que el Metronidazol permanece estable a 37 ± 0.5 °C en solución de HCl 0.1 N durante al menos 90 minutos, pues, con respecto a la respuesta inicial, no se encontraron variación importantes en la absorbancia de las muestras; lo que significa que la concentración del analito se mantiene constante, ya que su estructura química no está siendo alterada por las condiciones del medio. (Tablas 24, 25 y 26)

Tiempo (min)	Absorbancia		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0	0,563	0,562	0,563
30	0,561	0,565	0,566
60	0,561	0,563	0,562
90	0,562	0,561	0,56
Promedio(n=12)	0,562		
DE(n=12)	0,002		
CV%(n=12)	0,3		

Tabla 24. Estabilidad del Metronidazol a 37 °C, producto Innovador.

Tiempo (min)	Absorbancia		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0	0,540	0,538	0,535
30	0,535	0,539	0,541
60	0,534	0,534	0,538
90	0,535	0,534	0,534
Promedio(n=12)	0,536		
DE(n=12)	0,003		
CV%(n=12)	0,5		

Tabla 25. Estabilidad del Metronidazol producto a 37 °C, Genérico Intercambiable.

Tiempo (min)	Absorbancia		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0	0,549	0,550	0,551
30	0,55	0,551	0,552
60	0,55	0,549	0,552
90	0,55	0,546	0,552
Promedio(n=12)	0,55		
DE(n=12)	0,002		
CV%(n=12)	0,3		

Tabla 26. Estabilidad del Metronidazol a 37 °C, producto Genérico.

4.3.5. Influencia del Filtro

Las tablas 27 y 28 muestran que, con respecto a la muestra sin filtrar, la cantidad de fármaco adsorbido a un filtro de membrana o un filtro de teflón, es menor al 2 por ciento, con excepción de las primeras muestras filtradas del producto Genérico Intercambiable donde la interferencia debida a ambos filtros es ligeramente superior a la especificada. Sin embargo, se eligió el teflón porque su efecto sobre la prueba con el producto GI es menor que la del filtro de membrana, además, el tratamiento de la muestra se facilita con el uso de este tipo de filtro y es más económico.

Muestra	Innovador		Genérico Intercambiable		Genérico	
	Abs	% Retenido	Abs	% Retenido	Abs	% Retenido
Sin filtrar	0,587		0,521		0,559	
Filtrada						
1	0,586	0,2	0,532	-2,1	0,564	-0,9
2	0,584	0,5	0,529	-1,5	0,564	-0,9
3	0,586	0,2	0,525	-0,8	0,559	0,0
4	0,584	0,5	0,527	-1,2	0,559	0,0
5	0,584	0,5	0,522	-0,2	0,558	0,2
6	0,584	0,5	0,522	-0,2	0,558	0,2

Tabla 27. Influencia del filtro de teflón.

Muestra	Innovador		Genérico Intercambiable		Genérico	
	Abs	% Retenido	Abs	% Retenido	Abs	% Retenido
Sin filtrar	0,587		0,521		0,585	
Filtrada						
1	0,589	-0,3	0,534	-2,5	0,585	0,0
2	0,588	-0,2	0,528	-1,3	0,584	0,2
3	0,591	-0,7	0,528	-1,3	0,585	0,0
4	0,589	-0,3	0,522	-0,2	0,584	0,2
5	0,589	-0,3	0,52	0,2	0,582	0,5
6	0,589	-0,3	0,521	0,0	0,585	0,0

Tabla 28. Influencia del filtro de membrana.

4.3.6. Diluciones

El coeficiente de variación de la absorbancia de las muestras, menor al 3 por ciento, indica que la variabilidad en la preparación de las diluciones es mínima, por lo que se confirma que este procedimiento no tiene efecto significativo sobre la confiabilidad del método. (Tablas 29 y 30)

Muestra	Abs
1	0,242
2	0,243
3	0,243
4	0,241
5	0,246
6	0,247
promedio	0,244
DE	0,002
CV (%)	1,0

Tabla 29. Diluciones 1:10 de la solución
70 µg/mL.

Muestra	Abs
1	0,728
2	0,727
3	0,725
4	0,728
5	0,726
6	0,726
promedio	0,727
DE	0,001
CV (%)	0,2

Tabla 30. Diluciones 0.5:10 de la
solución 400 µg/mL.

4.4. Perfiles de disolución

Las tablas 31, 32 y 33 presentan el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación del porcentaje de Metronidazol disuelto. En el primer tiempo de muestreo, 5 minutos, el coeficiente de variación fue menor al 20 por ciento, asimismo, los porcentajes de fármaco disuelto en los tiempos de muestreo subsecuentes presentaron coeficientes de variación menores al 10 por ciento para los tres productos en estudio. Por lo anterior fue posible emplear el factor de similitud para comparar los perfiles de disolución de los productos de prueba con el perfil del producto Innovador.

El factor de similitud indica que los perfiles de disolución de los productos Innovador y Genérico son semejantes, ya que la f_2 se encuentra entre 50 y 100 (tabla 34). Por otra parte, la f_2 indica que los perfiles de disolución de los productos Innovador y Genérico Intercambiable son notoriamente distintos como se puede observar en la figura 11.

Tiempo (min)	Promedio % disuelto	DE	CV (%)
5	15,2	1,4	9,0
10	27,6	1,9	6,7
15	41,7	3,3	8,0
30	72,3	3,1	4,3
45	93,3	3,9	4,2
60	94,2	3,9	4,2

Tabla 31. Porcentaje disuelto producto Innovador (n=12).

Tiempo (min)	Promedio % disuelto	DE	CV (%)
5	74,1	9,1	12,2
10	95,6	1,3	1,4
15	96,6	1,7	1,8
30	96,7	1,4	1,4
45	96,9	1,9	1,9
60	97,2	1,7	1,7

Tabla 32. Porcentaje disuelto producto Genérico Intercambiable (n=12).

Tiempo (min)	Promedio % disuelto	DE	CV (%)
5	14,2	1,2	8,6
10	26,5	1,3	5,1
15	39,9	2,4	5,9
30	72,3	3,2	4,4
45	94,5	2,2	2,3
60	96,4	1,7	1,8

Tabla 33. Porcentaje disuelto producto Genérico (n=12).

Producto	f_2
Genérico	17.2
Intercambiable	
Genérico	88.2

Tabla 34. Comparación de los productos de prueba con el producto Innovador mediante el factor de similitud (f_2).

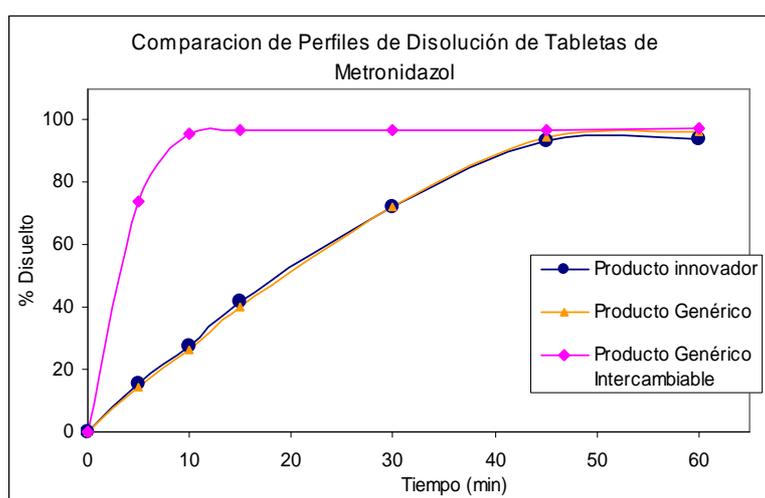


Figura 11. Perfiles de disolución de los productos Innovador, Genérico Intercambiable y Genérico.

5. CONCLUSIONES

El método analítico para la cuantificación de Metronidazol es lineal y preciso de 2 a 41 µg/mL y es exacto de 4 a 41 µg/mL.

El Metronidazol es estable durante 90 minutos a $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en solución de HCl 0.1 N y no se adsorbe significativamente a un filtro de teflón de 0.35 µm.

Dado que los perfiles de disolución de los medicamentos Innovador y Genérico Intercambiable son distintos, es posible que no tengan el mismo comportamiento *in vivo*.

6. ANEXO

Coeficiente de variación (CV %)

$$\% CV = \frac{DE}{Prom} \times 100$$

donde:

DE = Desviación
estándar.

Prom = Promedio.

Error Relativo debido a la Regresión

$$S_{y/x,r} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - A \sum y - B \sum xy}{\frac{n-2}{\bar{y}}}} \times 100$$

donde:

A = Ordenada al origen.

B = Pendiente.

Ȳ = Promedio de las Y.

Factor de Respuesta (f)

$$f = \frac{\text{Absorbancia}}{\text{Concentración}}$$

Desviación Estándar Relativa (DER)

$$DER = \frac{\text{ConcNom} - \text{ConcProm}}{\text{ConcNom}} \times 100$$

donde:

ConcNom = Concentración nominal.

ConcProm = Concentración experimental

promedio.

Porcentaje Retenido (%R)

$$\%R = 100 - \left(\frac{\text{AbsMf}_n}{\text{AbsMSF}} \times 100 \right)$$

AbsMf_n = Absorbancia de la muestra filtrada
n.

AbsMSF = Absorbancia de la muestra sin
filtrar.

Porcentaje disuelto

a) Cálculo de los miligramos de Metronidazol disueltos en 5 mL en el i-ésimo tiempo de muestreo (E_i)

$$E_i = (X_i)(F_d)(v) \quad \text{donde: } X_i = \frac{Y_i - A}{B}$$

donde:

E_i = Miligramos de Metronidazol disueltos en 5 mL de muestra

X_i = Concentración de Metronidazol en mg/mL al i-ésimo tiempo de muestreo

F_d = Factor de dilución de la muestra.

v = Volumen tomado de muestra (5 mL).

Y_i = Absorbancia del Metronidazol en la preparación de la muestra al i-ésimo tiempo de muestreo.

A = Ordenada al origen de la curva de calibración.

B = Pendiente de la curva de calibración

b) Cálculo de los miligramos de Metronidazol disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo (D_i)

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i) + \sum_{i=0}^{N-1} E_i \quad \text{donde: } V_i = V_0 - [(N-1)v]$$

donde:

- D_i = Miligramos de Metronidazol disueltos al i-ésimo tiempo de muestreo.
- E_i = Miligramos de Metronidazol disueltos en 5 mL de muestra.
- X_i = Concentración de Metronidazol en mg/mL al i-ésimo tiempo de muestreo.
- F_d = Factor de dilución de la muestra.
- V_i = Volumen del medio de disolución al i-ésimo tiempo de muestreo.
- V_o = Volumen inicial del medio de disolución (900 mL).
- N = Número de extracciones.
- v = Volumen tomado de muestra (5 mL).

c) Cálculo del porcentaje de Metronidazol disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo

$$\%D_i = \frac{D_i}{Dosis} \times 100$$

donde:

- $\% D_i$ = Porcentaje de Metronidazol disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo.
- D_i = Miligramos de Metronidazol disueltos al i-ésimo tiempo de muestreo.
- $Dosis$ = Miligramos de Metronidazol indicados en la etiqueta (500 mg).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Multisource (Generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability, 2005.
2. Aïche J.M., Devissaguet J. Ph, Guyot A.M., Biofarmacia, Asociación Francesa de Enseñantes de Farmacia Galénica, Paris, 1982, pp. 10, 248, 252.
3. Dressman J, Krämer J, Pharmaceutical Dissolution Testing, Taylor & Francis, 2005, pp. 1, 14, 32, 81, 82.
4. Remington, Farmacia, Tomo 1, 19ª Ed, Panamericana, 1999, pp. 870-872.
5. Henning H. Blume, Barbara S. Schug, The Biopharmaceutics Classification System (Bcs): Class III Drugs -Better Candidates for Ba/Be Waiver? European Journal Of Pharmaceutical Sciences 9 (1999) 117–121.
6. World Health Organization. Proposal to Waive in Vivo Bioequivalence Requirements for the WHO Model List of Essential Medicines Immediate Release, Solid Oral Dosage Forms, 2005.
7. Comisión de Autorización Sanitaria. Relación de Especialidades Farmacéuticas Susceptibles de Incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos, se determinan las pruebas que deberán aplicárseles y señala el producto de referencia designado. Abril, 2008.
8. Lindenbergh M, Kopp S, Dressman J, Classification Of Orally Administered Drugs On The World Health Organization Model List of Essential Medicines According to The Biopharmaceutics Classification System, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 58 (2004) 265–278.
9. 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.
10. Merck Research Laboratories, The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001.
11. Goodman & Gilman, The Pharmacological Basis Of Therapeutics, Eleventh Edition, Mcgraw Hill, 2006.
12. Secretaría de Salud, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM 8ª Edición, México, 2005.

13. Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios, Comisión De Autorización Sanitaria. Relación de Medicamentos Innovadores o Productos de Referencia, 2007.
14. Secretaría de Salud, Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, actualizado al 19 de febrero del 2008.
15. Secretaría de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM 7ª Edición, México, 2000.
16. Consejo de Salubridad General, Acuerdo por el que se establece que las instituciones públicas del sistema nacional de salud, deberán comprar medicamentos genéricos intercambiables, 2002.
17. De la Garza Ma del Carmen, Evaluación del Perfil de Disolución de Productos Conteniendo Propanolol, Metronidazol y Captopril de Acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutico, Universidad Nacional Autónoma de México, 2006.
18. Lachman L, Lieberman H, The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, LEA & Febiger, Philadelphia, 1986, pp,171-172.
19. Secretaría de Salud, Encuesta Nacional de Salud II, 1994, pp.17, 39, 40.
20. Secretaría de Desarrollo Social, Comité Técnico para la Medición de la Pobreza, Medición de la Pobreza Variantes Metodológicas y Estimación Preliminar, 2002, pp. 53,71.

Páginas Web

21. www.drugbank.ca