



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE PERFILES DE
DISOLUCIÓN A pH 4.5 DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS DE
BENZOILMETRONIDAZOL EN
SUSPENSIÓN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

BEATRIZ DAMM DIAZ

MÉXICO D. F., 2009.



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 Rafael Garzón Serra
Vocal: Inés Fuentes Noriega
Secretario: Helgi Helene Jung Cook
1er. Suplente: Luis Jesús García Aguirre
2do. Suplente: Sofía Margarita Rodríguez Alvarado

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorios 112 y 113 de Biofarmacia
Departamento de Farmacia, edificio "E"
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor del tema:

Dra. Inés Fuentes Noriega

Supervisor Técnico:

M. en C. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado

Sustentante:

Beatriz Damm Díaz

AGRADECIMIENTOS

Como todo en la vida llegó el momento de cerrar un ciclo. La universidad fue una aventura llena de sentimientos encontrados, momentos especiales - tanto buenos como malos-, fue una época de aprendizaje y crecimiento, en fin un momento de la vida en el cual estuvieron presente muchas personas que quisiera agradecer por el simple de hecho de haber compartido esto conmigo y que definitivamente se quedarán en mi corazón.

Papá y mamá gracias por ese apoyo incondicional, por la confianza que me dieron para decidir sobre mi futuro y por creer en mi; pero sobre todo por su ejemplo, verlos a ustedes preparados y logrando tantas cosas en la vida son pasos que quiero seguir y hoy fue el primero de ellos.

Bernardo y Victoria gracias por soportar mis cambios de humor en momentos de exámenes, cuando la noche pasaba y yo seguía haciendo prácticas, mis gritos y mis malos momentos...podrán ver que valió la pena. Ya los aguantaré yo a ustedes jaja

Gracias a Dios por la oportunidades que me ha brindado en la vida, por poder disfrutar de una excelente educación; gracias por caminar junto a mi y disfrutar cada uno de mis logros.

A mis abuelos, tíos y primos: nada en la vida es fácil, a veces caemos, a veces pasamos caminando, pero lo mejor de todo es llegar al final con el apoyo familiar!!.

La UNAM me dio todas las oportunidades que yo busqué para continuar con mi educación: buena educación, buenos maestros, buenos amigos, deporte y diversión. Quiero agradecer a la institución; me siento orgullosa de ser unamita.

En el tiempo que estuve aquí, tuve la oportunidad de tener grandes maestros, ejemplos excepcionales, quiero agradecer a todos aquellos que sacaron lo mejor de mí, que me hicieron esforzarme al máximo y que me guiaron a lo largo de mi desarrollo profesional: Inés Fuentes Noriega, Margarita Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Alvarado, Raúl Garza Velasco, Blas Flores, Héctor García Ortega, Gustavo Garduño, entre otros.

A mis amigos de la Facultad: Mariana, Meche, Sarita, Zaine, Goretti, Ricardo, David, Roberto, Marco y los Pepes sin ustedes la vida en la UNAM hubiera sido demasiado aburrida, tengo grandes recuerdos de nuestros momentos en la jardinera, en Copilco, las aztecas, las trajineras, las fiestas, el fut., en fin fueron un apoyo indispensable.

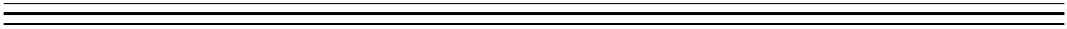
Tania, Noelia y Luz, fueron grandes los partidos de fut, el mejor escape de las clases.

A mis amigas de la infancia: Ceci, Chapis, Fer, Güemes, Itziar, Lau, Maialen, María, Mariana, Marifer, Muss, Priscilla, Regina, Sofía y Tere, cada quien tomó un camino diferente pero sabemos donde encontrarnos, gracias por compartir esto conmigo. Las quiero!!.

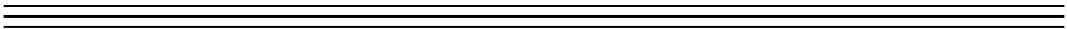
Tuve oportunidad de conocer a mucha gente que dejó huella, un gran agradecimiento a todas aquellas personas que formaron parte de esta aventura, estarán siempre en mi memoria, gracias por el apoyo, los consejos y el tiempo.

Ya estamos aquí Bea, disfrutemos el momento ya que ésta fue sólo una de las muchas aventuras que estamos por emprender.

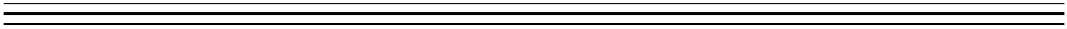
“Cometer cualquier locura, esperar cualquier milagro”



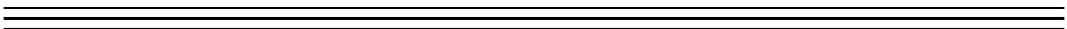
ÍNDICE



1. Índice
2. Introducción
3. Generalidades
4. Parte experimental
4. Estudio de perfiles de disolución
5. Resultados y análisis de resultados
6. Conclusiones
7. Bibliografía
8. Apéndice



1. INTRODUCCIÓN



La fabricación, prescripción y administración de un medicamento tienen un objetivo en común: la obtención de una eficacia terapéutica que permita recuperar la salud del enfermo.

La calidad de los productos farmacéuticos es un factor de suma importancia para asegurar el pronto restablecimiento de los individuos, su bienestar y su calidad de vida.

La publicación de la Norma Oficial Mexicana en mayo de 1999 (NOM-177-SSA-1-1998), la cual establece las pruebas, criterios y procedimientos que deben seguir los terceros autorizados para demostrar que un medicamento es intercambiable se debe principalmente a la importancia que éstos medicamentos (genéricos) han tomado en el sector salud; además en 2005 entró en vigor la reforma del artículo 376 de la Ley General de Salud la cual habla sobre el registro sanitario de medicamentos. De acuerdo a la Ley General de Salud y el Reglamento de Insumos para la Salud, los medicamentos destinados al mercado de genéricos, serán únicamente las especialidades farmacéuticas que sean intercambiables. Éstos (medicamentos genéricos) se encuentran publicados en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, el cual es expedido por el Diario Oficial de la Federación.^{17, 27}

La forma farmacéutica de suspensión es un sistema formado por dos fases, un sólido finamente dividido disperso en otro sólido, líquido o gas. En el caso de los medicamentos en suspensión que contienen benzoilmetronidazol éste es un sólido disperso en un líquido.

El metronidazol es empleado clínicamente como amebicida, giardicida y tricomonocida el cual es activo contra protozoos, parásitos y bacterias anaerobios¹¹ y es ampliamente utilizado en nuestro país. Debido al sabor amargo del metronidazol, en las suspensiones orales se utiliza en forma de benzoilmetronidazol, el cual enmascara el desagradable sabor del metronidazol.

Las pruebas de disolución dentro de la industria farmacéutica son utilizadas como herramientas en las pruebas de control de calidad y para el desarrollo de nuevos medicamentos.

En la actualidad existen pocos estudios sobre disolución de suspensiones; no existe una prueba oficial de disolución del benzoilmetronidazol; por lo que una de las principales razones por las cuales se decidió realizar esta tesis es para conocer el comportamiento de disolución del fármaco en estudio a lo largo del tracto gastrointestinal. Además de ésta tesis, se realizaron otras dos a pH 1.2 y 6.8, con los mismo productos, lotes y condiciones experimentales.

1.1 OBJETIVOS

- Validar el método espectrofotométrico para la cuantificación de metronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5
- Realizar el estudio de perfiles de disolución en una solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, de 3 productos farmacéuticos en suspensión cuyo principio activo es el benzoilmetronidazol.
- Comparar los perfiles de disolución entre dos lotes del mismo producto farmacéutico.
- Determinar si el comportamiento de los productos farmacéuticos en estudio es similar al medicamento de referencia a través de la aplicación de la prueba f_2 .

2. GENERALIDADES

2.1 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-177-SSA-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.

Para el cumplimiento de ésta norma se deben tener en cuenta algunos requisitos y sus consideraciones: Todos los pasos involucrados en los métodos de análisis para realizar las pruebas de intercambiabilidad deben describirse en un PNO. Utilizar como medicamento de referencia el indicado por la Secretaría a través del área competente, el cual debe estar comercialmente disponible y vigente. Para aquellos medicamentos que se presentan en más de una concentración, en la misma forma farmacéutica se puede realizar el estudio de bioequivalencia con una de las concentraciones y los resultados pueden ser extrapolables para las otras concentraciones, siempre y cuando exista proporcionalidad en la fórmula cualicuantitativa, se observe una farmacocinética lineal, los procesos de fabricación estén validados y su perfil de disolución sea similar. El perfil de disolución o el estudio de bioequivalencia del medicamento de prueba se debe realizar con un lote estándar de producción o bien con un lote escalado, que asegure que no se modifica significativamente la reproducibilidad de los perfiles de disolución, cuando lotes subsecuentes del medicamento se elaboren de acuerdo con la NOM-059-SSA1-1993, y que cuente con un certificado de aprobación conforme a la FEUM vigente. Cuando en ésta no aparezca la información, puede recurrirse a farmacopeas de otros países cuyos procedimientos de análisis se realicen conforme a especificaciones de organismos especializados u otra bibliografía científica reconocida internacionalmente. En caso de realizarse la prueba de bioequivalencia se deben realizar perfiles de disolución, ambas pruebas deben llevarse a cabo con los mismos lotes del producto de prueba y el de referencia. Además de la comparación de los perfiles de disolución o del estudio de bioequivalencia, se deben realizar las pruebas de valoración y uniformidad de dosis expresada como uniformidad de contenido. Cuando el medicamento contenga más de un fármaco, se debe evaluar el perfil de disolución o la bioequivalencia para cada uno de ellos.

Las conclusiones de la prueba de intercambiabilidad son válidas para todos los lotes subsecuentes del medicamento de prueba que se elaboren de acuerdo con la NOM-059-SSA1-1993, que incluyan la validación del proceso de producción. En caso de que el proceso de producción, equipo, calidad de los componentes y criterios de aceptación se modifiquen significativamente, o bien, haya algún cambio significativo en la formulación, es necesario realizar nuevamente la prueba. Deben llevarse registros de recepción, uso, destino y balance de los medicamentos de prueba y de referencia.

Los medicamentos de prueba y de referencia deben tener al menos un año de vigencia antes de su fecha de caducidad al momento de realizar el estudio. Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta, desde su recepción hasta dos años posteriores a la conclusión del estudio, o hasta el vencimiento de la fecha de caducidad, lo que ocurra primero. Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse en cantidad suficiente para realizar tres veces el estudio.

Las pruebas de valoración y uniformidad de dosis deben realizarse siguiendo los métodos descritos en la FEUM, en farmacopeas reconocidas internacionalmente o métodos validados. Los métodos de análisis para evaluar las pruebas de intercambiabilidad de medicamentos, deben ser adecuados para cumplir con el propósito del estudio y validarse conforme a esta Norma y demás disposiciones aplicables en la materia, así como estar aprobados por el responsable sanitario. El porcentaje de valoración del medicamento de prueba debe estar dentro de los límites farmacopéicos y no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.

Los medicamentos de referencia y de prueba deben cumplir con los criterios de uniformidad de contenido descritos en el método general de análisis de uniformidad de dosis MGA 0299 de la FEUM. Utilizar sustancias de referencia trazables con patrones de referencia de reconocimiento nacional o internacional.

Registrar todos los acontecimientos ocurridos durante la realización de las pruebas y almacenar toda la información generada durante el estudio, aun

cuando pertenezca a alguna corrida analítica rechazada. Los registros deben resguardarse para evitar su alteración o deterioro, por lo menos durante tres años o un año después de la fecha de caducidad de cualquiera de los medicamentos, lo que ocurra más tarde. Los instrumentos de medición deben estar calibrados.

2.2 MEDICAMENTO GENÉRICO INTERCAMBIABLE ^a

En los últimos años se ha incrementado el uso de los llamados “Medicamentos Genéricos”, los cuales surgen cuando ha vencido la patente del producto innovador. Se emplea el término de medicamento genérico intercambiable a la especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeicas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica.

A partir de la reforma al artículo 376 de la Ley General de Salud, que entró en vigor en el 2005, actualmente se consideran 2 tipos de medicamentos: los que cuentan con patente vigente, conocidos como innovadores y los medicamentos “Genéricos”. Esto (su registro) tendrá una vigencia de 5 años que será otorgada por la Secretaría de Salud. Dicho registro podrá prorrogarse por plazos iguales, a solicitud del interesado, en los términos que establezcan las disposiciones reglamentarias. Si el interesado no solicitara la prórroga dentro del plazo establecido para ello o bien, cambiara o modificara el producto o fabricante de materia prima, sin previa autorización de la autoridad sanitaria; ésta procederá a cancelar o revocar el registro correspondiente.^c

Los medicamentos deben cumplir con diferentes tipos de pruebas dependiendo de la naturaleza del medicamento, y se dividen en tres clases generales:

Clase A: medicamentos que no requieren cumplir con pruebas de disolución o bioequivalencia. Los laboratorios que fabrican medicamentos de esta clase tienen que cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura, que son una serie de reglas para asegurar el manejo y desarrollo apropiado del producto. En esta clase se encuentran los líquidos orales, inyectables, pomadas, oftálmicos y medicamentos para inhalación.

Clase B: sólo requieren cumplir con las pruebas de disolución. Podrán exentar las pruebas de bioequivalencia aquellos fármacos que, demuestren experimentalmente o mediante el empleo de equivalencia publicada en fuentes indexadas, que tiene una alta solubilidad. Si este fuera el caso se deberán realizar pruebas de perfil de disolución en tres pH's diferentes (1.2, 4.5 y 6.8). En caso de que los perfiles de disolución no sean satisfactorios siempre se podrá realizar la prueba de bioequivalencia a la que se considera como el estándar de oro.

Clase C: los medicamentos en esta clase deben de cumplir con las pruebas de perfil de disolución y el estudio de bioequivalencia.

El metronidazol (en suspensión como forma farmacéutica) se encuentra en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables. El tipo de prueba que requiere para ser autorizado como medicamento genérico intercambiable es de clase C y el producto de referencia con el que debe compararse es el producto Flagyl del laboratorio Sanofi-Aventis.^d

2.3 MEDICAMENTO DE REFERENCIA ^a

Es aquel medicamento que cuenta con el registro de la Secretaría de Salud y se encuentra disponible comercialmente.

2.3.1 MEDICAMENTO INNOVADOR ^a

Es considerado al medicamento que cuenta con la patente original a nivel mundial y cuya bioequivalencia esté determinada; es el producto que cuente con el registro más antiguo ante la autoridad sanitaria y que haya demostrado su eficacia y seguridad o tenga una correlación *in vitro* - *in vivo* establecida. Éste medicamento cuenta con pruebas de seguridad y eficacia.

2.4 MEDICAMENTO DE PRUEBA ^a

Es aquel medicamento proveniente de un lote fabricado a escala industrial o de un tamaño menor, siempre y cuando el equipo, el método de manufactura, la calidad y los perfiles de disolución se conserven, que cumpla los estándares de calidad oficiales establecidos en la FEUM y se fabrique conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993.

2.5 ABSORCIÓN

Para que un medicamento pueda ejercer su efecto terapéutico después de administrarse, absorberse, ser transportado al tejido u órgano apropiado, penetrar en la estructura subcelular correspondiente y provocar una respuesta.²⁸

La administración es la forma en la cual el fármaco es introducido en el organismo y para esto existen diversas formas de administración, siendo de nuestro interés la administración oral; ésta es la mas comúnmente utilizada ya que es la mas conveniente para llegar a circulación sistémica, pero no siempre permite obtener concentraciones plasmáticas lo suficientemente elevadas como para ser efectivas ya que el fármaco es sometido al proceso digestivo de forma semejante a la que sufren los alimentos.²¹

2.5.1 FACTORES DE LOS QUE DEPENDE LA ABSORCIÓN DE UN FÁRMACO ^{21, 28}

- Características fisicoquímicas del fármaco, tamaño de la molécula, liposolubilidad, pka, etc.
- Características del medicamento: forma farmacéutica, excipientes, etc.
- Características del sitio de absorción: pH del medio, superficie de absorción, grosor de la membrana, flujo sanguíneo, motilidad del estómago (influye en la velocidad con la cual un medicamento administrado por vía oral es transportado hacia el intestino delgado), etc.
- Influencia de los alimentos en el tubo digestivo: éstos pueden influir sobre la velocidad y magnitud de absorción, directa o indirectamente, a través de diversos mecanismos como la formación de complejos con los componentes de la dieta, alteraciones del pH, alteración del vaciamiento gástrico, estimulación de las secreciones gastrointestinales, competencia entre componentes de los alimentos y los fármacos por mecanismos de absorción, cambios del flujo sanguíneo inducido por los alimentos, etc.

El tiempo promedio de vaciado de un estómago en ayuno es de aproximadamente 40 minutos.

2.5.2 INFLUENCIA DEL pH Y CAPACIDAD AMORTIGUADORA SOBRE LA ABSORCIÓN DE LOS FÁRMACOS

El aparato digestivo es un tubo muscular de aproximadamente 6 m de longitud, de diámetro variable, que abarca desde la boca hasta el ano y que se divide principalmente en cinco zonas anatómicas: boca, esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso o colon.²¹

El valor del pH gástrico es cercano a 1.2, pero debido a diluciones eventuales se dice que esta entre 1 y 3. El pH intestinal es considerablemente mayor al gástrico debido a la neutralización del ácido por los iones bicarbonato secretados por el páncreas; además existe un gradiente de pH en el intestino delgado el cual va gradualmente aumentando del duodeno al ileon. El pH del

colon esta influenciado por productos de reacciones de exoenzimas bacterianas que al interaccionar con carbohidratos sin digerir bajan el pH alrededor de 5.⁷ (Figura 1)

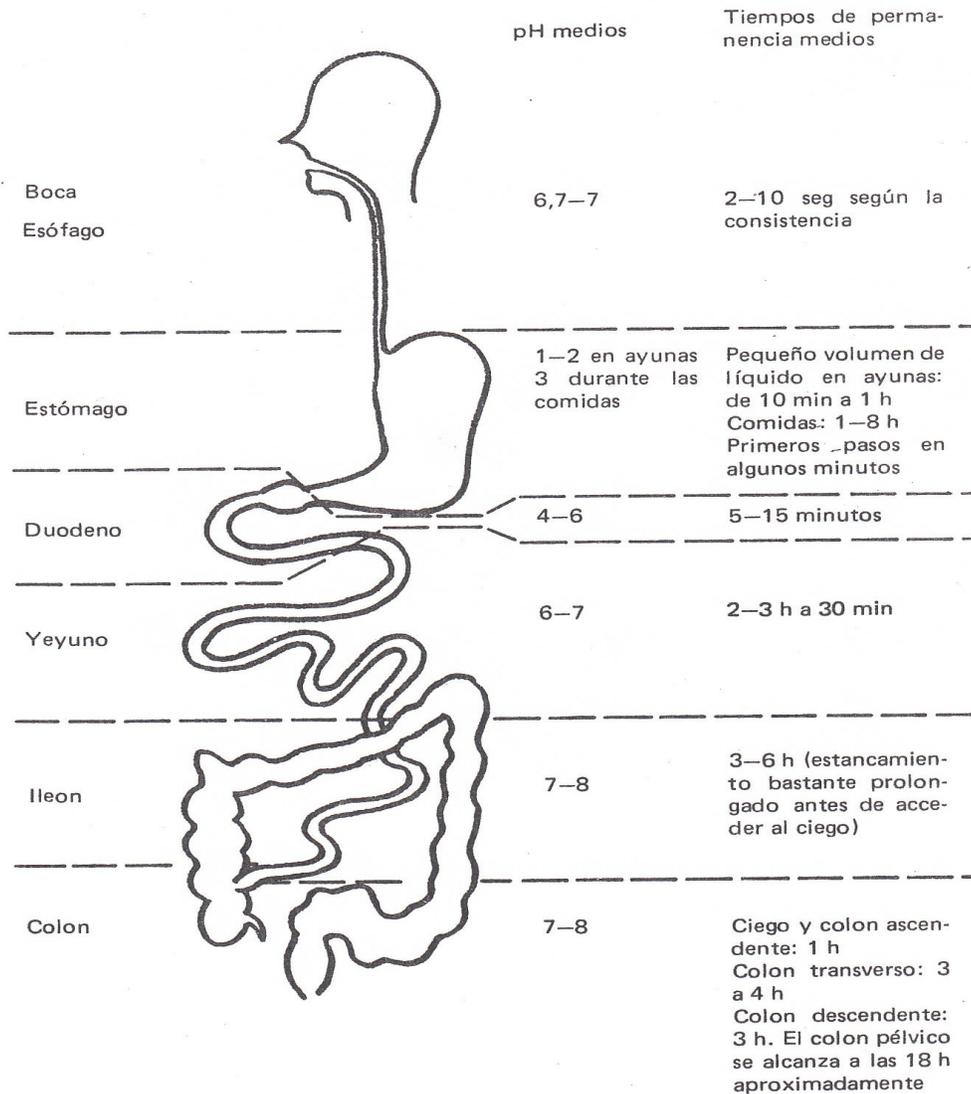


Figura 1. Valores de pH a los largo del tracto gastrointestinal.

El mecanismo principal de la absorción por vía oral es la difusión pasiva, pero para algunos medicamentos es la absorción activa mediante transportadores.²¹

El paso limitante de la velocidad varía de un fármaco a otro. Para un fármaco muy poco hidrosoluble, el paso limitante comúnmente es la disolución en los

líquidos gastrointestinales, por lo que se dice que la biodisponibilidad del fármaco está limitada por la velocidad de disolución.²¹

Para un fármaco muy hidrosoluble que se disuelve con rapidez, la velocidad a la que atraviesa la membrana gastrointestinal (limitado por la permeabilidad) es el paso limitante.²¹

2.6 DISOLUCIÓN

La disolución se define como el proceso por el cual una sustancia interacciona con el solvente para dar una solución, el proceso está controlado por la afinidad entre la sustancia y el solvente.²⁸

La velocidad de disolución se define como la cantidad total de fármaco disuelto por unidad de tiempo.¹²

Las pruebas de disolución se utilizan en la Industria Farmacéutica con diferentes propósitos: en el desarrollo de nuevos productos, en control de calidad para estimar la liberación del fármaco a partir de la forma farmacéutica, para evaluar la variabilidad interlote y en ciertos casos para predecir la biodisponibilidad y bioequivalencia de los productos.^{5, 10}

La disolución de las partículas es el paso limitante en el proceso de absorción de las suspensiones, las tabletas y las cápsulas.³²

Debido a la dificultad en el manejo de las suspensiones por métodos diseñados para la disolución de sólidos, pocos investigadores han concretado sus esfuerzos en los perfiles de disolución de suspensiones.³²

Sin embargo, las pruebas de disolución no proporcionan la información de la velocidad a la cual el fármaco se disuelve; para ello es necesario determinar el perfil de disolución, ya que considera diversos tiempos de muestreo.

2.6.1 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN ^{18, 21,28}

- Factores del soluto: propiedades fisicoquímicas de las partículas (tamaño de partícula, humectabilidad, forma cristalina, solubilidad, estabilidad, etc.).
- Factores de la forma farmacéutica: excipientes y cantidades, interacción entre fármaco y excipiente, procedimiento de manufactura, condiciones de almacenamiento, caducidad, etc.
- Factores del medio de disolución: viscosidad, tensión superficial, mezcla de disolventes, pH del medio, fuerza iónica, presencia de tensoactivos, temperatura, composición, volumen, gases disueltos, etc.
- Factores del sistema de disolución: tipo de aparato, capacidad, volumen del disolvente, velocidad de agitación, calibración del equipo, vibración, etc.
- Factores del tracto gastrointestinal: pH, fuerza iónica, motilidad, presencia o ausencia de alimentos, cantidad de enzimas, etc.

2.6.2 APARATOS EMPLEADOS

Se han descrito muchos métodos de disolución, de los cuáles son dos los más usados y están reconocidos en farmacopeas a nivel mundial: FEUM, USP, BP; éstos aparatos son canastillas (aparato I) y paletas (aparato II). Para llevar a cabo el estudio de perfiles de disolución de suspensiones de benzoilmetronidazol se utilizó el aparato II.

Aparato II

Consiste en un vaso de vidrio u otro material inerte, de boca ancha de fondo esférico y transparente; un motor, un eje propulsor metálico y una paleta metálica (por lo general recubierta por un material inerte) que es una hoja soldada a un vástago que puede ser conectado al motor de velocidad regulada. El vaso debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua adecuado, durante la prueba el baño de agua debe mantener la temperatura del interior de los vasos a 37 ± 0.5 °C, se debe garantizar que el fluido del baño se mantenga en movimiento suave y constante.

El volumen de suspensión se coloca dentro del vaso con una jeringa y las paletas, sumergidas dentro del vaso en el medio de disolución, se hacen girar a una velocidad fija, constante.

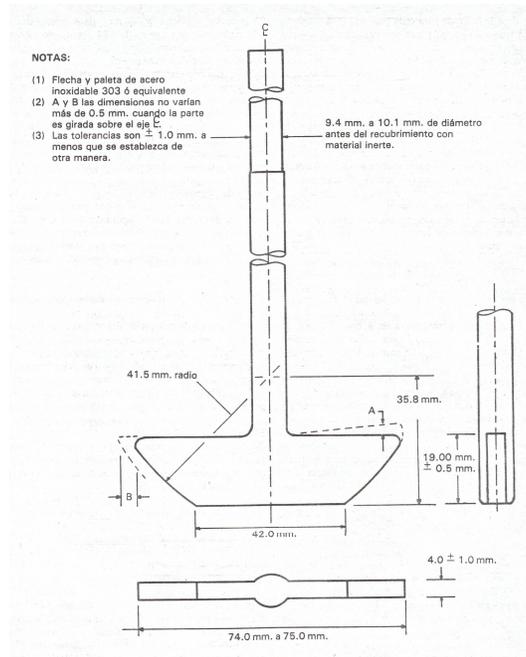


Figura 2. Aparato II (paletas) FEUM.

2.6.3 PERFILES DE DISOLUCIÓN PARA SUSPENSIONES

A partir de pruebas comparativas de los perfiles de disolución entre dos productos farmacéuticos, bajo condiciones establecidas, y si resultan semejantes, se puede suponer que la biodisponibilidad es similar si y solo si, existe una relación con los datos in vivo.

Existen diferentes métodos experimentales para determinar el perfil de disolución de un fármaco en suspensión: el método directo y el método de diálisis.

En el método directo se utiliza el aparato II, la muestra se coloca en el fondo del vaso, el cual contiene un volumen de 900 mL de medio de disolución y se establece la velocidad de agitación que se da a través de los giros de la propela.

En el método por diálisis se utiliza un recipiente interno en cuyos extremos se coloca la membrana dializante y la muestra suspendida en el medio de disolución (lado donador); éste recipiente se coloca dentro de un recipiente mayor que contiene medio de disolución y actúa como lado receptor. Ambos recipientes contienen un dispositivo para agitar el medio.³⁰ Este método se define como el paso de las moléculas de un soluto a través de una membrana permeable.

Las diferencias observadas en los perfiles de disolución pueden ser causadas por factores como formación de complejos fármaco-excipiente, formulación, tamaño de partícula, método de disolución, agentes suspensores, método de manufactura, variables del proceso entre otros.³¹

Según la NOM-177-SSA-1-1998 en la evaluación de perfiles de disolución de formas farmacéuticas de liberación inmediata se deben establecer las condiciones experimentales: medio de disolución, aparato utilizado, velocidad de agitación, método de análisis, tiempo y forma de muestreo. Se deberá evaluar un mínimo de 12 unidades tanto del producto de prueba como el de referencia; seleccionar 5 tiempos de muestreo (sin contar el tiempo cero) que permitan caracterizar la curva ascendente y la meseta. De éstos, sólo 2 puntos estarán en la meseta de la curva y los otros 3 distribuidos entre la fase ascendente y de inflexión y cuando el 85% del fármaco está disuelto en un tiempo menor o igual a 15 minutos no será necesario caracterizar la curva ascendente, pero los tiempos de muestreo debe estar suficientemente espaciados a lo largo del perfil de disolución.

2.7 FACTOR DE SIMILITUD²²

Para comparar los perfiles de disolución del producto de prueba con el de referencia se utiliza el factor de similitud (f_2). Este valor permite relacionar a través de una transformación logarítmica la semejanza entre los perfiles de disolución de los medicamentos de prueba y de referencia; para que sea válido se debe tomar en cuenta lo siguiente:

- Los tiempos de muestreo son idénticos para ambos productos.
- La norma establece 5 tiempos de muestreo para la mejor caracterización de la curva.
- Los perfiles de disolución se realizan bajo las mismas condiciones operacionales.
- El coeficiente de variación del por ciento disuelto no es mayor al 20% para el primer tiempo de muestro y no es mayor que el 10% para los tiempos subsecuentes.
- La curva de disolución se evalúa en la parte ascendente y la meseta.

Para demostrar la similitud de los perfiles, el valor de f_2 debe estar entre 50 y 100. Cuando el producto de prueba y de referencia se disuelven igual o mas del 85% de la cantidad marcada del fármaco a los 15 minutos usando los tres medios de disolución (pH 1.2, 4.5 y 6.8) recomendados, no hace falta la comparación de perfiles con el factor de similitud.²⁶

El factor de similitud se calcula por medio de la siguiente fórmula:

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

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

R_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto de referencia.

P_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto de prueba.

2.8 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA (BCS)

El BCS es un sistema científico para clasificar a los medicamentos en base a su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal, que proporciona una guía que hace posible en algunos casos justificar la bioexención para algunos medicamentos. Fue propuesto en 1995 por Amidon, Lennernäs, Shah y Crisol.¹² El BCS toma en cuenta tres factores principales que gobiernan la

velocidad y el alcance de la absorción del fármaco a partir de formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata: disolución, solubilidad y permeabilidad.

Tabla 1. Clasificación Biofarmacéutica.

CLASE	SOLUBILIDAD Relativa a la dosis	PERMEABILIDAD INTESTINAL
I	ALTA	ALTA
II	BAJA	ALTA
III	ALTA	BAJA
IV	BAJA	BAJA

Respecto a la disolución se pueden clasificar en fármacos de “muy rápida disolución”, “rápida disolución” y “disolución lenta”.

Alta solubilidad: un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis más alta es soluble en 250 mL o menos de solución acuosa en el intervalo de pH = 1.2 – 6.8. Los cálculos de solubilidad a diferentes pH’s se hacen por triplicado a 37°C. Las primeras guías del BCS sugerían que el intervalo de pH’s para medir solubilidad debe ser entre 1.2 y 7.5, sin embargo, tomando en cuenta la variación del pH a lo largo del tracto gastrointestinal se considera mas apropiado el intervalo de 1.2 – 6.8.

El cambio en el intervalo de pH se basa en que, en general, un fármaco tarda aproximadamente 85 minutos para llegar al íleon, por lo tanto si el fármaco es de rápida disolución cuando llega al íleon está casi completamente disuelto, entonces evaluar la solubilidad a pH’s mayores a 6.8 es innecesario.

Alta permeabilidad: un fármaco estable en el sistema gastrointestinal, se considera altamente permeable cuando la cantidad absorbida es de 85% o más en base a la determinación de balance de masa o en comparación con una dosis de referencia intravenosa. Inicialmente se proponía que una alta permeabilidad correspondía al 90% del fármaco absorbido, sin embargo, este

límite excluía a fármacos que eran considerados como bien absorbidos o completamente absorbidos.

Muy rápida disolución: un fármaco es considerado de muy rápida disolución cuando al menos el 85% de la cantidad indicada en el marbete se ha disuelto en 15 minutos o menos, usando el aparato de paletas a 75 rpm o el aparato de canastillas a 100 rpm en 900 mL o menos en cada uno de los siguientes medios de disolución: a) solución de HCl pH=1.2, b) solución amortiguadora de acetatos pH=4.5 y c) solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8.

Rápida disolución: un fármaco se considera de rápida disolución cuando al menos el 85% de la cantidad indicada en el marbete se ha disuelto en 30 minutos o menos, usando el aparato II (paletas) a 75 rpm o el aparato I (canastillas) a 100 rpm en 900 mL o menos en cada uno de los siguientes medios de disolución: a) solución de HCl pH=1.2, b) solución amortiguadora de acetatos pH=4.5 y c) solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8.

2.8.1 BIODISPONIBILIDAD

Se define como la velocidad y la medida en que se absorbe el principio activo ó la fracción activa de un fármaco y que se hace disponible en el sitio de acción. Un estudio de biodisponibilidad evalúa el desempeño de las formulaciones utilizadas en los ensayos clínicos proporcionando evidencia de inocuidad y eficacia; por lo general se documenta con un perfil de exposición sistémica mediante la cuantificación de la concentración del fármaco y/o fracciones activas y, cuando corresponda, sus metabolitos activos a lo largo del tiempo.¹³

Cuando son sustancias medicamentosas altamente permeables, altamente solubles, de disolución rápida, de liberación inmediata y de administración oral, la biodisponibilidad y la bioequivalencia se pueden documentar utilizando estudios in vitro con base en el sistema de clasificación biofarmacéutica.¹⁴

2.8.2 BIOEQUIVALENCIA

Es la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y medida en que el ingrediente activo ó la fracción activa de equivalentes farmacéuticos ó alternativas farmacéuticas se hacen disponibles en el sitio de acción farmacológico cuando se administran en la misma dosis molar bajo condiciones similares en un estudio con un diseño apropiado.¹³

Estos estudios se requieren antes de la aprobación de un producto ó fármaco nuevo en fase de investigación, o algunos cambios posteriores a la aprobación de un genérico. Se compara el perfil de exposición sistémica de un fármaco en estudio con el del producto de referencia; dos productos farmacéuticos administrados oralmente son bioequivalentes cuando el principio activo del medicamento en estudio muestra la misma velocidad y la misma media de absorción que el medicamento de referencia.^{13, 15}

Los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia pueden ser considerados como un aspecto de la calidad del producto que provee evidencia de la eficacia y seguridad de un medicamento y son requisito para el registro y aprobación del medicamento desarrollado.

Los estudios in vivo son en general prolongados y costosos además de que deben ser vigilados muchos aspectos como la selección de la población en estudio, diseño del estudio, metodología analítica, etc. Por ello se han desarrollado métodos in vitro para contar con la evidencia necesaria de cómo será el comportamiento del fármaco en el organismo y sólo en algunos casos son válidos. Estos estudios únicamente son válidos en algunos casos.¹³

2.9 ESPECTROFOTOMETRÍA⁹

La espectrofotometría consiste en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. La banda espectral utilizada en este estudio se encuentra en la zona ultravioleta,

la cual va desde los 190 nm hasta los 380 nm. Los espectros ultravioleta de una sustancia no tienen, en general, un alto grado de especificidad. Sin embargo, son muy adecuados para las valoraciones cuantitativas y en el caso de muchas sustancias, constituyen un medio útil adicional de identificación.

El uso de la espectrofotometría de absorción en la zona ultravioleta como procedimiento de valoración se basa en el hecho de que, la absorptividad de una sustancia suele ser una constante independiente de la intensidad de la radiación incidente, la longitud interior de la cubeta y la concentración, por lo cual la concentración se puede determinar fotométricamente.

2.10 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS²⁵

Se entiende por validación a la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado. Los parámetros con los que se debe validar un método son: linealidad, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y exactitud entre otros. Éstos se evalúan utilizando herramientas estadísticas como desviación estándar, coeficiente de variación, coeficiente de correlación, ordenada al origen, pendiente, etc. De la información obtenida se obtiene la confiabilidad de la metodología usada que se empleará para el análisis.

Linealidad

Es la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

Precisión

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto, se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad.

Repetibilidad: es la precisión de un método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.

Reproducibilidad: es la precisión de un método analítico que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis, tales como días, equipo, columnas (en caso de HPLC) o analistas.

Exactitud

Es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

Estabilidad de la muestra

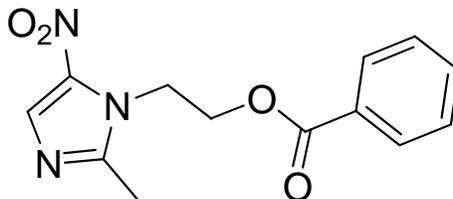
Es la propiedad del compuesto por analizar, de conservar sus características bajo ciertas condiciones.

Selectividad

Es la capacidad de un método analítico para cuantificar exactamente y específicamente el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra.

2.11 MONOGRAFÍA DEL BENZOILMETRONIDAZOL

Estructura química:



Nombres químicos:

- 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil benzoato.
- Benzoato de 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5nitroimidazol.
- 2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol benzoato.
- 1-(2-benciloxietil)-2-metil-5-nitroimidazol.

Nombres genéricos:

- Benzoato de metronidazol.
- Benzoil de metronidazol.
- Benzoilmetronidazol.

Nombres comerciales:

- Flagyl.
- Solumidazol.
- Ameblin.
- Flagelase.

Fórmula molecular: C₁₃H₁₃N₃O₄

Peso molecular: 276.26 g/mol

CAS: 13182-89-3.

Descripción: polvo cristalino o escamas de color blanco o ligeramente amarillento.

Solubilidad: Soluble en ácido acético, cloroformo, etanol y benceno. Poco soluble en éter y prácticamente insoluble en agua.

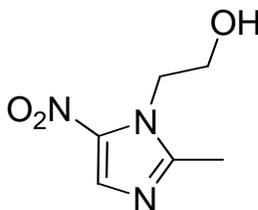
Temperatura de fusión: Entre 98°C y 102°C.

Conservar a una temperatura de 25°C, entre 15 y 30°C.

Proteger de la luz.

2.12 MONOGRAFÍA DEL METRONIDAZOL

Estructura química:



Nombres químicos:

- 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etanol.
- 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol.

Nombre genérico:

- Metronidazol.

Fórmula molecular: $C_6H_9N_3O_3$

Peso molecular: 171.15 g/mol

CAS: 443-48-1.

Descripción: Polvo cristalino blanco o amarillento; proteger de la luz (oscurece al ser expuesto).

Solubilidad: Poco soluble en agua, etanol, acetona y cloruro de metileno, ligeramente soluble en éter.

Temperatura de fusión: 159°C a 160°C.

pK_a: 2.6

El metronidazol pertenece a la familia de los imidazoles, al grupo de los nitroimidazoles; son quimioterapéuticos de origen sintético que tienen efecto antibacteriano y/o antiparasitario. La reducción del grupo nitro es necesaria para que se produzca el efecto bactericida.

Es un fármaco empleado clínicamente como amebicida, giardicida y tricomonocida y es activo contra diversos protozoos, parásitos anaerobios y bacterias anaerobias.¹¹

2.12.1 FARMACOCINÉTICA

El metronidazol se absorbe fácilmente y casi por completo después de la administración por vía oral. Se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas aproximadamente de 6 y 12 $\mu\text{g/mL}$, por lo general después de 1 o 2 horas de dosis únicas de 250 y 500 mg respectivamente. El benzoilmetronidazol administrado por vía oral se hidroliza en el tubo digestivo para liberar metronidazol, que a su vez es absorbido.

Se distribuye ampliamente, aparece en la mayoría de los tejidos y líquidos corporales como bilis, hueso, leche materna, hígado, saliva, etc. También atraviesa la barrera placentaria y penetra rápidamente a la circulación fetal. Se une a proteínas plasmáticas en un porcentaje no superior al 20%.

El metronidazol se metaboliza en el hígado por oxidación de la cadena lateral y formación de glucurónido. Los principales metabolitos oxidados son el 1-(2-hidroxietil)-2-hidroximetil-5-nitroimidazol (metabolito hidroxilado), que tiene actividad antibacteriana y se detecta en orina y plasma, y el ácido 2-metil-5-nitroimidazol-1-acético (metabolito ácido), que prácticamente no tiene actividad antibacteriana.

El tiempo de vida media de eliminación del metronidazol es de 8 horas; la del metabolito hidroxilado es ligeramente superior; la mayor parte de la dosis se excreta por la orina, principalmente en forma de metabolitos.

INDICACIONES Y ADMINISTRACIÓN

Es un derivado de tipo 5-nitroimidazol con actividad frente a bacterias anaerobias y protozoos; posee un efecto radiosensibilizante sobre células

tumorales hipóxicas. Su mecanismo de acción implica interferencia con el ADN por un metabolito en el que el grupo nitro del metronidazol se ha reducido.

El metronidazol se emplea en el tratamiento de infecciones por protozoos susceptibles como amebiasis, balantidiasis, giardiasis y tricomoniasis; también se emplea en leishmaniasis y microsporidiosis. Es utilizado en el tratamiento y profilaxis de infecciones por bacterias anaerobias como: vaginosis bacteriana, gingivitis ulcerosa necrosante aguda, enfermedad inflamatoria pélvica, tétanos y colitis asociada a antibióticos.

El metronidazol se administra por vía oral en comprimidos o, como benzoato de metronidazol, en suspensiones orales; los comprimidos se administran con o después de la comida y la suspensión, como mínimo 1 hora antes de las comidas. También se administra por vía rectal en supositorios, en crema o gel por vía tópica, o en perfusión intravenosa de metronidazol o hidrocloreto de metronidazol. Las dosis se expresan en términos de metronidazol base.

EFFECTOS ADVERSOS

Suelen depender de la dosis. Los más frecuentes son trastornos gastrointestinales, especialmente náuseas y un gusto metálico desagradable. Se producen vómitos y diarrea o estreñimiento. Se ha descrito debilidad, mareo, ataxia, cefalalgia somnolencia, insomnio y cambios en el estado de ánimo o el estado mental como depresión o confusión.

PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS

- Gel 0.75 mg de metronidazol en 1 g.
- Tabletas 250 y 500 mg.
- Suspensión oral 125 y 250 mg en 5 mL
- Inyectables 500 mg.
- Óvulos dosificados 500 mg.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAL

Agitador magnético

Agujas metálicas (10 cm longitud)

Celdas de cuarzo de 10 mm

Cronómetro

Espátula

Filtros de membrana 0.45 μm (Millipore, Durapore Membrane Filters, lote R6JN83138)

Filtros de teflón 35 μm (Full Flow Filters, Varian, lote 21024A)

Filtros de teflón 70 μm (Full Flow Filters, Vankel)

Gradilla

Jeringas 5 mL

Jeringas 10 mL

Matraz volumétrico 5 mL

Matraz volumétrico 25 mL

Matraz volumétrico 50 mL

Matraz volumétrico 100 mL

Matraz volumétrico 250 mL

Matraz volumétrico 1 L

Matraz volumétrico 2 L

Micropipeta 100-1000 μL

Micropipeta 500-5000 μL

Nave

Pipeta Pasteur

Pipeta volumétrica 10 mL

Piseta

Probeta 1 L

Termómetro -1 a 51°C

Tubos de ensaye 13x100

Tubos de ensaye 16x150

Tubos con tapón de rosca

Tubos muestreadores (Millipore. Catálogo M00000001)

Vaso de precipitados 50 mL

Vaso de precipitados 250 mL

3.1.1 SUSTANCIAS Y REACTIVOS EMPLEADOS

3.1.1.1 ESTÁNDAR UTILIZADO

Sustancia de referencia benzoilmetronidazol (COSUFAR)

Lote RF7A

Temperatura por fusión: Entre 99°C y 100.6°C

Pérdida por secado: No mas 1.0% (60°C durante 4 horas)

Valoración: 99.27% base seca.

3.1.1.2 REACTIVOS

- Acetato de sodio, anhidro. J.T.Baker

Lote A14C16 CH₃COONa PM- 82.03

CAS No: 127-09-3

Hecho en México

- Agua destilada

- Metanol. Mallinckrodt Chemicals. For use in liquid chromatography and spectrophotometry (methyl alcohol). HPLC AR[®] (ACS)

CH₃OH PM- 32.04

CAS No. 67-56-1

- Acido acético glacial. Reactivo Baker[®] ACS

Lote Y45C60 CH₃COOH PM- 60.05

CAS No. 64-19-7

- Fosfato de sodio, monobásico monohidrato cristal. J.T. Baker

Lote K15460 NaH₂PO₄ H₂O PM- 137.99

3.1.2 EQUIPO EMPLEADO

Balanza analítica Sartorius modelo A210P (calibrado)

Espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 (calibrado)

Disolutor Pharma Alliance Group TDT-08 L (calibrado)

Dosificador Dispensette Brand 25 mL

Balanza Ohaus 2 kg-5 lb (calibrado)

Sonicador

3.2 MEDICAMENTOS ESTUDIADOS

- AMEBLIN metronidazol suspensión

Frasco con 120 mL

Fórmula: Cada 100 mL contienen:

Benzoilo de metronidazol equivalente a 2.5 g de metronidazol

Vehículo cbp 100 mL

Cada cucharadita 5 mL equivale a 125 mg de metronidazol

Contiene 20 % azúcar

Hecho en México por:

Degort's Chemical, S.A., de C.V.

Alambra No. 310, Col. Portales 03300 México D.F.

Reg. No. 017M88 SSA IV.

Lote 103 Caducidad Nov 2010

Lote 104 Caducidad Dic 2010

- FLAGENASE metronidazol suspensión 125 mg

Frasco con 120 mL

Fórmula: Cada 100 mL contiene:

Benzoilo de metronidazol equivalente a 2.5 g de metronidazol

Vehículo cbp 100 mL

Cada 5 mL equivale a 125 mg de metronidazol

Contiene 50 % azúcar

Hecho en México por:

Laboratorios Liomont, S.A. de C.V.

A. López Mateos 68, Cuajimalpa 05000 México D.F.

Marca Registrada Reg. No. 66015 SSA IV

Lote M10114 Caducidad Nov 2010

Lote P03137 Caducidad Mar 2010

- FLAGYL metronidazol suspensión 125 mg/5 mL

Frasco con 120 mL

Fórmula: Cada 100 mL contiene:

Benzoilo de metronidazol equivalente a 2.5 g de metronidazol

Vehículo cbp 100 mL

Una cucharadita de 5 mL equivale a 125 mg de metronidazol

Hecho en México por:

Sanofi-Aventis de México, S.A. de C.V.

Acueducto del Alto Lerma No. 2, Zona Industrial Ocoyoacac,

52740, Ocoyoacac, Edo. De México

Reg. No. 62207 SSA IV

Marca Registrada

Lote B7C071 Caducidad Jun 09

Lote B7E776 Caducidad Nov 09

I. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METRONIDAZOL EN MEDIO DE DISOLUCIÓN

Para la cuantificación de metronidazol contenido en suspensiones orales (Flagyl, Flagenase y Ameblin), se validó un método espectrofotométrico en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, el cual se encuentra reportado en la bibliografía¹⁷; se le hicieron algunas modificaciones para los propósitos del estudio.

Los parámetros mínimos necesarios para validar un método analítico son la validación del sistema y la validación del método en el medio de disolución (NOM-177-SSA-1-1998).

3.3 VALIDACIÓN DEL SISTEMA

3.3.1 LINEALIDAD

Para calcular la linealidad del sistema se prepararon 2 curvas de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 ± 0.05 en un intervalo de concentraciones de $1.25 \mu\text{g/mL}$ – $12.5 \mu\text{g/mL}$. (Tabla 2)

Metodología

- Preparación de la solución de referencia:

Pesar en una balanza analítica 10 mg del estándar de benzoilmetronidazol (esto es equivalente a 12.5 mg de metronidazol); transferirlos a un matraz volumétrico de 50 mL, agregar gotas de metanol, máximo 1 mL, y llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Esta solución tiene una concentración equivalente a $125 \mu\text{g/mL}$ de metronidazol.

- Preparación de la curva patrón:

De la solución de referencia se toman diferentes alícuotas y se llevan al a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y de acuerdo a la tabla 2 se leen las soluciones en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 294 nm utilizando como blanco medio de disolución.

Tabla 2. Curva patrón.

Solución	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración teórica ($\mu\text{g/ML}$)
1	0.5	50	1.25
2	0.5	25	2.5
3	1	25	5
4	1.5	25	7.5
5	2	25	10
6	2.5	25	12.5

Criterio de aceptación de la linealidad del sistema

La NOM-177-SSA-1-1998 dice que la linealidad se debe demostrar con al menos cinco puntos por duplicado. El coeficiente de regresión deberá ser mayor o igual a 0.99 y el error relativo debido a la regresión (EER) no deberá ser mayor al 2%.

Cálculos

$$\text{Error relativo debido a la regresión \%} = \frac{S_{y/x}}{\hat{y}} \times 100$$

En donde:
$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(\sum y^2 - \text{pendiente})(\sum yx - \text{ordenada})\sum y}{N-2}}$$

$S_{y/x}$ = desviación estándar de la regresión.

x = concentración.

y = respuesta (absorbancia).

N = número de muestras.

3.3.2 PRECISIÓN

Metodología

A partir de los datos obtenidos para determinar la linealidad del sistema se evalúa el factor de respuesta; éste es el cociente de la absorbancia obtenida entre su concentración correspondiente para cada uno de los puntos y se calcula el coeficiente de variación (%CV) del factor de respuesta para todos los puntos.

Criterio de aceptación

Se debe demostrar que el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) del factor de respuesta es menor al 2%.

3.4 ESTUDIO DE INFLUENCIA DEL FILTRO

Se utilizaron 3 filtros diferentes (uno de membrana y 2 de teflón); a continuación se describen cada uno de ellos:

- Millipore

Durapore Membrana filters

Filter type: 0.45 μm HVHP

Contents: 100 filters

Dispose of blue paper

Cat. No. HVHPO1300

Lot. No. R6JN83138

Made in Ireland

- Full FlowTM Filters

VARIAN

35 μm

LOTE PROD. 21024A

LOTE MAT. 331365

13000 Weston Parkway, Cary, NC 27513-2228

- Full FlowTM Filters

Vankel

70 μm

36 Meridian Rd., Edison, N.J. 08820

Para la determinación de éste parámetro se llevó a cabo la siguiente metodología:

A partir de una solución de referencia del estándar del benzoilmetronidazol de 125 $\mu\text{g/mL}$ de metronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 se prepararon dos soluciones de diferente concentración (2.5 y 10. $\mu\text{g/mL}$); para la de menor concentración tomar 2 mL de la solución

patrón y transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Para la solución de 10 µg/mL tomar 8ml de la solución patrón y transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar a volumen con medio de disolución.

De cada una de las soluciones tomar 6 alícuotas de 5 mL cada una; primero tomar 5 mL los cuales se desechan para purgar el filtro. Tomar las alícuotas con jeringas de 10 mL, utilizar tubos muestreadores y los diferentes filtros. Separar 6 alícuotas de cada solución sin filtrar, transferir todas las muestras a tubos de ensaye y leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 294 nm; utilizar como blanco solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

Cálculos

$$\text{Influencia del filtro} = [(\text{Abs. sin filtro} - \text{Abs. con filtro})/\text{Abs. con filtro}] \times 100$$

Criterio de aceptación

El porcentaje retenido por el filtro no debe ser mayor al 2%.

3.5 ESTABILIDAD DEL BENZOILMETRONIDAZOL EN MUESTRAS DISUELTAS DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DEL ESTÁNDAR

Se prepararon soluciones de 10 µg/mL de concentración tanto para las muestras como para la materia prima.

- Preparación de las muestras:

Medir en un matraz volumétrico de 5 mL cada una de las suspensiones, pasarlas a un matraz volumétrico de 50 mL, agregar 1 mL de metanol y llevar a volumen con medio de disolución (acetatos pH 4.5); ésta solución tiene una concentración de 2500 µg/mL. Tomar con una micropipeta 400 µL y ponerlos

en un matraz de 100 mL, llevar a volumen con medio de disolución pH 4.5 (concentración de la solución: 10 µg/mL).

- Preparación de la solución de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5:

Pesar 5 mg de benzoilmetronidazol (materia prima), transferirlos a un matraz volumétrico de 50 mL, agregar 1 mL de metanol y llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 (concentración de la solución: 100 µg/mL); tomar 10 mL, transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con medio de disolución pH 4.5 (concentración de la solución: 10 µg/mL).

Tomar 50 mL de cada una de las soluciones y colocarlas en un tubo con tapón de rosca dentro del vaso del disolutor para alcanzar una temperatura de 37°C mientras que los 50 mL restantes de las soluciones mantenerlos a temperatura ambiente. Tomar muestras de 5 mL con filtro de teflón de 35 µm y tubo muestreador a los 0, 30, 60 y 90 minutos de cada una de las soluciones, transferir a tubos de ensaye y leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 294 nm.

Criterio de aceptación

El porcentaje de benzoilmetronidazol presente tanto en las muestras como en la materia prima no debe tener una diferencia mayor al 3% con respecto al tiempo cero. Determinar las condiciones (temperatura y tiempo) a las cuales el compuesto permanece estable.

3.6 ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO

Este parámetro se determina realizando barridos en un intervalo de longitud de onda de 260 a 340 nm en un espectrofotómetro. Los barridos se llevan a cabo con soluciones de 10 µg/mL de cada uno de los medicamentos

en estudio y de la materia prima de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

Las soluciones se prepararan de la misma manera que las utilizadas para determinar la estabilidad.

Se llevó a cabo un barrido con la solución de benzoilmetronidazol (materia prima) en medio de acetatos pH 4.5 y en medio de fosfatos pH 4.5 para descartar que el medio de disolución tenga alguna interferencia en la adsorción del metronidazol; como blanco se utilizó solución amortiguadora de acetatos y solución amortiguadora de fosfatos respectivamente.

Preparación del medio de fosfatos:

Pesar 3.45 g de fosfato de sodio monobásico y llevar a volumen con agua destilada a 250 mL, ajustar a pH 4.5 ± 0.05 con ácido fosfórico o hidróxido de sodio.

Preparar dos soluciones de $10 \mu\text{g/mL}$ de materia prima de benzoilmetronidazol en cada uno de los medios de disolución y llevar a volumen con el respectivo medio de disolución. Para obtener la concentración deseada pesar 5 mg de benzoilmetronidazol materia prima, transferirlos a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar a volumen con medio de disolución (solución $20 \mu\text{g/mL}$); tomar 25 mL de esta solución y llevar a 50 mL. Tomar la alícuota a través de un filtro de teflón de $35 \mu\text{m}$. Hacer el barrido en el espectrofotómetro desde 260 hasta 340 nm.

Criterio de aceptación

La especificidad se demuestra si los espectros de las muestras y el estándar dan una respuesta analítica similar.

3.7 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

3.7.1 LINEALIDAD

Para cada lote de los medicamentos estudiados se determinó la linealidad de la siguiente manera:

Tomar 5 mL de suspensión con jeringas de 5 mL y agujas de metal; depositar la suspensión en un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Tomar 10 mL de esta solución y transferirlos a un matraz volumétricos de 100 mL llevar a volumen con medio de disolución pH 4.5 (solución 125 µg/mL de metronidazol – solución patrón).

A partir de la solución patrón tomar alícuotas con micropipeta y colocarlos en un matraz de 50 mL; 0.5, 1, 1.5, 2, y 2.5 mL transferirlos a matraces de 25 mL y llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 (Tabla 3)

Tabla 3. Diluciones a partir de la solución patrón (125 µg/mL) para la preparación de la curva patrón.

Solución patrón 125 µg/mL			
Solución	Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración teórica (µg/mL)
1	0.5	50	1.25
2	0.5	25	2.5
3	1	25	5
4	1.5	25	7.5
5	2	25	10
6	2.5	25	12.5

La toma de alícuotas se realiza por triplicado a partir de la misma solución patrón, y se leen en el espectrofotómetro a 294 nm. Todas las muestras antes de ser leídas son filtradas con filtro de teflón de 35 µm.

Esta metodología se lleva a cabo por duplicado pero en días diferentes para poder determinar la reproducibilidad.

Criterio de aceptación

La linealidad debe ser demostrada por triplicado y con al menos 5 puntos; el coeficiente de regresión debe ser mayor o igual al 0.99 y el error relativo debido a la regresión no mayor al 3%.

3.7.2 EXACTITUD

Se determina calculando el por ciento de la desviación estándar relativa (% DEA) a partir de los datos obtenidos en la determinación de la linealidad con la curva promedio de absorbancia vs [benzoilmetronidazol] se obtienen la ecuación de la recta con la cual se calcula la concentración experimental en cada punto.

Cálculos

$$\% \text{ DEA} = (([\text{teórica}] - [\text{experimental}]) / [\text{teórica}]) \times 100$$

Criterio de aceptación

El valor del por ciento de la desviación estándar relativa (% DEA) debe ser menor al 3%, es decir, el promedio del porcentaje de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal en mas del 3% en cada punto.

3.7.3 PRECISIÓN

Se evalúa a través de la repetibilidad y reproducibilidad.

3.7.3.1 REPETIBILIDAD

A partir de las tres curvas utilizadas para determinar la linealidad, se calcula la media, la desviación estándar (DE) y el por ciento del coeficiente de variación (%CV).

Criterio de aceptación

El por ciento del coeficiente de variación (%CV) no puede ser mayor al 3%.

3.7.3.2 REPRODUCIBILIDAD

Se trabaja con las 6 curvas preparadas en días diferentes (3 un día y 3 otro) por el mismo analista y se utiliza el procedimiento utilizado para determinar la linealidad.

Criterio de aceptación

Para cada una de las 6 curvas se determina la media, la desviación estándar y el por ciento de coeficiente de variación (%CV) de la concentración experimental y se consideran reproducibles si valor del %CV es menor o igual al 3%.

4. ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN

4.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE DISOLUCIÓN

Para preparar 1L de medio de disolución pesar 2.99 g de acetato de sodio anhidro, transferirlos a un matraz volumétrico de 1L y agregar 900 mL de agua destilada hasta total disolución; ajustar a pH 4.5 ± 0.05 con ácido acético glacial y llevar a volumen con agua destilada.

4.1.1 DESGASIFICACIÓN DEL MEDIO DE DISOLUCIÓN

Colocar el medio de disolución en el recipiente B del equipo desgasificador, colocar las conexiones como se muestra en la figura 3, tapar y conectar al vacío, abrir la llave de vacío y esperar a que todo el volumen pase al otro recipiente (del B al A), cerrar la llave de vacío e invertir las conexiones de los recipientes; repetir el procedimiento tres veces.⁹

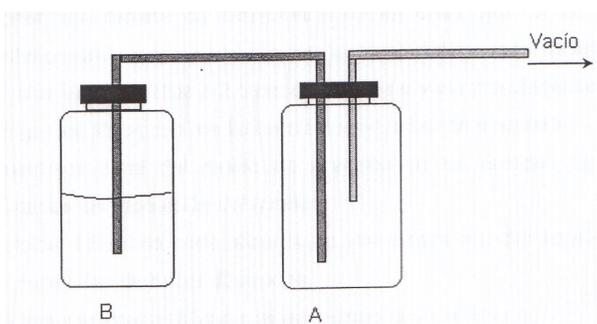


Fig. 3 Sistema desgasificador.

El estudio de perfiles de disolución de benzoilmetronidazol en suspensión se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones:

- Aparato utilizado: Aparato II (paletas)
- Medio de disolución: solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 ± 0.05
- Velocidad de agitación: 75 rpm
- Volumen del medio de disolución: 900 mL
- Temperatura del medio de disolución: $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
- Tiempos de muestreo: 5, 15, 30, 60 y 90 minutos
- Volumen de alícuota: 5 mL (sin reposición del medio)

Metodología:

1. Encender el disolutor y establecer las condiciones de trabajo en el controlador (temperatura, rpm).
2. Verter 900 mL de medio de disolución desgasificado en cada uno de los vasos (6 vasos), evitar formación de burbujas.
3. Colocar cada vaso en el baño del disolutor y esperar a que el medio de disolución alcance la temperatura deseada.
4. Encender las paletas (velocidad de agitación).
5. Colocar en el fondo de cada vaso los 5 mL de suspensión, previamente pesados en jeringas de 5ml con aguja de metal; con cuidado para no formar burbujas.
6. Purgar los filtros con medio de disolución antes de filtrar.
7. Tomar muestras de los tiempos de muestreo previamente establecidos, sin reposición del medio. Depositar en tubos de ensayo.
8. Hacer diluciones; tomar 1 mL de cada alícuota y transferirlos a un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a volumen con solución amortiguadora de acetatos pH 4.5
9. Leer las diluciones en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 294 nm, usando como blanco el medio de disolución.

Llevar a cabo este procedimiento 2 veces para cada lote de cada producto; se trabaja con 12 unidades.

Previamente se prepara y se lee una curva patrón para poder interpolar las absorbancias obtenidas en los perfiles y determinar la concentración de metronidazol disuelto a cada uno de los tiempos de muestreo.

Cálculos

1. Determinar la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación a partir de la curva patrón (graficar valores de absorbancia vs concentración).
2. Determinar la concentración de las muestras (X_i).

$$X_i = (Y_i - A)/B$$

Donde:

X_i = Concentración del principio activo (mg/ml) al i ésimo tiempo de muestreo.

Y_i = Absorbancia del principio activo en la preparación de la muestra al i ésimo tiempo de muestreo.

A = Ordenada al origen de la curva patrón.

B = Pendiente de la curva patrón.

3. Calcular los miligramos de principio activo disueltos en el volumen de muestra tomada al i ésimo tiempo de muestreo (E_i).

$$E_i = (X_i)(F_d)(v)$$

Donde:

F_d = Factor de dilución de la muestra.

v = Volumen de la muestra (ml).

4. Calcular los miligramos de principio activo disueltos al i ésimo tiempo de muestreo (D_i).

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i) + \sum_{i=0}^{n-1} E_i$$

Donde:

$$V_i = V_o - [(N-1)v]$$

V_i = Volumen del medio de disolución al i ésimo tiempo de muestreo.

V_o = Volumen inicial del medio de disolución.

N = Número de extracciones.

5. Calcular el % disuelto de principio activo al i ésimo tiempo de muestreo (% D_i).

$$\%D_i = (D_i/Dosis) \times 100$$

ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN

D_i = Miligramos del principio activo disueltos al i ésimo tiempo de muestreo.

Dosis = Miligramos de principio activo indicados en la etiqueta.

6. Una vez calculado el % disuelto en cada tiempo, determinar el promedio, la desviación estándar y el porcentaje del coeficiente de variación.
7. Realizar los gráficos del % disuelto promedio vs tiempo para cada lote en estudio.
8. Calcular el factor de similitud (f_2) para comparar los perfiles de disolución.

Si el coeficiente de variación del % disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los siguientes tiempos, se utiliza el factor de similitud (f_2) para comparar los perfiles.

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

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

R_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto de referencia.

P_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto de prueba.

Criterio de aceptación del factor f_2

Obtener un valor entre 50 y 100 indica que los perfiles de disolución son similares; siempre y cuando se hayan cumplido las consideraciones que se señalan para el factor de similitud.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA

5.1.1 LINEALIDAD

En la tabla 4 y en la figura 4 se observa que el sistema es lineal dentro del intervalo de concentraciones de 1.25 µg/mL - 12.5 µg/mL, cumpliendo con el criterio de aceptación con un coeficiente de correlación igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión menor al 2%.

Tabla 4. Valores de absorbancia de 2 curvas para determinar la linealidad del sistema.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia λ= 294 nm	
	Curva 1	Curva 2
1.41	0.046	0.047
2.83	0.094	0.094
5.65	0.183	0.185
8.48	0.273	0.273
11.3	0.361	0.363
14.13	0.452	0.452
Intercepto A	0.002786	0.003690
Pendiente B	0.031796	0.031787
Coefficiente de correlación r	0.9999	0.9999
% Error relativo debido a la regresión	0.63%	

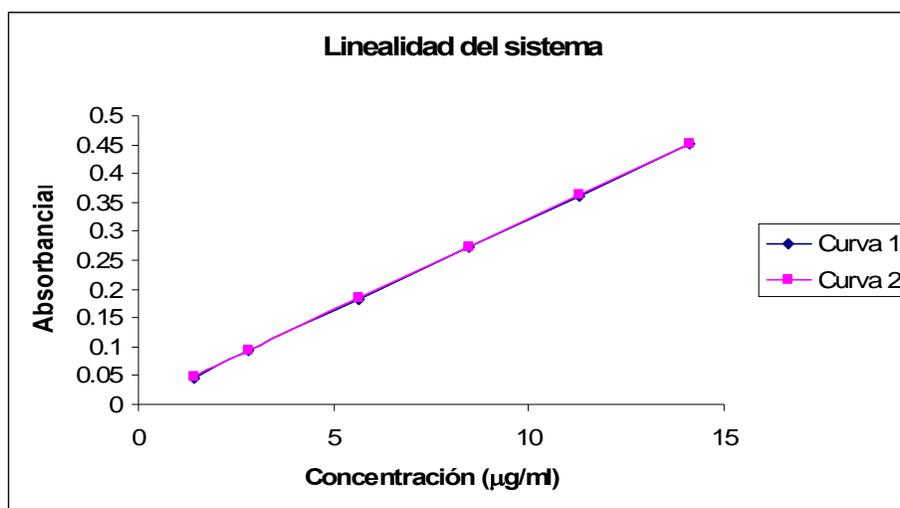


Figura 4. Linealidad del sistema para la cuantificación de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5.

5.1.2 PRECISIÓN

En la tabla 5 se observa que el factor de respuesta obtenido en la precisión del sistema es menor al 2% para ambas curvas de calibración por lo que, según los criterios de aceptación, el sistema es preciso.

Tabla 5. Factor de respuesta obtenido a partir de las absorbancias de las 2 curvas de linealidad del sistema.

Concentración (µg/mL)	Factor de respuesta (Absorbancia/Concentración)	
	Curva 1	Curva 2
1.41	0.0326	0.0333
2.83	0.0334	0.0334
5.65	0.0324	0.0327
8.48	0.0322	0.0322
11.3	0.0320	0.0321
14.13	0.0320	0.0320
%CV	1.54%	

5.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

5.2.1 LINEALIDAD

Los resultados de linealidad para las suspensiones de benzoilmetronidazol (Flagyl, Flagenase y Ameblin), se encuentran dentro de las especificaciones indicadas en las NOM-177-1-SSA-1998, ya que presentan un coeficiente de correlación mayor al 0.99 y un error relativo debido a la regresión (% EER) no mayor al 3% (tablas 6, 7 y 8). Por lo tanto el método es lineal en el intervalo de concentración de 1.25 µg/mL a 12.5 µg/mL.

Tabla 6. Valores de absorbancia de las 3 curvas de Flagyl para determinar la linealidad del método.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia $\lambda= 294 \text{ nm}$		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.31	0.019	0.02	0.021
2.62	0.046	0.046	0.045
5.23	0.093	0.094	0.093
7.85	0.14	0.139	0.14
10.46	0.182	0.18	0.18
13.08	0.226	0.228	0.225
Intercepto A	-0.000501	-0.000151	0.000496
Pendiente B	0.017492	0.017465	0.017295
Correlación R	0.9995	0.9996	0.9995
% EER	2.12		

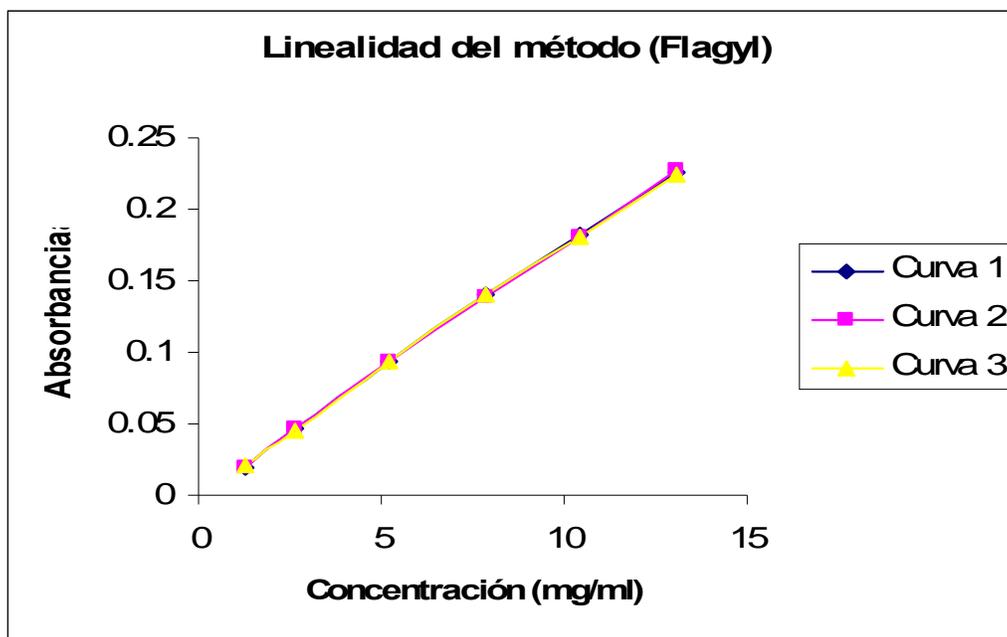


Figura 5. Representación gráfica de las 3 curvas de Flagyl para determinar la linealidad del método.

Tabla 7. Valores de absorbancia de las 3 curvas de Flagenase para determinar la linealidad del método.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia $\lambda=294\text{ nm}$		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.24	0.008	0.009	0.007
2.48	0.015	0.016	0.014
4.96	0.029	0.031	0.028
7.44	0.045	0.046	0.044
9.92	0.06	0.063	0.061
12.4	0.072	0.078	0.075
Intercepto A	0.000726	0.000625	-0.001397
Pendiente B	0.005844	0.006224	0.006175
Correlación R	0.9993	0.9997	0.9995
% EER	1.97		

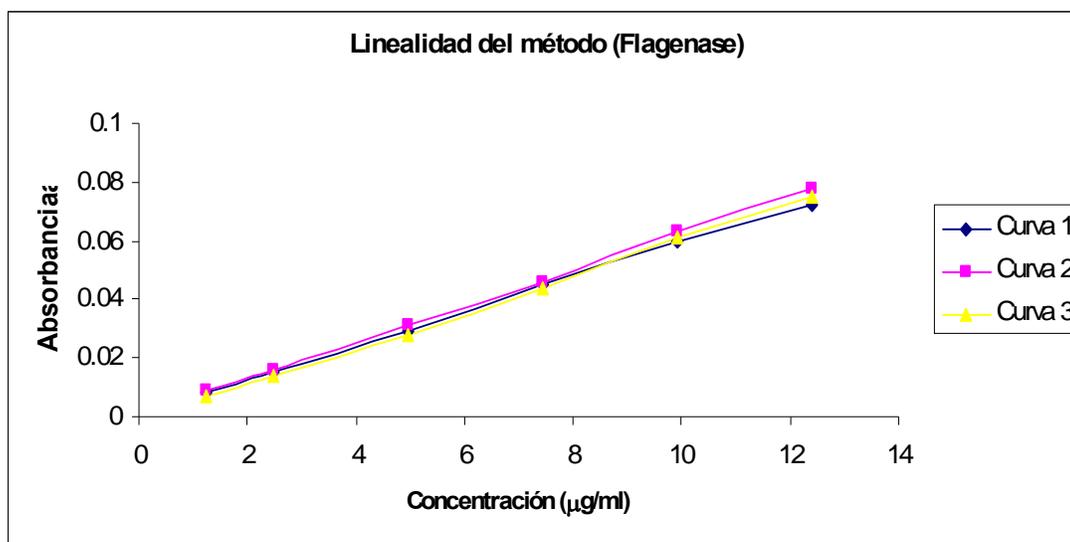


Figura 6. Representación gráfica de las 3 curvas de Flagenase para determinar la linealidad del método.

Tabla 8. Valores de absorbancia de las 3 curvas de Ameblin para determinar la linealidad del método.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia $\lambda= 294 \text{ nm}$		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.27	0.022	0.022	0.022
2.54	0.047	0.048	0.048
5.08	0.09	0.091	0.09
7.62	0.132	0.131	0.133
10.16	0.183	0.183	0.183
12.7	0.228	0.227	0.226
Intercepto A	-0.00063	0.000219	0.000389
Pendiente B	0.017927	0.017797	0.017772
Correlación R	0.9996	0.9994	0.9997
% EER	1.26		

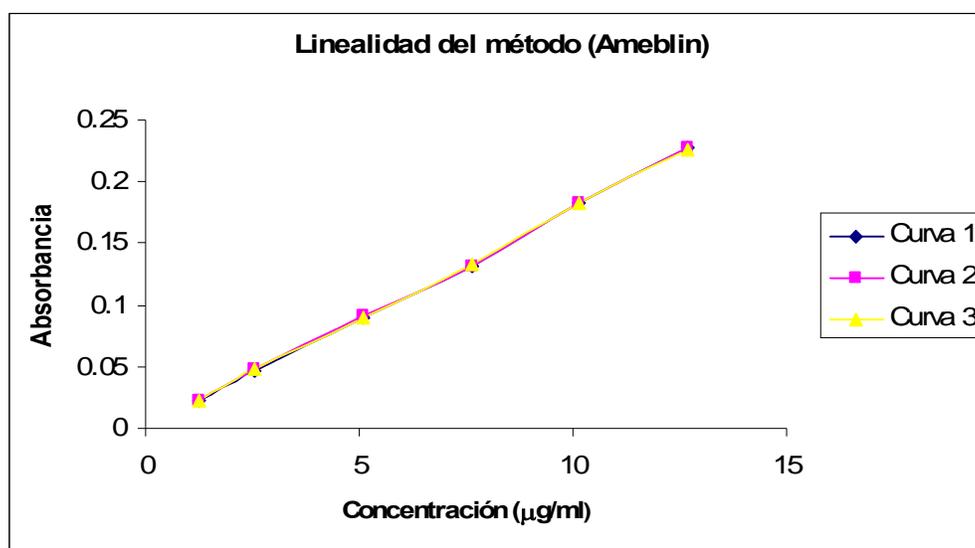


Figura 7. Representación gráfica de las 3 curvas de Ameblin para determinar la linealidad del método.

5.2.2 Exactitud

En las tablas 9, 10 y 11 se muestran los resultados de exactitud obtenidos a partir de los datos de linealidad. En el producto de referencia y en el Flagenase se observa que el valor mas bajo se sale del límite; mientras que en el Ameblin el valor correspondiente a la concentración de $2.5 \mu\text{g/mL}$ rebasa el límite. Las demás concentraciones tienen valores para la desviación

estándar absoluta menores al 3% por lo que cumplen con el criterio de aceptación a excepción del primer punto.

Tabla 9. Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (absorbancia vs concentración) del producto de referencia (Flagyl) para determinar la exactitud del método.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (calculada)			PROMEDIO	%DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
1.31	1.11	1.15	1.19	1.15	11.94
2.62	2.66	2.64	2.57	2.62	0.37
5.23	5.35	5.39	5.35	5.36	2.51
7.85	8.03	7.97	8.07	8.02	2.25
10.46	10.43	10.31	10.38	10.38	0.81
13.08	12.95	13.06	12.98	13.0	0.59

Tabla 10. Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (absorbancia vs concentración) del producto de prueba (Flagenase) para determinar la exactitud del método.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (calculada)			PROMEDIO	%DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
1.24	1.24	1.35	1.36	1.32	6.19
2.48	2.44	2.47	2.49	2.47	0.46
4.96	4.84	4.88	4.76	4.83	2.70
7.44	7.58	7.29	7.35	7.41	0.46
9.92	10.14	10.02	10.10	10.09	1.71
12.4	12.20	12.43	12.37	12.33	0.54

Tabla 11. Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (absorbancia vs concentración) del producto de prueba (Ameblin) para determinar la exactitud del método.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) obtenida a partir de la curva (calculada)			PROMEDIO	%DEA
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
1.27	1.26	1.22	1.22	1.23	2.83
2.54	2.66	2.68	2.68	2.67	5.26
5.08	5.06	5.10	5.04	5.07	0.27
7.62	7.40	7.35	7.46	7.40	2.85
10.16	10.24	10.27	10.28	10.26	1.01
12.7	12.75	12.74	12.70	12.73	0.24

5.2.3 Precisión

5.2.3.1 Repetibilidad

El %CV debe ser menor al 3% para que cumpla con los criterios de aceptación de repetibilidad; éste valor no cumple para el primer punto del producto Flagenase, en el producto de referencia en la concentración mas baja el %CV se encuentra en el límite; el Ameblin si cumple en todas las concentraciones. Los valores se observan en las tablas 12, 13 y 14.

Tabla 12. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Flagyl determinadas a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)			PROMEDIO	DE	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
1.31	1.11	1.15	1.19	1.15	0.04	3.07
2.62	2.66	2.64	2.57	2.62	0.05	1.73
5.23	5.35	5.39	5.35	5.36	0.03	0.47
7.85	8.03	7.97	8.07	8.02	0.05	0.62
10.46	10.43	10.31	10.38	10.38	0.06	0.57
13.08	12.95	13.06	12.98	13.0	0.06	0.46

Tabla 13. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Flagenase determinadas a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)			PROMEDIO	DE	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
1.24	1.24	1.35	1.36	1.32	0.06	4.77
2.48	2.44	2.47	2.49	2.47	0.03	1.03
4.96	4.84	4.88	4.76	4.83	0.06	1.26
7.44	7.58	7.29	7.35	7.41	0.15	2.03
9.92	10.14	10.02	10.10	10.09	0.06	0.61
12.4	12.20	12.43	12.37	12.33	0.12	0.99

Tabla 14. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Ameblin determinados a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)			PROMEDIO	DE	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
1.27	1.26	1.22	1.22	1.23	0.02	2.01
2.54	2.66	2.68	2.68	2.67	0.01	0.55
5.08	5.06	5.10	5.04	5.07	0.03	0.60
7.62	7.40	7.35	7.46	7.40	0.06	0.77
10.16	10.24	10.27	10.28	10.26	0.02	0.17
12.7	12.75	12.74	12.70	12.73	0.03	0.24

5.2.3.2 Reproducibilidad

El método es reproducible para Flagyl (tabla 15), para el producto de prueba Flagenase, el método es reproducible a partir de la segunda concentración ($2.5 \mu\text{g/mL}$) al igual que para el Ameblin (tablas 16 y 17 respectivamente). El %CV es menor al 3%. (Ver apéndice).

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Tabla 15. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Flagyl determinados a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración de dos días diferentes (curvas 1-3 primer día y curvas 4-6 segundo día).

Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)						PROMEDIO	DE	%CV
Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6			
1.11	1.15	1.19	1.10	1.10	1.12	1.13	0.03	2.89
2.66	2.64	2.57	2.59	2.59	2.55	2.60	0.04	1.58
5.35	5.39	5.35	5.28	5.28	5.30	5.33	0.04	0.80
8.03	7.97	8.07	7.98	7.98	8.0	8.00	0.04	0.49
10.43	10.31	10.38	10.04	10.04	10.06	10.21	0.19	1.82
12.95	13.06	12.98	12.84	12.84	12.81	12.91	0.10	0.77

Tabla 16. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Flagenase determinados a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración de dos días diferentes (curvas 1-3 primer día y curvas 4-6 segundo día).

Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)						PROMEDIO	DE	%CV
Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6			
1.24	1.35	1.36	1.21	1.07	1.16	1.23	0.11	9.13
2.44	2.47	2.49	2.47	2.50	2.43	2.47	0.03	1.07
4.84	4.88	4.76	4.99	5.00	4.98	4.91	0.10	1.99
7.58	7.29	7.35	7.33	7.50	7.71	7.46	0.16	2.19
10.14	10.02	10.10	9.67	9.83	9.47	9.87	0.26	2.68
12.20	12.43	12.37	12.38	12.15	12.44	12.33	0.12	0.99

Tabla 17. Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$) del Ameblin determinados a partir de la ecuación de la recta obtenida al graficar absorbancia vs concentración de dos días diferentes (curvas 1-3 primer día y curvas 4-6 segundo día).

Concentración calculada ($\mu\text{g/mL}$)						PROMEDIO	DE	%CV
Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6			
1.26	1.22	1.22	1.31	1.31	1.30	1.27	0.04	3.34
2.66	2.68	2.68	2.78	2.73	2.73	2.71	0.04	1.60
5.06	5.10	5.04	5.10	5.17	5.18	5.11	0.06	1.09
7.40	7.35	7.46	7.47	7.49	7.51	7.45	0.06	0.84
10.24	10.27	10.28	10.64	10.55	10.54	10.42	0.18	1.68
12.75	12.74	12.70	13.01	13.05	13.05	12.88	0.17	1.31

5.2.4 Estabilidad del benzoilmetronidazol

Se determinó la estabilidad de cada uno de los productos en estudio (Flagyl, Flagenase y Ameblin) y el estándar de benzoilmetronidazol, observándose que los compuestos son estables a temperatura ambiente, pero a 37°C el %CV de los productos en estudio es mas alto que el aceptado (3%). El estándar si cumple con el criterio establecido a 37°C durante un tiempo de 3 horas. (Resultados en apéndice)

5.2.5 Especificidad

La especificidad de cada uno de los productos y de la materia prima de benzoilmetronidazol se muestra en las figuras 8, 9, 10 y 11, en las cuales se observa un solo pico a la misma longitud de onda (320 nm), que es la máxima absorción del metronidazol a pH 4.5. (Ver apéndice)

Materia prima

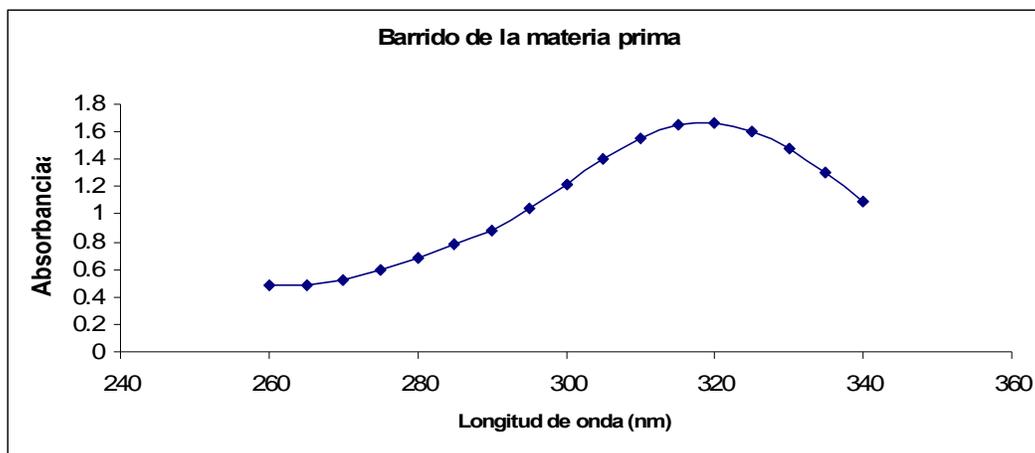


Figura 8. Barrido de materia prima de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5.

Flagyl

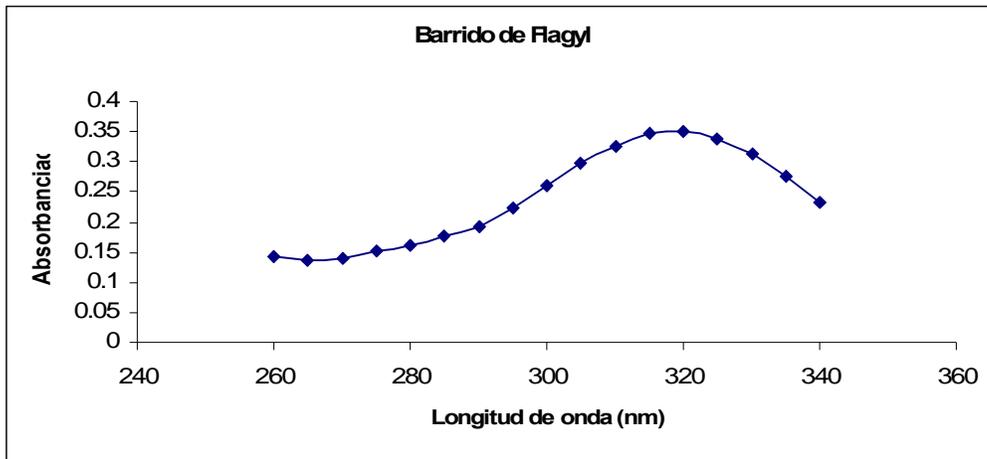


Figura 9. Barrido de Flagyl en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, (concentración de solución: 10µg/mL).

Flagenase

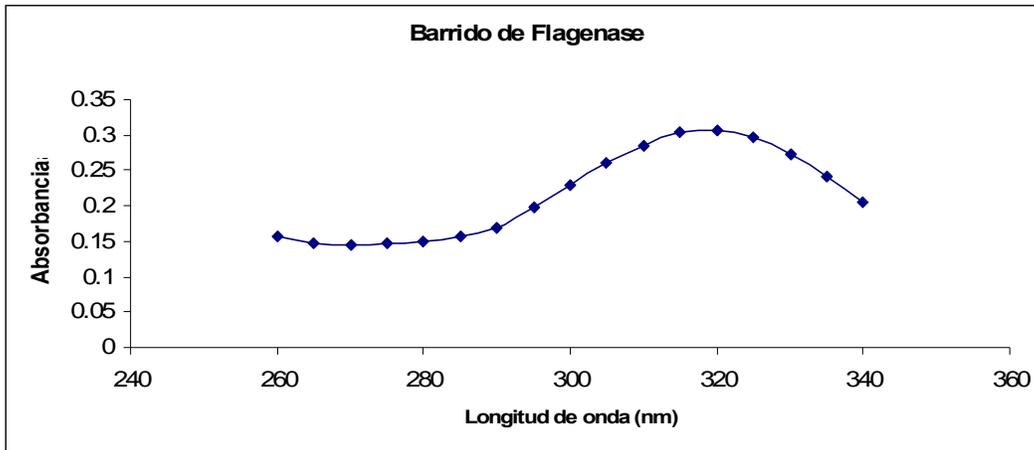


Figura 10. Barrido de Flagenase en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, (concentración de solución: 10µg/mL).

Ameblin

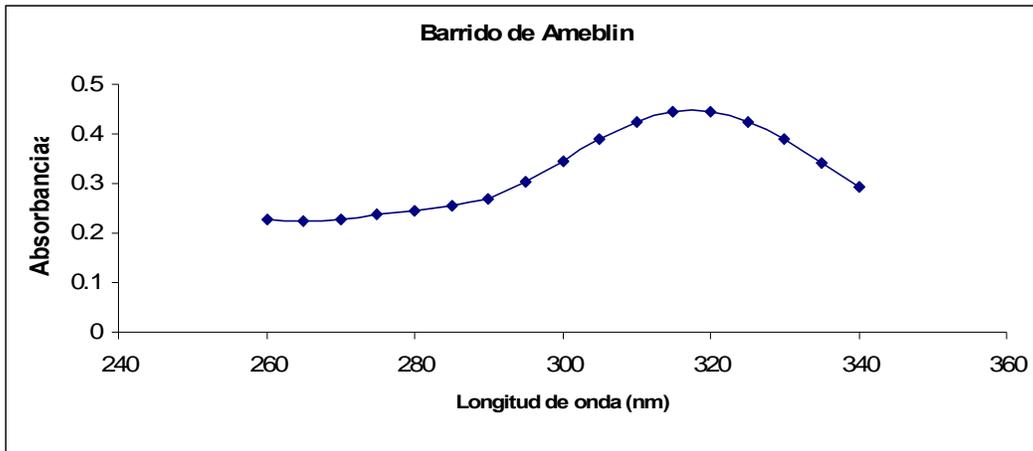


Figura 11. Barrido de Ameblin en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, (concentración de solución: 10µg/mL).

En la figura 12 se observan 2 curvas muy similares; éstas son el barrido de la materia prima de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos y en solución amortiguadora de fosfatos a pH 4.5. Esto con el fin de demostrar que el medio de disolución no influye en la absorción del benzoilmetronidazol; la longitud de onda máxima de absorción es a 320 nm.

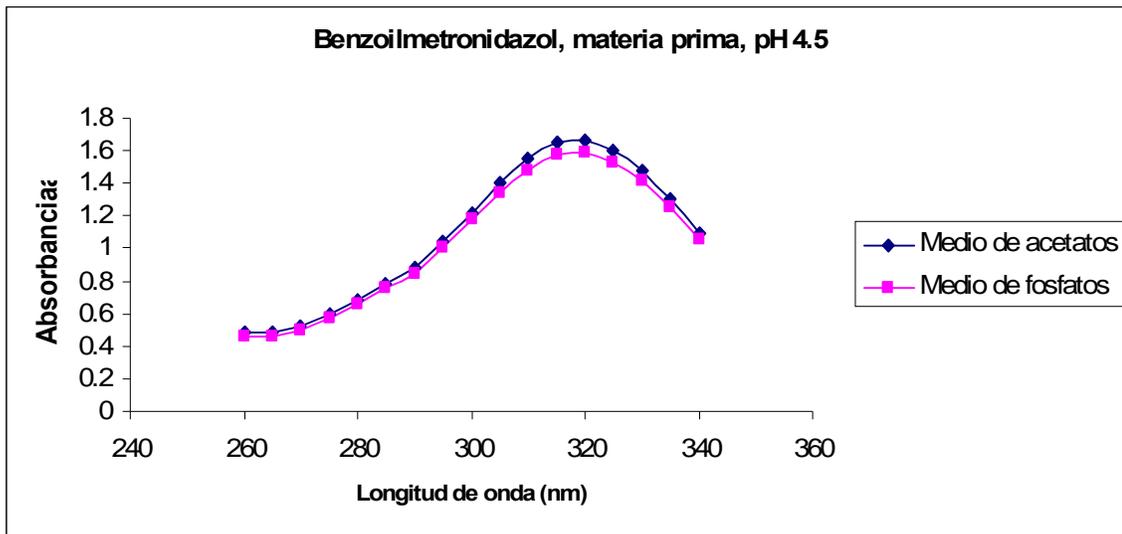


Figura 12. Barrido de materia prima de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5, (concentración de solución: 10µg/mL).

5.2.6 Influencia del filtro

Se utilizaron 3 filtros, 2 de teflón con diferente tamaño de poro y uno de membrana, en la tabla 18 se muestran los porcentajes adsorbidos promedio por cada filtro. El criterio de aceptación es menor al 2%; los 3 filtros cumplen con especificaciones; se decidió trabajar con el filtro de teflón de 35 μm . (Ver apéndice).

Tabla 18. Valores de % de adsorción del fármaco al filtro.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	% Adsorción del fármaco		
	Filtro de membrana	Filtro de teflón	Filtro de teflón
	0.45 μm	35 μm	70 μm
2.5	0.65%	0.65%	1.11%
10	1.21%	1.85%	1%

II. PERFILES DE DISOLUCIÓN

5.3 Estudio del perfil de disolución

En las siguientes tablas se muestra el porcentaje disuelto promedio de 0 a 90 minutos de cada lote trabajado de cada uno de los productos en estudio; las figuras indican el comportamiento de la curva de disolución del benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 (Ver apéndice).

Tabla 19. Perfil de disolución promedio del producto innovador, Flagyl, en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Valores de %Disuelto y %CV para los 2 lotes del producto.

Tiempo (min)	Lote B7C071		Lote B7E776	
	% Disuelto promedio n=12	% CV	% Disuelto promedio n=12	% CV
5	49.19	6.84	47.27	7.88
15	62.82	5.94	60.19	8.30
30	66.39	3.57	69.94	3.32
60	71.59	4.67	77.41	2.93
90	73.12	3.49	79.83	3.66

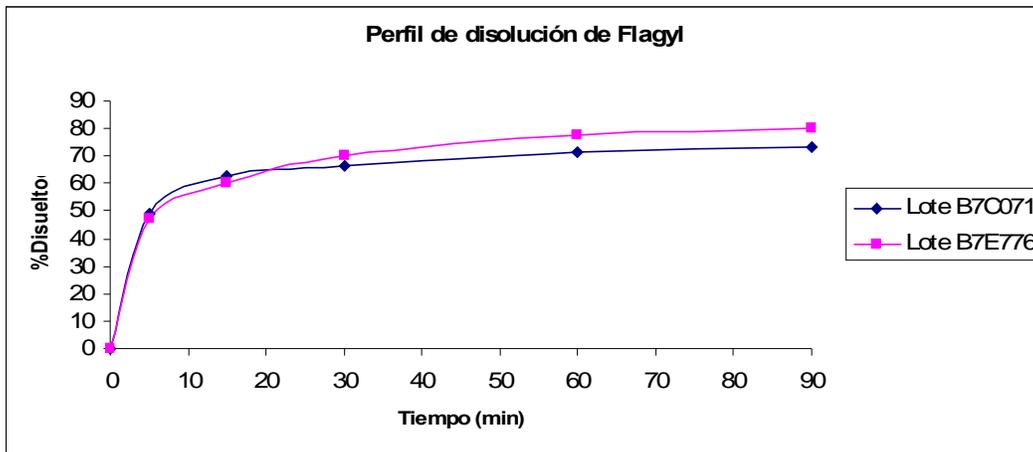


Figura 13. Representación gráfica de los perfiles de disolución de los 2 lotes del producto de referencia (Flagyl) en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5.

En la figura 13 se observa que no hay variabilidad entre los 2 lotes del Flagyl, y en los 90 minutos alcanzan un porcentaje disuelto del 73 a 79%.

Tabla 20. Perfil de disolución promedio del producto de prueba, Flagenase, en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Valores de %Disuelto y %CV para los 2 lotes del producto.

Tiempo (min)	Lote M10114		Lote P03137	
	% Disuelto promedio n=12	% CV	% Disuelto promedio n=12	% CV
5	16.90	5.59	29.93	5.51
15	25.04	2.99	42.04	6.52
30	32.71	4.25	47.49	4.41
60	37.58	2.20	52.82	4.18
90	42.77	1.91	54.14	6.29

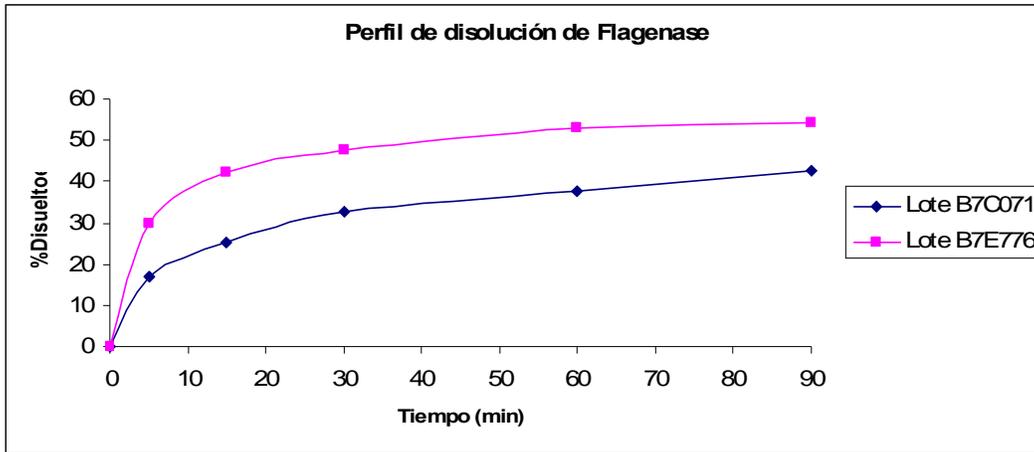


Figura 14. Representación gráfica de los perfiles de disolución de los 2 lotes del producto de prueba (Flagenase) en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5.

Existe una gran diferencia entre ambos lotes; sólo alcanzan una disolución del 54%.

Tabla 21. Perfil de disolución de Ameblin en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5. Valores de %Disuelto y %CV para los 2 lotes del producto.

Tiempo (min)	Lote 103		Lote 104	
	% Disuelto promedio n=12	% CV	% Disuelto promedio n=12	% CV
5	35.23	7.64	47.21	4.59
15	40.11	8.85	56.35	5.44
30	42.17	9.29	62.99	6.47
60	44.07	10.94	68.59	9.28
90	44.99	10.75	72.12	9.96

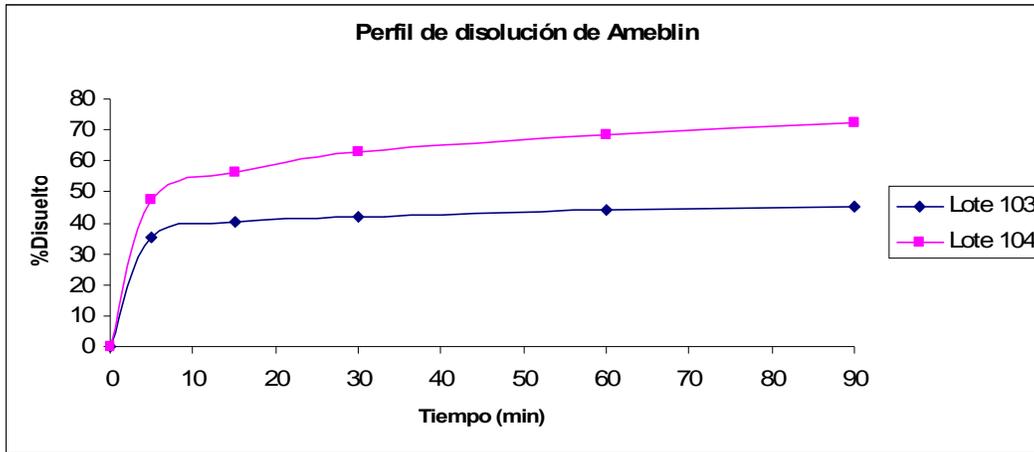


Figura 15. Representación gráfica de los perfiles de disolución de los 2 lotes del producto de prueba (Ameblin) en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5.

Ambos perfiles presentan la misma curva, pero el porcentaje disuelto es casi el doble en uno de los lotes. En solución amortiguadora de acetatos pH 4.5, el producto de referencia Ameblin en 90 minutos tiene una disolución del 44 al 72%.

Se encontraron diferencias entre fabricantes y entre lotes del mismo fabricante por lo que es importante la aplicación de f_2 o de la prueba de disolución como prueba de control de calidad entre lotes.

5.4 Factor de similitud

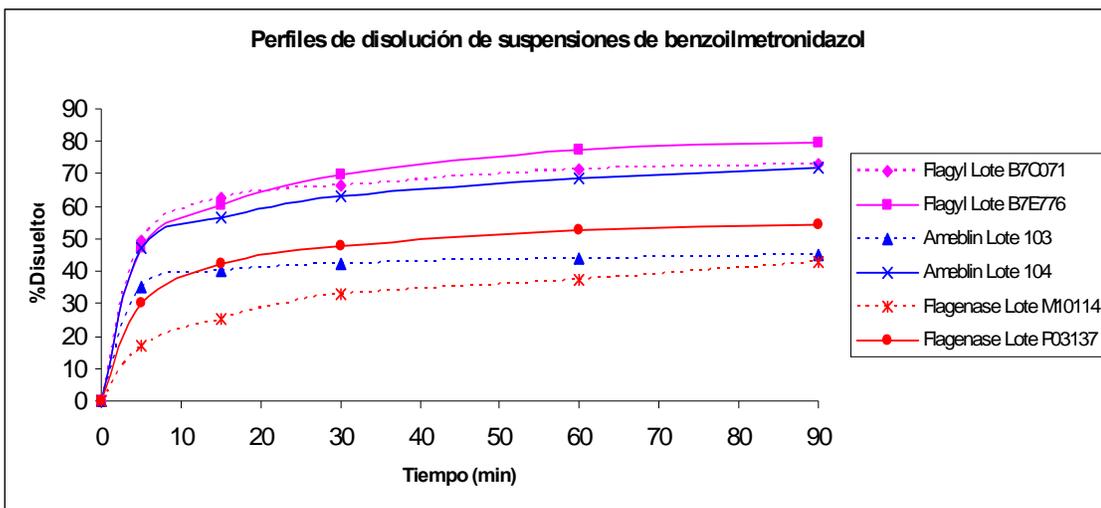
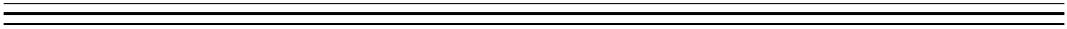


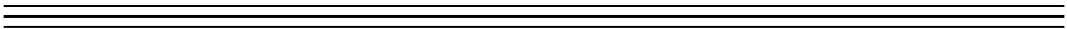
Figura 16. Representación gráfica de los perfiles de disolución de cada uno de los 2 lotes de los productos estudiados a pH 4.5.

En la figura 16 se observan los 6 perfiles de disolución de los productos estudiados. Éstos presentan mucha variabilidad entre ellos, inclusive entre lotes del mismo producto (Ameblin) siendo el Flagelase el que menos se disuelve.

Para poder aplicar el factor de similitud los productos de prueba deben cumplir con ciertos requerimientos, como: a) idénticos tiempos de muestreo, b) 5 tiempos mínimo de muestreo, c) mismas condiciones operacionales, d) un coeficiente de variación del por ciento disuelto no mayor al 20% para el primer tiempo de muestreo y no mayor del 10% para los tiempos subsecuentes y e) una valoración no mayor al 5% de lo indicado en el marbete. De estos requerimientos, los productos (Ameblin y Flagenase) cumplen con los primeros 3 incisos (a, b y c), sin embargo, el inciso d no lo cumple Ameblin ya que el %CV del por ciento disuelto del lote 103 a los 60 y 90 minutos es mayor al 10%; el Flagenase no cumple con el inciso e; el resultado de la valoración se obtuvo de una tesis hecha en el mismo laboratorio: “Estudio de perfiles de disolución a pH 1.2 de dos productos farmacéuticos conteniendo benzoilmetronidazol en suspensión”. Mencionado lo anterior, no es posible aplicar la prueba f_2 .



6. CONCLUSIONES



En base a los objetivos planteados para este estudio, se puede concluir lo siguiente:

- El sistema en el cual se determinó la cantidad de metronidazol disuelto en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 es lineal y preciso.
- El método espectrofotométrico utilizado para cuantificar metronidazol en solución amortiguadora de acetatos es lineal, exacto y preciso en el intervalo de 2.5 $\mu\text{g/mL}$ a 12.5 $\mu\text{g/mL}$. (Para los productos de prueba (Flagenase y Ameblin) el %CV a la menor concentración (1.25 $\mu\text{g/mL}$) no cumple con el criterio de aceptación).
- Los lotes de los productos de prueba, y los del producto de referencia no alcanzan el 100% disuelto a los 90 minutos a pH 4.5
- Las suspensiones de benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 no presentan perfiles de disolución homogéneos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Abdou H.M., Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence, Mck Printing Company, Pennsylvania 1989.
2. Aiache J.M., Devissaguet J.P., Guyot-Hermann A.M., Biofarmacia, Editorial Manual Moderno, México 1983.
3. Bempong D.K., Manning R.G., Mirza T., Bhattacharyya L., A stability-indicating HPLC assay for metronidazole benzoate, The United States Pharmacopeia, 2005.
4. Chapman and Hall, Dictionary of Drugs. Chemical data, structures and bibliographies, Editors J. Elks, C.R. Garellin, Scientific Data Division.
5. Cohen J. L., B.B. Hubert, L.J. Leeson, C.T. Rhodes, J.R. Robinson, T.J. Roseman, E. Shefter, The Development of USP Dissolution and Drug Release Standards, Research, 1990.
6. Covington T.R., Dipalma J.R., Hussar D.A., Lasagna L., Tatro D.S., Whitselt T.L., Drugs Facts and Comparisons, J.B. Lippincott Company, USA 1984.
7. Dressman et al., Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms, Pharmaceutical Research, 1998.
8. Facultad de Química, Manual de Laboratorio de Biofarmacia, UNAM, 2005.
9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Octava Edición, México, 2004.
10. Garza G.M., Evaluación del perfil de disolución de productos conteniendo propanol, metronidazol y captopril de acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, 2006.
11. Goodman y Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 8ª Edición, Pergamon Press, Mc Graw Hill Interamericana, 1996.
12. Gordon L. Amidon, Theoretical Basis for Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in vivo Drug Product Dissolution and in vivo Bioavailability. Pharmaceutical Research, 1995.
13. Guía para la Industria. Estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente. Consideraciones generales, U.S. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los

- Estados Unidos Administración de Alimentos y Medicamentos, Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos (CDER), Octubre 2000.
14. Guidance for Industry. Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate – Release Solid Oral Dosage Forms base on a Biopharmaceutical Classification System, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, August 2000.
 15. Hacia una política farmacéutica integral para México, D.R., Secretaría de Salud, Primera Edición, México 2005.
 16. Hernández R.M., Influencia de disolución y factores de la formulación sobre la velocidad de disolución de suspensiones de Benzoilmetronidazol, Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, 2001.
 17. Ley General de Salud.
 18. Malcom Rowland, Pharmacokinetics: Concepts and Applications, Department of Pharmacy, Lea & Febiger, 1980.
 19. Martindale, Guía completa de consulta farmacoterapéutica, 2ª Edición, Pharma Editores, Barcelona 2006.
 20. Martindale, The Extra Pharmacopeia, Thirty-first Edition, April 1996.
 21. Michael Aulton, Farmacía. La Ciencia del Diseño de las formas farmacéuticas, 2ª Edición, Publicación Elsevier España S.A., 2004.
 22. Moore J.W., Flanner H.H., Mathematical comparison of dissolution profiles, Pharmaceutical Technology, 1996.
 23. Nájera S.M.E., Estudio de perfiles de disolución a pH 1.2 de dos productos comerciales conteniendo benzoilmetronidazol en suspensión, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 2009.
 24. NOM-EM-003-SSA-1-1998. Medicamentos Genéricos Intercambiables. Criterios y requisitos de las pruebas para demostrar la intercambiabilidad y requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados. Diario Oficial, 25 Mayo 1998.
 25. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA-1-1998. “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”.

26. PROY-NOM-177-SSA-2004. “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”.
27. Reglamento de Insumos para la Salud.
28. Remington Gennaro, Farmacología, 19ª Edición, Tomo I, Editorial Médica Panamericana, 2003.
29. Sanchez S.P., Estudio de perfiles de disolución a pH 4.5 cuantificados por HPLC de dos productos comerciales conteniendo dexametasona, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 2008.
30. Shah N., Sheth B., Effect of polymers on dissolution from drug suspensions, J. Pharm. Science, 1976.
31. Skoug J., Halstead G.W., Theirs D.L., Freeman J.E., Fagam D.T., Rhos B.R., Strategy for development and validation of dissolution test for solid oral dosage forms, Pharm. Tech., 1996.
32. Strum J.D., J. Colaissi, T. Goehl, J.M.Jaffe, W. Pitlick, V. Shah, R. Poust, Bioavailability of sulfonamide suspensions I: Dissolution profiles of sulfamethizole using paddle method, The Pharmaceutical Codex, 11ª Edición, 1979.
33. The Merck Index, Thirteenth edition, 2001.
34. United States Pharmacopeia, 2007.

7.1 Fuentes electrónicas

- a. www.cofepris.com.mx
- b. www.vademecum.es
- c. www.salud.gob.mx
- d. www.salud.gob.mx/csg/publica/genericos

8. APÉNDICE

▪ **Reproducibilidad**

Los resultados que se presentan en las siguientes tablas (22-27) corresponden a las absorbancias obtenidas en las 6 curvas de cada producto (3 curvas un día y 3 curvas otro día) a partir de las cuales se obtiene la concentración calculada a partir de la curva de absorbancia vs concentración (tablas 15, 16 y 17) para evaluar la precisión del método en días diferentes.

1^{er} día

Tabla 22. Absorbancias de 3 curvas del producto innovador, Flagyl, a 294 nm el 14 noviembre 2008.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.31	0.019	0.02	0.021
2.62	0.046	0.046	0.045
5.23	0.093	0.094	0.093
7.85	0.14	0.139	0.14
10.46	0.182	0.18	0.18
13.08	0.226	0.228	0.225

Tabla 23. Absorbancias de 3 curvas del producto de prueba, Flagenase, a 294 nm el 4 marzo 2009.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.24	0.008	0.009	0.007
2.48	0.015	0.016	0.014
4.96	0.029	0.031	0.028
7.44	0.045	0.046	0.044
9.92	0.06	0.063	0.061
12.4	0.072	0.078	0.075

Tabla 24. Absorbancias de 3 curvas del producto de referencia, Ameblin, a 294 nm el 14 noviembre 2008.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.27	0.022	0.022	0.022
2.54	0.047	0.048	0.048
5.08	0.09	0.091	0.09
7.62	0.132	0.131	0.133
10.16	0.183	0.183	0.183
12.7	0.228	0.227	0.226

2° día

Tabla 25. Absorbancias de 3 curvas del producto innovador, Falgyl, a 294 nm el 21 noviembre 2008.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.29	0.019	0.02	0.019
2.57	0.045	0.046	0.044
5.14	0.092	0.093	0.092
7.71	0.139	0.14	0.139
10.28	0.175	0.176	0.175
12.85	0.224	0.225	0.223

Tabla 26. Absorbancias de 3 curvas del producto de prueba, Flagenase, a 294 nm el 17 marzo 2009.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.23	0.006	0.006	0.007
2.46	0.013	0.014	0.014
4.91	0.027	0.028	0.028
7.37	0.04	0.042	0.043
9.82	0.053	0.055	0.053
12.28	0.068	0.068	0.069

Tabla 27. Absorbancias de 3 curvas del producto de prueba, Ameblin, a 294 nm el 21 noviembre 2008.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1.3	0.023	0.023	0.023
2.6	0.049	0.048	0.048
5.2	0.09	0.091	0.091
7.8	0.132	0.132	0.132
10.4	0.188	0.186	0.185
13	0.23	0.23	0.229

A cada una de las curvas se les determinó el intercepto, la pendiente y el coeficiente de correlación; posteriormente en conjunto se obtuvo el promedio, la desviación estándar y el por ciento del coeficiente de variación.

▪ **Estabilidad de la muestra**

En las tablas 28 y 29 se muestran las absorbancias obtenidas de 0 a 180 minutos de los productos en estudio y del estándar de benzoilmetronidazol a temperatura ambiente (tabla 28) y a 37°C (tabla 29). Se determinó la media y el %CV.

Tabla 28. Absorbancias de los productos farmacéuticos en estudio y el estándar de benzoilmetronidazol tomadas a temperatura ambiente.

Tiempo (min)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm			
	Std. benzoilmtz.	Ameblin	Flagyl	Flagenase
0	0.291	0.086	0.031	0.023
30	0.290	0.086	0.032	0.024
60	0.292	0.085	0.032	0.022
90	0.291	0.086	0.031	0.024
120	0.292	0.087	0.032	0.023
150	0.294	0.087	0.032	0.024
180	0.295	0.090	0.033	0.024
Promedio	0.292	0.087	0.032	0.023
%CV	0.61%	1.84%	2.16%	3.42%

Tabla 29. Absorbancias de los productos farmacéuticos en estudio y el estándar de benzoilmetronidazol tomadas a 37°C.

Tiempo (min)	Absorbancia $\lambda = 294$ nm			
	Std. benzoilmtz.	Ameblin	Flagyl	Flagenase
0	0.291	0.086	0.031	0.023
30	0.291	0.087	0.034	0.024
60	0.290	0.091	0.035	0.027
90	0.295	0.093	0.037	0.028
120	0.298	0.099	0.042	0.032
150	0.303	0.104	0.044	0.034
180	0.303	0.105	0.044	0.036
Promedio	0.296	0.095	0.038	0.029
%CV	1.89%	8.18%	13.71%	17.18%

▪ **Especificidad**

La siguiente tabla (30) muestra las absorbancias obtenidas en el barrido de cada producto en un intervalo de longitud de onda de 260 – 340 nm. Las celdas sombreadas en rojo indican la longitud de onda a la que se leyeron las muestras; las celdas sombreadas en amarillo indican la máxima absorción, que es a 320 nm.

La toma de las absorbancias de los estándares fueron hechas con el fin de observar que a 294 nm tienen la misma absorbancia o muy similar (figura 17).

Tabla 30. Barrido de los productos en estudio y los estándares de metronidazol y benzoilmetronidazol para determinar la especificidad de las muestras.

λ	Concentración de solución 10 μ g/ml					
	Std. metronidazol	Std. benzoilmtz.	Mat. prima benzoilmtz.	Ameblin	Flagyl	Flagelase
260	0.102	0.137	0.471	0.229	0.142	0.158
265	0.100	0.138	0.471	0.223	0.137	0.148
270	0.108	0.151	0.517	0.227	0.141	0.145
275	0.127	0.175	0.595	0.237	0.151	0.148
280	0.159	0.202	0.678	0.244	0.161	0.150
285	0.206	0.234	0.783	0.255	0.177	0.158
290	0.263	0.264	0.878	0.269	0.192	0.170
294	0.318	0.316	1.039	0.303	0.224	0.197
300	0.382	0.368	1.220	0.345	0.261	0.229
305	0.441	0.421	1.398	0.388	0.297	0.260
310	0.493	0.466	1.549	0.424	0.327	0.286
315	0.528	0.495	1.646	0.445	0.347	0.303
320	0.539	0.500	1.661	0.445	0.351	0.307
325	0.524	0.480	1.603	0.425	0.339	0.296
330	0.487	0.441	1.473	0.390	0.313	0.273
335	0.433	0.388	1.303	0.343	0.276	0.242
340	0.368	0.327	1.097	0.292	0.233	0.205

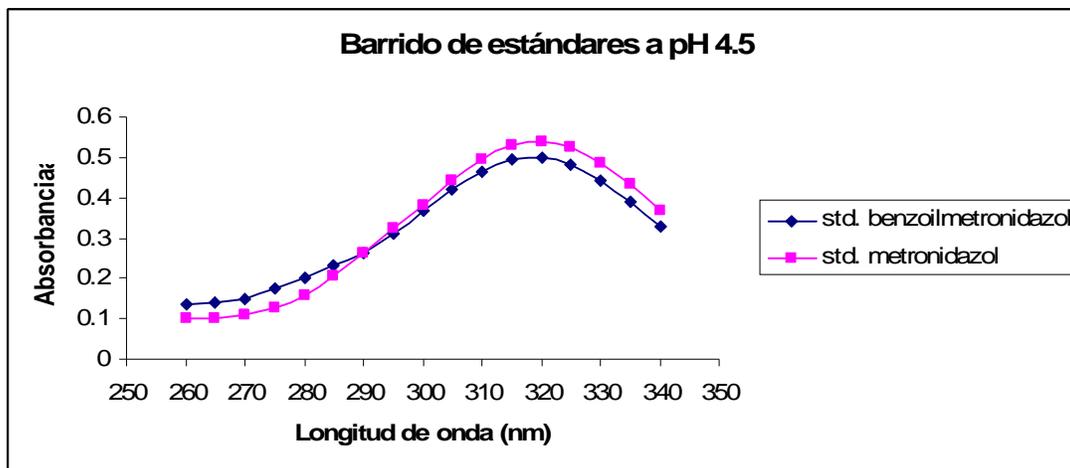


Figura 17. Barrido de los estándares de metronidazol y benzoilmetronidazol en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

En la tabla 31 se muestran las absorbancias de la materia prima en distintos medios de disolución: solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5; la figura 18 muestra que la absorbancia del metronidazol a 294 nm es igual en ambos medios.

Tabla 31. Barrido de la materia prima de benzoilmetronidazol en distintos medios de disolución.

Longitud de onda (λ)	Medio de acetatos	Medio de fosfatos
260	0.48	0.455
265	0.483	0.457
270	0.52	0.5
275	0.6	0.575
280	0.678	0.654
285	0.783	0.756
290	0.878	0.848
294	1.039	1.004
300	1.22	1.18
305	1.398	1.346
310	1.549	1.482
315	1.646	1.572
320	1.661	1.588
325	1.603	1.533
330	1.473	1.418
335	1.303	1.254
340	1.097	1.055

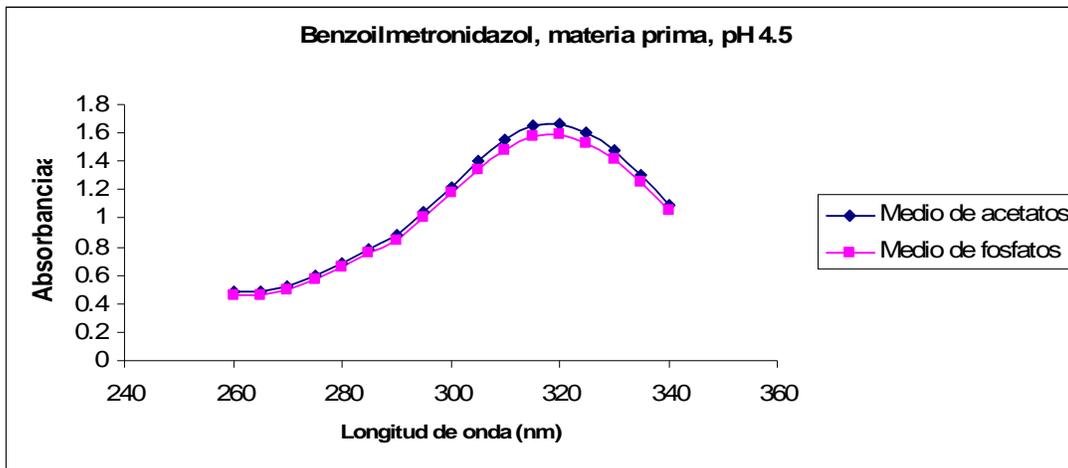


Figura 18. Barrido de la materia prima del benzoilmetronidazol en distintos medios de disolución (acetatos y fosfatos).

▪ **Influencia del filtro**

A continuación se muestran las absorbancias obtenidas en las soluciones de 2.5 y 10 µg/mL con los 3 filtros utilizados. En la tabla 32 se muestran las absorbancias de la solución con concentración menor del filtro de teflón de 35 µm y el filtro de membrana, en la tabla 33 las absorbancias del filtro de teflón de 70 µm; en las tablas 35 y 36 se observan las de la concentración mayor.

Tabla 32. Absorbancias para determinar la influencia del filtro en una solución de 2.5 µg/mL.

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$		
	Sin filtrar	Filtro teflón 35 µm	Filtro membrana 0.45 µm
1	0.064	0.064	0.064
2	0.065	0.064	0.064
3	0.066	0.065	0.065
4	0.064	0.064	0.064
5	0.065	0.064	0.064
6	0.065	0.065	0.065

Tabla 33. Absorbancias para determinar la influencia del filtro en una solución de 2.5 µg/mL.

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$	
	Sin filtrar	Filtro teflón 70 µm
1	0.076	0.075
2	0.076	0.075
3	0.077	0.076
4	0.075	0.074
5	0.076	0.075
6	0.075	0.075

Para determinar la influencia del filtro se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Incremento} = \text{Absorbancia}_{\text{sin filtrar}} - \text{Absorbancia}_{\text{filtrada}} / \text{Absorbancia}_{\text{filtrada}} \times 100$$

En la tabla 34 se observa el porcentaje y el promedio retenido por cada filtro en cada una de las 6 tomas.

Tabla 34. Porcentaje de adsorción del fármaco a cada uno de los filtros en una solución con concentración de 2.5 µg/mL

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$		
	Filtro teflón 35 µm	Filtro teflón 70 µm	Filtro membrana 0.45 µm
1	0%	1.33%	0%
2	1.56%	1.33%	1.56%
3	0.77%	1.32%	0.77%
4	0%	1.35%	0%
5	1.56%	1.33%	1.56%
6	0%	0%	0%
Promedio	0.65%	1.11%	0.65%

Tabla 35. Absorbancias para determinar la influencia del filtro en una solución de 10 µg/mL.

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$		
	Sin filtrar	Filtro teflón 35 µm	Filtro membrana 0.45 µm
1	0.324	0.315	0.318
2	0.322	0.315	0.318
3	0.322	0.317	0.318
4	0.321	0.316	0.320
5	0.322	0.318	0.318
6	0.322	0.317	0.318

Tabla 36. Absorbancias para determinar la influencia del filtro en una solución de 10 µg/mL.

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$	
	Sin filtrar	Filtro teflón 70 µm
1	0.307	0.305
2	0.307	0.304
3	0.307	0.305
4	0.306	0.304
5	0.307	0.304
6	0.307	0.303

Tabla 37. Porcentaje de adsorción del fármaco a cada uno de los filtros en una solución con concentración de 10 µg/mL

	Absorbancia $\lambda = 294 \text{ nm}$		
	Filtro teflón 35 µm	Filtro teflón 70 µm	Filtro membrana 0.45 µm
1	2.85%	0.66%	1.89%
2	2.22%	0.99%	1.26%
3	1.58%	0.66%	1.26%
4	1.58%	0.66%	0.3%
5	1.26%	0.99%	1.26%
6	1.58%	1.32%	1.26%
Promedio	1.85%	1%	1.21%

▪ **Perfiles de disolución**

Para cada uno de los productos en estudio se trabajó con 12 unidades por cada lote; en las siguientes tablas se muestran las absorbancias obtenidas, a partir de las cuales, se determinó el por ciento disuelto de metronidazol por unidad de tiempo (tablas 19, 20 y 21-resultados y análisis). Las tablas 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 y 54 indican los valores de absorbancia obtenidos en la curva patrón con la cual se trabajó para cada producto.

Tabla 38. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote B7C071 (6 unidades) del producto de referencia Flagyl.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.39	0.046
2.78	0.089
5.55	0.177
8.33	0.270
11.1	0.357
13.88	0.444
Pendiente B	0.032018
Intercepto A	9.726027×10^{-4}
Correlación R	0.9999

Tabla 39. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagyl (lote B7C071).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	0.081	0.085	0.085	0.083	0.080	0.084
15	0.105	0.110	0.108	0.105	0.107	0.105
30	0.115	0.118	0.117	0.114	0.116	0.113
60	0.123	0.125	0.123	0.121	0.126	0.121
90	0.126	0.129	0.127	0.127	0.130	0.125

Tabla 40. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote B7C071 (6 unidades) del producto de referencia Flagyl.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.28	0.041
2.55	0.080
5.1	0.163
7.65	0.240
10.2	0.316
12.75	0.392
Pendiente B	0.030629
Intercepto A	3.564384×10^{-3}
Correlación R	0.9997

Tabla 41. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagyl (lote B7CO71).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.090	0.093	0.092	0.094	0.092	0.094
15	0.115	0.118	0.116	0.117	0.116	0.117
30	0.119	0.121	0.120	0.120	0.120	0.122
60	0.130	0.132	0.131	0.130	0.131	0.132
90	0.132	0.133	0.132	0.131	0.133	0.133

Tabla 42. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote B7E776 (6 unidades) del producto de referencia Flagyl.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.38	0.045
2.75	0.090
5.5	0.175
8.25	0.267
11	0.349
13.75	0.441
Pendiente B	0.031874
Intercepto A	1.391781×10^{-3}
Correlación R	0.9998

Tabla 43. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagyl (lote B7E776).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	0.077	0.082	0.076	0.077	0.083	0.080
15	0.097	0.102	0.099	0.099	0.101	0.101
30	0.127	0.131	0.127	0.126	0.130	0.132
60	0.140	0.142	0.139	0.137	0.145	0.147
90	0.146	0.150	0.145	0.144	0.149	0.152

Tabla 44. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote B7E776 (6 unidades) del producto de referencia Flagyl.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.28	0.040
2.55	0.079
5.1	0.161
7.65	0.240
10.2	0.315
12.75	0.390
Pendiente B	0.030593
Intercepto A	2.638356×10^{-3}
Correlación R	0.9996

Tabla 45. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagyl (lote B7E776).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.089	0.090	0.087	0.087	0.088	0.091
15	0.114	0.116	0.111	0.113	0.110	0.114
30	0.118	0.122	0.117	0.119	0.115	0.121
60	0.131	0.135	0.130	0.132	0.130	0.135
90	0.135	0.138	0.131	0.136	0.132	0.137

Tabla 46. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote M10116 del producto de prueba Flagenase.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.34	0.043
2.68	0.086
5.35	0.171
8.03	0.256
10.7	0.348
13.38	0.433
Pendiente B	0.032461
Intercepto A	-1.484932×10^{-3}
Correlación R	0.9998

Tabla 47. Absorbancias a 294 nm de 12 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagenase (lote M10116).

Tiempo (min)	Vaso No.											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.032	0.030	0.031	0.030	0.029	0.030	0.028	0.026	0.029	0.028	0.027	0.028
15	0.046	0.044	0.043	0.043	0.042	0.043	0.045	0.044	0.046	0.044	0.042	0.043
30	0.059	0.061	0.060	0.059	0.061	0.060	0.056	0.055	0.057	0.055	0.054	0.056
60	0.068	0.067	0.067	0.068	0.068	0.069	0.065	0.066	0.066	0.064	0.065	0.067
90	0.076	0.078	0.077	0.076	0.079	0.078	0.074	0.075	0.076	0.075	0.075	0.076

Tabla 48. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote P03137 del producto de prueba Flagenase.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.31	0.041
2.63	0.086
5.25	0.167
7.88	0.249
10.5	0.327
13.13	0.410
Pendiente B	0.031031
Intercepto A	2.901370×10^{-3}
Correlación R	0.9998

Tabla 49. Absorbancias a 294 nm de 12 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Flagenase (lote P03137).

Tiempo (min)	Vaso No.											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.050	0.053	0.052	0.052	0.051	0.055	0.057	0.059	0.056	0.057	0.055	0.057
15	0.070	0.072	0.073	0.070	0.068	0.077	0.079	0.083	0.078	0.077	0.079	0.080
30	0.082	0.082	0.084	0.083	0.079	0.088	0.083	0.090	0.088	0.086	0.084	0.091
60	0.090	0.091	0.092	0.093	0.092	0.097	0.092	0.102	0.095	0.094	0.093	0.101
90	0.091	0.093	0.093	0.094	0.094	0.101	0.093	0.103	0.096	0.096	0.094	0.112

Tabla 50. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote 103 del producto de prueba Ameblin.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.36	0.044
2.73	0.088
5.45	0.172
8.18	0.260
10.9	0.341
13.63	0.437
Pendiente B	0.031759
Intercepto A	9.863014×10^{-5}
Correlación R	0.9996

Tabla 51. Absorbancias a 294 nm de 12 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Ameblin (lote 103).

Tiempo (min)	Vaso No.											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.066	0.056	0.068	0.064	0.055	0.069	0.058	0.067	0.060	0.064	0.061	0.059
15	0.076	0.063	0.078	0.073	0.063	0.081	0.064	0.078	0.067	0.071	0.069	0.068
30	0.077	0.065	0.081	0.078	0.064	0.087	0.067	0.080	0.070	0.074	0.076	0.076
60	0.081	0.068	0.087	0.084	0.066	0.094	0.068	0.081	0.071	0.075	0.080	0.081
90	0.083	0.069	0.088	0.086	0.068	0.096	0.070	0.082	0.073	0.076	0.083	0.082

Tabla 52. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote 104 del producto de prueba Ameblin.

Concentración (µg/mL)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.25	0.039
2.5	0.078
5	0.159
7.5	0.235
10	0.312
12.5	0.389
Pendiente B	0.0311013
Intercepto A	1.136999×10^{-3}
Correlación R	0.9999

Tabla 53. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Ameblin (lote 104).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	0.079	0.080	0.076	0.080	0.088	0.082
15	0.096	0.105	0.093	0.097	0.107	0.104
30	0.103	0.120	0.100	0.107	0.114	0.119
60	0.114	0.141	0.115	0.121	0.127	0.138
90	0.119	0.149	0.120	0.129	0.132	0.147

Tabla 54. Curva patrón utilizada para determinar por ciento disuelto del lote 104 del producto de prueba Ameblin.

Concentración (µg/mL)	Absorbancias $\lambda = 294 \text{ nm}$
1.41	0.047
2.83	0.094
5.65	0.184
8.48	0.273
11.3	0.366
14.13	0.457
Pendiente B	0.032180
Intercepto A	1.983562×10^{-3}
Correlación R	0.9999

Tabla 55. Absorbancias a 294 nm de 6 unidades utilizadas para determinar el perfil de disolución del Ameblin (lote 104).

Tiempo (min)	Vaso No.					
	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5	0.086	0.088	0.088	0.086	0.089	0.093
15	0.102	0.097	0.101	0.095	0.102	0.109
30	0.115	0.109	0.118	0.107	0.113	0.125
60	0.119	0.112	0.122	0.111	0.117	0.132
90	0.126	0.117	0.128	0.113	0.125	0.140