



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

*Comportamiento de disolución de amoxicilina cápsulas
de 500 mg en diferentes pH.*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

POSADAS LUNA ANA LILIA

RAMÍREZ HERNÁNDEZ ANAYATZIN RAQUEL

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LETICIA CRUZ ANTONIO

ASESORA DE TESIS:

Q.F.B. IRMA ALEJANDRE RAZO



CDMX 2017



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.

Dedicatorias

Quiero expresar mis más sentidos agradecimientos a aquellas personas que han estado conmigo, por el apoyo recibido durante estos últimos años en los que tuve la oportunidad de pertenecer y formarme como profesionista en la FES ZARAGOZA UNAM.

A MI MADRE

Paula Luna a quien agradezco su infinito amor, apoyo y confianza que fueron el pilar para llegar a concluir este logro académico, por alentarme a seguir adelante y hacer de mí una mejor persona con buenos sentimientos y valores. Gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida si no en todo momento y ser mi guía durante este largo camino del que aún falta mucho por recorrer.

A MI PADRE

Juan Posadas por educarme con reglas y libertades que al final hicieron de mí una persona responsable, con sueños y anhelos, gracias por brindarme los recursos necesarios y apoyarme a concluir mis estudios, por enseñarme a ser independiente y hacerme ver que la vida no es fácil y que uno mismo debe hacer lo posible por salir adelante.

A MIS HERMANOS

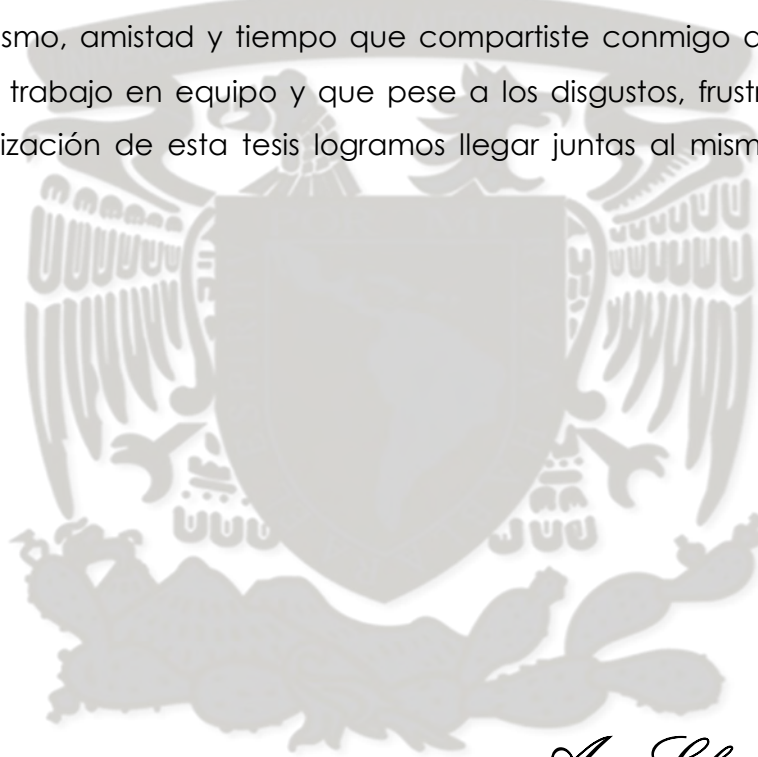
Por su apoyo incondicional, cariño y cuidados de cuando era pequeña, por acompañarme en cada logro obtenido durante mi trayecto escolar y alentarme a terminar mis estudios, gracias a cada uno de ustedes por poner su granito de arena para formar mi carácter y guiarme para ser una persona de bien.

A JOSÉ J. SÁNCHEZ

Por formar parte de mi vida estos últimos años, por creer en mí y estar ahí cada vez que necesitaba una palabra de aliento o un abrazo, por cuidarme y estar pendiente de mí, por tu comprensión y amor que me motivaban a seguir adelante y no desistir a mis metas y objetivos, muchas gracias por apoyarme incondicionalmente.

A ANAYATZIN RAMÍREZ

Admiro tu esfuerzo, dedicación y empeño que sin duda te caracterizan, gracias por la alegría, entusiasmo, amistad y tiempo que compartiste conmigo que repercutió en lograr un buen trabajo en equipo y que pese a los disgustos, frustraciones y enojos durante la realización de esta tesis logramos llegar juntas al mismo objetivo como profesionistas.



Ana Lilia Posadas Luna

Dedicatorias

A dios

Primeramente antes que todo quiero dar las gracias a dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante toda mi vida.

A mi mamá

Eres una mujer que simplemente me llena de orgullo, te amo y no va a haber manera de devolverte tanto que me has ofrecido desde que incluso no hubiera nacido. Esta tesis es un logro más que llevé a cabo, y sin lugar a dudas ha sido en gran parte a ti; no sé en donde me encontraría de no ser por tu ayuda, compañía, y tu amor.

Te doy mis sinceras gracias. Adorable madre.

A mi papá

Han pasado muchos años desde que nací, desde ese momento e incluso antes que eso, ya estabas buscando maneras de ofrecerme lo mejor. Has trabajado mucho y sin importar si llegases cansado del trabajo siempre tenías una palabra de aliento y motivación para mí. Las ayudas que me has brindado han formado bases de gran importancia, ahora soy consciente de todos los sacrificios que has tenido que hacer por mí y por mis hermanos para poder darnos una profesión y convertirnos en personas de provecho.

Muchas gracias papá, te amo.

A mis hermanos

Doy gracias a mis padres por haberme dado dos hermanos magníficos "**Alejandra y Miguel**" que han estado conmigo incondicionalmente desde el momento que nací apoyándome, cuidándome y guiándome con su ejemplo de hermanos mayores para el camino de la vida.

A mi mejor amiga

Cuando me preguntan cuántos hermanos tengo, siempre respondo tres, dos de sangre y una de corazón. Y tú eres esa tercera hermana **“Mary”** que llego a mi vida como una mano derecha, una confidente y cómplice que siempre me ha acompañado incondicionalmente en las batallas de la vida, algunas veces perdimos y otras ganamos pero lo más importante es que al final del todo siempre permanecemos y permanecemos juntas.

Muchas gracias por ser así, una extraordinaria persona. ¡Nunca cambies hermana!

A Ana Lilia Posadas Luna

Que te puedo decir a ti, si hemos compartido este sueño juntas de principio a fin, y por fin después de un año de trabajar arduamente en el proyecto, estamos a punto de llegar a la meta. Sin dudarlo no me equivoque al elegirte como mi compañera de tesis eres un gran ser humano a la cual respeto y admiró, te acoplaste a mi manera de ser y trabajar perfectamente siempre apoyándonos mutuamente como el gran equipo que somos, juntas trabajamos mejor que un reloj suizo. Doy gracias a dios por haberte puesto en mi camino y por dejarme vivir contigo esta experiencia única en nuestras vidas. Espero que tu vida este llena de éxitos y bendiciones.

Y recuerda todo esfuerzo tarde o temprano tiene su recompensa, y la nuestra está a punto de llegar.

A todos los que han creído siempre en mí

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño está tesis se las dedico a ustedes: a mis amigas Paula, Surya, Harely y Karen que desde el primer momento en que nos conocimos creyeron en mí y siempre tuvieron una palabra de aliento y apoyo en los momentos difíciles, también esta tesis se la quiero dedicar en general a toda mi familia a mis tíos José Luis, Araceli y Socorro, a mis primos hermanos y a mis sobrinas que han estado incondicionalmente conmigo.

Anayatzin R. Ramtrex Hernández

Agradecimientos

Para la realización de este proyecto se dedicaron muchas horas de trabajo, esfuerzo, paciencia, alegrías, frustraciones y sobre todo el trabajo en equipo que dio como resultado el logro del objetivo planteado.

Primero y como más importante, nos encontramos muy agradecidas con la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza** quien fue nuestra segunda casa durante los últimos años la cual nos otorgó el espacio y los conocimientos necesarios para llegar a ser profesionistas.

A si mismo también queremos agradecer a nuestra directora de tesis: **La Dra. Leticia Cruz Antonio** por haber confiado en nosotras para la realización de este proyecto, por su esfuerzo, dedicación, conocimiento, paciencia y motivación que han sido fundamentales para nuestra formación como Q.F.B.'s, obteniendo nuestro respeto y admiración.

De igual forma queremos agradecerle a **la Q.F.B. Irma Alejandre Razo** por ser nuestra asesora en este proyecto, guiarnos y transmitirnos su conocimiento durante este proceso.

Queremos dar las gracias a **los sinodales** participantes en este proyecto por su colaboración realizada en la revisión de dicho trabajo.

Con Afecto: Ana Lilia Posadas y Anayatzin Ramirez.

Tabla de Contenido

Página

INTRODUCCIÓN.....	1
1. MARCO TEÓRICO.....	2
1.1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica .	3
1.1.1. Solubilidad.....	4
1.1.2. Permeabilidad.....	4
1.2. Disolución.....	5
1.3 Factores que Afectan la Velocidad de Disolución	6
1.3.1. Factores Relacionados con los Parámetros de Prueba de Disolución. (medio de disolución y pH).....	7
1.4. Equipos de Disolución .	10
1.4.1. Método de Canastilla y/o Paleta.....	10
1.5 Calibración del Equipo de Disolución.....	11
1.5.1 Calibración Química.....	12
1.6. Utilidad y Aplicaciones de las Pruebas de Disolución.....	12
1.7. Comparación de Perfiles de Disolución .	13
1.7.1. Parámetros Modelo Independiente.....	13
1.7.2. Parámetros Modelo Dependiente.....	15
1.8. Cápsulas.....	15
1.8.1. Disolución de Cápsulas.....	16
1.8.2. Fabricación de Cápsulas.....	17
1.8.3. Ventajas y Desventajas de la Forma Farmacéutica.....	18
1.9. Características de la Amoxicilina Trihidratada	19
1.9.1. Propiedades Fisicoquímicas.....	19
1.9.2. Farmacocinética.....	20

1.9.3. Características de Solubilidad.....	21
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
3. HIPÓTESIS.....	24
4. OBJETIVOS.....	24
5. MATERIAL Y MÉTODO.....	25
5.1. Población objetivo.....	25
5.2. Población de estudio	25
5.3. Criterios de inclusión	25
5.4. Criterios de exclusión.....	25
5.5. Parte experimental	26
5.6. Equipo.....	27
5.7. Instrumentos.....	27
5.8. Material.	27
5.9. Reactivos.....	28
5.10. Medicamentos de Estudio.....	28
5.11. Parámetros Farmacopéicos de Calidad	28
5.11.1. Aspecto	29
5.11.2. Ensayos de Identidad	29
5.11.3. Uniformidad de Dosis. MGA 0.299 (Variación de masa)	30
5.11.4. Valoración. MGA 0.101 (Valoración de Antibióticos Betalactámicos)	30
5.11.5. Desintegración	31
5.12. Validación del Método Analítico	33
5.12.1. Con el Fármaco.	33
5.12.2. Con el Medicamento.....	35
5.13. Verificación y Calificación del aparato 2.....	37

5.14. Perfil de Disolución <i>In Vitro</i>	38
5.14.2. Preparación de Medios de Disolución.....	38
5.14.3. Desgasificación de los Medios.....	39
5.14.4. Procedimiento.	39
5.14.5. Análisis Estadístico.	40
6. RESULTADOS.....	41
6.1. Parámetros Farmacopéicos.....	42
6.1.1. Aspecto.	42
6.1.2. Ensayo de Identidad.	42
6.1.3. Uniformidad de Dosis (Variación de masa).	44
6.1.4. Valoración.....	45
6.1.5. Desintegración.	46
6.2. Validación Del Método Analítico Para Perfiles De Disolución.	47
6.2.1. Con el Fármaco.....	47
6.2.2. Con el Medicamento.....	52
6.3. Disolución.....	60
6.3.1. Porcentaje disuelto al tiempo 60 minutos.	60
6.3.2. Perfiles de Disolución.	61
6.3.3. Comparación de Perfiles de Disolución.	64
6.3.4. Tiempo Medio de Disolución (TMD).....	66
6.3.5. Eficiencia de Disolución (%EF).	67
6.3.6. Cinética de Disolución.	68
6.3.7. Factor de Similitud (f2) y Factor de Diferencia (f1)	68
6.4. Análisis de Varianza y Prueba de Tukey.	69
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	70

8. CONCLUSIONES.....79
9. REFERENCIAS.....80
ANEXOS.....85

Tabla de Contenido de Figuras.

	Página
Figura 1. Proceso de disolución de una forma farmacéutica sólida.....	6
Figura 2. Aparato 2: paletas.....	11
Figura 3. Proceso de disolución de cápsulas de gelatina dura.....	17
Figura 4. Estructura de Amoxicilina.....	19
Figura 5. Espectro de absorción UV de Amoxicilina.....	20
Figura 6 Degradación de la Amoxicilina en función del pH.....	21
Figura 7. Curva de solubilidad de la Amoxicilina en función del pH.....	21
Figura 8. Solubilidad de la Amoxicilina en función de la fuerza iónica.....	21
Figura 9. Diagrama de flujo de la metodología.....	26
Figura 10. Equipo para determinar la desintegración de cápsulas y/o tabletas.....	32
Figura 11. Disolutor Varian 705 DS.....	40
Figura 12. Medicamentos de estudio.....	42
Figura 13. Placas de gel de sílice de muestra de los medicamentos utilizados comparados con el estándar de Amoxicilina trihidratada.....	43
Figura 14. Estado final de la formulación disuelta en los diferentes medios de disolución.....	76

Tabla de Contenido de Gráficos

	Página
Gráfico 1: Uniformidad de dosis promedio de los distintos medicamentos...	45
Gráfico 2: Porcentaje promedio de Amoxicilina en el medicamento de prueba y el de referencia.....	46
Gráfico 3: Linealidad del fármaco en medio de disolución de agua.....	48
Gráfico 4: Linealidad del fármaco en medio de disolución fosfatos pH 4.5...	48
Gráfico 5: Linealidad del fármaco en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2	49
Gráfico 6: Linealidad del medicamento en medio de disolución agua.....	53
Gráfico 7: Linealidad del medicamento en medio de disolución fosfatos pH 4.5.....	53
Gráfico 8: Linealidad del medicamento en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.....	54
Gráfico 9: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en agua.....	58
Gráfico 10: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en fosfatos pH 4.5.....	59
Gráfico 11: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en HCl 0.1N pH 1.2.....	59
Gráfico 12: Fármaco disuelto a los 60 minutos en los diferentes medios de disolución utilizados.....	60
Gráfico 13: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución agua.....	61
Gráfico 14: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución agua.....	61

Gráfico 15: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución fosfatos pH 4.5.....	62
Gráfico 16: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución fosfatos pH 4.5.....	62
Gráfico 17: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.....	63
Gráfico 18: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.....	63
Gráfico 19: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución agua.....	64
Gráfico 20: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución fosfatos pH 4.5.....	64
Gráfico 21: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.....	65
Gráfico 22: Tiempo medio de disolución obtenido en el medicamento de referencia de cápsulas de Amoxicilina 500 mg con los diferentes medios de disolución estudiados.....	66
Gráfico 23: Tiempo medio de disolución obtenido en el medicamento de referencia de cápsulas de Amoxicilina 500 mg con los diferentes medios de disolución estudiados.....	66
Gráfico 24: Eficiencia de Disolución del medicamento de referencia en los 3 medios de disolución.....	67
Gráfico 25: Eficiencia de Disolución del medicamento de prueba en los 3 medios de disolución.....	67

Tabla de Contenido de Cuadros

	Página
Cuadro 1. Valores de pH en la presencia o ausencia de alimentos en los distintos tramos del tracto gastrointestinal.....	2
Cuadro 2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico de fármacos y posibilidad de Correlación In Vivo In Vitro para productos de liberación inmediata.....	4
Cuadro 3. Formas farmacéuticas y presentaciones de la Amoxicilina.....	22
Cuadro 4. Costos y Laboratorios que comercializan cápsulas de Amoxicilina en México.....	22
Cuadro 5. Curva de calibración con el fármaco.....	33
Cuadro 6. Curva de calibración con el medicamento.....	35
Cuadro 7. Calificación y verificación del aparato 2.....	37
Cuadro 8. Valores de Rf.....	43
Cuadro 9. Uniformidad de dosis del medicamento de prueba y referencia.....	44
Cuadro 10. Porcentaje de principio activo de Amoxicilina en el medicamento de referencia y el de prueba.....	45
Cuadro 11. Tiempo de desintegración del medicamento de prueba y el de referencia.....	46
Cuadro 12. Parámetros obtenidos de la linealidad del fármaco en los 3 medios de disolución.....	47
Cuadro 13. Precisión del fármaco (Amoxicilina) en 3 diferentes medios de disolución.....	49
Cuadro 14. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución agua.....	50

Cuadro 15. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución fosfatos pH 4.5.....	50
Cuadro 16. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.....	51
Cuadro 17. Influencia del filtro utilizando en tres medios de disolución.....	51
Cuadro 18. Parámetros obtenidos de la linealidad de los medicamentos en los 3 medios de disolución.....	52
Cuadro 19. Exactitud con el medicamento de referencia y prueba en los 3 medios de disolución	55
Cuadro 20. Repetibilidad con el medicamento de referencia y prueba de los 3 medios de disolución.....	56
Cuadro 21. Reproducibilidad del medicamento.....	57
Cuadro 22. Reproducibilidad del medicamento en fosfatos pH 4.5.....	57
Cuadro 23. Reproducibilidad del medicamento en ácido clorhídrico 0.1N pH 1.2.....	58
Cuadro 24. Cinética de disolución en los diferentes medios.....	68
Cuadro 25. Factor de similitud (f2) y factor de diferencia (f1)	68
Cuadro 26. Análisis de varianza de un factor (Efecto de pH).....	69
Cuadro 27. Diferencia de media (Prueba de Tukey)	69

SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Aref	Absorbancia de la preparación de referencia
Am	Absorbancia de la preparación de muestra
Q [∞]	Cantidad máxima disuelta
r	Coeficiente de correlación
r ²	Coeficiente de determinación
CV%	Coeficiente de Variación
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
Cmax	Concentración máxima
D.S.	Desviación Estándar
HSD	Diferencia honestamente significativa
S _{x/y}	Error relativo debido a la regresión
Std	Estándar
f1	Factor de diferencia
Rf	Factor de retención
f2	Factor de similitud
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FDA	Food and Drug Administration
GI	Gastrointestinal
°C	Grados centígrados
g	Gramos
g/mol	gramos por mol
Ha	Hipótesis alterna
Ho	Hipótesis nula
h	Horas
IVIV	<i>In Vivo- In Vitro</i>
L	litros
±	Más, menos
≥	Mayor que
≤	Menor que
MGA	Método General de Análisis

µg	microgramo
µg/mL	Microgramo por mililitro
mg	miligramo
mg/mL	miligramo por mililitro
mL	mililitro
min	Minutos
nm	nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
N	Normal
Onz	Onza
b	ordenada al origen
OMS	Organización Mundial de la Salud
m	pendiente
P _t	Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba
R _t	Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia
%	Por ciento
Q%	Por ciento disuelto
pH	Potencial de Hidrógeno
\bar{X}	Promedio
rpm	revoluciones por minuto
SSA	Secretaria de Salud
S/E	Sin Especificación
BCS	Sistema de Clasificación Biofarmaceùtica
SRef- FEUM	Sustancia de Referencia
TMD	Tiempo Medio de Disolución
N	Tiempos de muestreo
UV	Ultra violeta

INTRODUCCIÓN.

La Amoxicilina, es un antibiótico fabricado y comercializado en una gran variedad de medicamentos genéricos en el mercado mexicano. Sin embargo se encuentra entre los productos médicos notificados con más frecuencia por la OMS como producto de calidad sub-estándar (productos fuera de especificación) cuyo uso puede contribuir a la resistencia antibacteriana. Por la relevancia de esta notificación, la evidencia de la falta de calidad de algunos medicamentos genéricos (probada en muchos casos por un inadecuado comportamiento de disolución *in vitro* del fármaco) y la elección del medio de disolución como una variante crítica para la disolución de un fármaco, donde se indica bibliográficamente que el medio de disolución debe ser un disolvente sencillo tal como el agua, pero también pueden usarse diferentes soluciones tratando de representar el ambiente del tracto gastrointestinal. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el comportamiento de disolución de Amoxicilina cápsulas 500 mg como parte del cumplimiento de la calidad para producto terminado, haciendo énfasis en la disolución del principio activo en dos medios de disolución (ácido clorhídrico pH 1.2 y solución de fosfatos de pH 4.5) además de agua indicada como medio de disolución en la prueba farmacopeica.

Los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico muestran que el comportamiento de disolución *in vitro* (perfil de disolución, eficiencia de disolución, tiempo medio de disolución y cinética de disolución) usando medio de disolución agua o solución de fosfatos pH 4.5 para las formulaciones de cápsulas de Amoxicilina en este estudio, es similar en ambos medios, no así cuando se usa como medio de disolución una solución de ácido clorhídrico pH 1.2, donde la velocidad de liberación fue más rápida y en mayor cantidad. Los comportamientos de disolución se observaron de forma semejante y reproducible, tanto en la formulación de prueba como en la formulación de referencia, ambas evaluadas en dos lotes diferentes.

1. MARCO TEÓRICO.

Absorción intestinal de fármacos ⁽¹⁾.

La vía oral es la vía más utilizada para la administración de fármacos, alrededor del 90% de las preparaciones de los medicamentos se administran por vía oral ya que fisiológicamente es la más cómoda para el paciente.

Los fármacos una vez administrados por la vía oral, llegan al estómago donde permanecen 20-30 minutos en el pH propio de esta cavidad (cuadro 1), una vez superado el tiempo de retención en el estómago el comprimido ya desintegrado accede al intestino delgado atravesando el píloro.

El intestino delgado está dividido a su vez en tres segmentos: duodeno, yeyuno e íleon. Al final del intestino delgado aparece el intestino grueso dividido nuevamente en tres secciones: ciego, colon y recto.

Las cualidades del tracto gastrointestinal, deben considerarse al proponer una formulación y /o cuando se diseña un ensayo *in vitro*, como lo es la variación de pH en función de sus tramos. El cuadro 1 recoge los rangos de pH de los distintos tramos del tracto gastrointestinal.

Cuadro 1. Valores de pH en la presencia o ausencia de alimentos en los distintos tramos del tracto gastrointestinal ⁽¹⁾.

	En ayunas	En presencia de alimentos
Estómago	1.4-2.1	3.0-7.0
Duodeno	4.9-6.4	5.1-5.2
Yeyuno	4.4-6.5	5.2-6.2
Íleon	6.5-8.0	6.8-8.0

La concentración de principio activo que haya disuelta en el fluido intestinal dependerá directamente de la velocidad de disolución y el volumen de secreciones del tracto gastrointestinal y su solubilidad. La solubilidad está relacionada con la velocidad de absorción, dado que para que un fármaco llegue a absorberse debe estar disuelto. La solubilidad viene descrita principalmente por las características fisicoquímicas intrínsecas del compuesto tales como: la polaridad y su carácter ionizable. También es posible destacar las características del medio en el que se debe disolver el fármaco, puesto que las características básicas o ácidas del medio afecta al grado de ionización del principio activo.

1.1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (2, 3, 4, 5,6).

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico, es una herramienta empleada en el desarrollo de fármacos, que permite clasificar a los mismos en base a su solubilidad acuosa y su permeabilidad, las cuales representa dos de cuatro posibles limitaciones en la biodisponibilidad de un fármaco oral; las otras limitaciones son la estabilidad y metabolismo hepático y/o en pared intestinal.

Con base a la solubilidad y permeabilidad de los fármacos, el Sistema de Clasificación de Biofarmacéutica (SCB) propuesto en la literatura (Amidon 1995) puede generalizarse conforme al cuadro 2.

Cuadro 2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico de fármacos y posibilidad de Correlación In Vivo In Vitro para productos de liberación inmediata ⁽¹⁾.

CLASE	SOLUBILIDAD	PERMEABILIDAD	CORRELACION IVIV*
I	Alta	Alta	Si la velocidad de disolución es menor que la velocidad de vaciamiento gástrico. Se sustituye la prueba en humanos por un estudio de disolución <i>in vitro</i> .
II	Baja	Alta	Se podrá presentar correlación cuando la velocidad de disolución <i>in vitro</i> sea similar a la velocidad de disolución <i>in vivo</i> , a menos que la dosis sea más alta.
III	Alta	Baja	La absorción (permeabilidad) es el paso limitante y por ende es difícil encontrar correlación IVIV.
IV	Baja	Baja	Este será limitado o no se espera correlación.

*IVIV: *In Vivo In Vitro*

1.1.1. Solubilidad.

En el SCB, un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis unitaria más alta es soluble en 250 mL o menos de medios acuosos dentro del rango de pH de 1.0 a 7.5. La estimación de volumen de 250 mL se deriva de los protocolos típicos del estudio de bioequivalencia que establece la administración de un medicamento a voluntarios humanos en ayuno con un vaso de agua (cerca de 250 mL).

1.1.2. Permeabilidad.

Su clasificación se basa directamente en el grado de la absorción intestinal del fármaco en seres humanos y directamente en mediciones de la velocidad de transferencia de masa por membrana intestinal. Los modelos capaces de predecir el grado de la absorción intestinal en seres humanos suelen ser el modelo *in situ* de la perfusión de la rata y el modelo *in vitro* de cultivo de células epiteliales.

Ante la ausencia de evidencia que sugiera inestabilidad en el tracto GI, se considera a un fármaco altamente permeable cuando se determina que la medida de absorción en el hombre es del 90% o mayor de una dosis administrada en base a una determinación de balance de masa o en comparación con una dosis de referencia intravenosa.

1.2. Disolución (7, 8, 9, 10,11).

La disolución se define como el proceso en el cual una sustancia sólida entra en contacto con un disolvente formando una solución y es controlado por la afinidad entre la sustancia sólida y el disolvente. La disolución puede proporcionar información valiosa acerca de la disponibilidad biológica de un fármaco así como de la uniformidad entre un lote y otro.

La disolución de los fármacos no solo se produce a partir de las partículas finas, fragmentos y agregados producidos por la desintegración de la forma farmacéutica, como indica la Figura 1, la disolución también se produce simultáneamente desde varios tipos de sólidos. Existe evidencia suficiente para concluir que el grado de disolución de un fármaco a partir de la forma farmacéutica intacta o fragmentada en el tracto intestinal o el sitio de acción del fármaco a menudo controla parcial o totalmente el grado en el cual el fármaco aparece en la circulación sistémica. Además esta evidencia apunta, al hecho de que en muchos casos los resultados de experimentos de disolución *in vitro* pueden ser utilizados para explicar las diferencias observadas en la disponibilidad *in vivo*. Cuando el proceso de disolución es claramente más lento que el proceso de desintegración, disgregación y absorción, la disolución esencialmente controla completamente la velocidad de absorción.

Los procesos de desintegración, disgregación y disolución dependerán de la composición y el método de fabricación de las formas farmacéuticas, así como de los formuladores que pueden alterar los factores de formulación los cuales se verán reflejados en cambios en la velocidad de estos procesos.

Los ensayos de disolución son difíciles de llevar a cabo correctamente debido a que la disolución de una forma farmacéutica *in vivo* a menudo, es el factor limitante para determinar la disponibilidad fisiológica de un fármaco, en tanto que la determinación del grado de disolución *in vitro* es más probable que ofrezca una indicación significativa de la disponibilidad fisiológica de la medición del grado de disolución. La prueba crucial en cualquier modelo de prueba de disolución *in vitro* es su correlación con la situación *in vivo*. Hasta la fecha, ningún ensayo de disolución ha sido diseñado para que en todos los casos resulte el mismo rango de disolución *in vitro* y la misma disponibilidad *in vivo* para diferentes formulaciones o lotes del mismo fármaco.

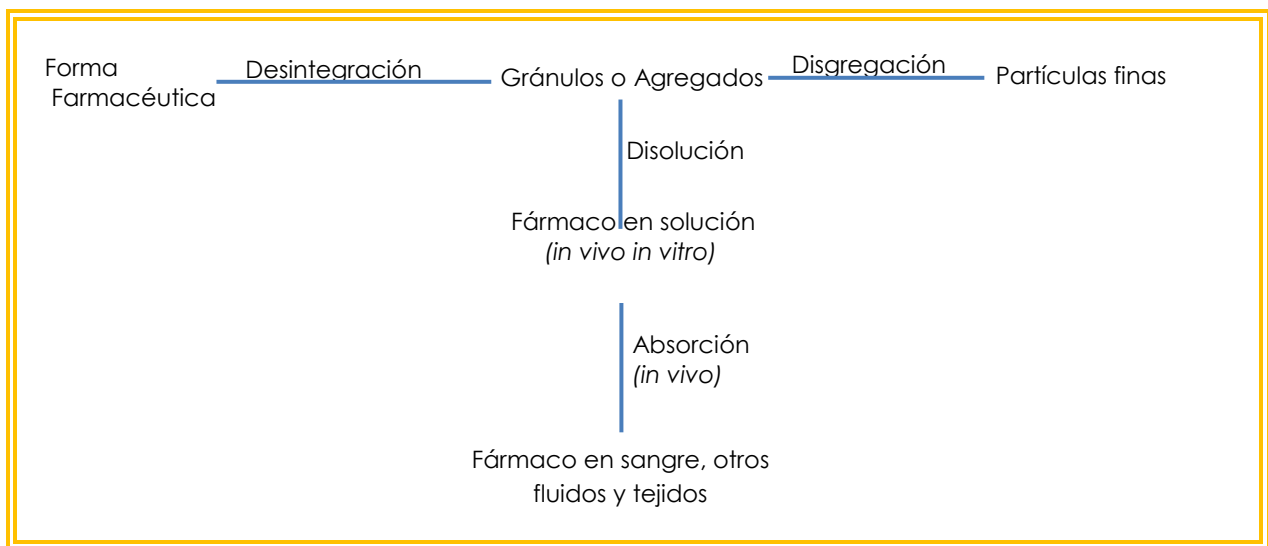


Figura 1. Esquema del proceso de disolución de una forma farmacéutica sólida (8).

1.3 Factores que Afectan la Velocidad de Disolución (10,11).

La disolución es afectada por diversos factores, una gran parte de los estudios de disolución se encargan de identificar y evaluar el grado en el que están implicados éstos. Los factores que afectan la velocidad de disolución de un fármaco a partir de su forma farmacéutica, pueden clasificarse como:

1. Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.
2. Factores relacionados a la formulación del producto.
3. Factores relacionados con la forma farmacéutica.

4. Factores relacionados con el aparato de disolución.
5. Factores relacionados con los parámetros de la prueba de disolución.
6. Otros factores.

1.3.1. Factores Relacionados con los Parámetros de Prueba de Disolución. (medio de disolución y pH) ^(11,12).

1.3.1.1. Medio de Disolución.

Como se ha comentado, la absorción del fármaco depende directamente de la solubilidad del fármaco y de la velocidad de disolución, parámetros que determinaran su comportamiento *in vivo*. Estos parámetros no tienen valores fijos a lo largo de todo el tracto GI y varían en función de las características propias de los fluidos de cada tramo del tracto GI. Por esta razón, los compendios oficiales, tales como las farmacopeas indican diferentes medios de disolución con diversos valores de pH (pH=1.2, 4.5, 6.8 generalmente). Los medios mencionados se utilizan para representar las condiciones de pH que existen en el intestino, pero no representan otros aspectos como la osmolaridad, la fuerza iónica, la viscosidad, la tensión superficial, aspectos que pueden llegar a tener relevancia en la absorción de los fármacos, dependiendo de las características particulares de cada principio activo.

1.3.1.2. Disolución y Acidez del Medio.

La solubilidad de un electrolito débil varía considerablemente en función del pH al considerar la solubilidad total (C_s) de una sustancia débilmente ácida, ésta puede expresarse como sigue:

$$C_s = C_0 + (A^-) \quad \text{Ecuación (1)}$$

C_0 = Concentración intrínseca de ácido no disociado.

(A^-) = Concentración del anión.

La concentración del ácido no disociado y la constante de disociación se expresan.

$$(HA) = (H^+) + (A^-) \quad \text{Ecuación (1.1)}$$

$$K_a = \frac{(H^+)(A^-)}{HA} \quad \text{Ecuación (1.2)}$$

Despejando (A^-) de 1.2 y sustituyendo en 1 se tiene:

$$C_s = C_0 \left(1 + \frac{K_a}{H^+}\right) \quad \text{Ecuación (1.3)}$$

Análogamente, la solubilidad de una base débil puede expresarse por:

$$C_s = C_0 \left(1 + \frac{H^+}{K_a}\right) \quad \text{Ecuación (1.4)}$$

Si se sustituyen estas expresiones en la ecuación de Noyes- Withney, se puede obtener las siguientes ecuaciones para un ácido y una base débil, respectivamente:

$$\frac{dm}{dt} = K C_0 \left(1 + \frac{K_a}{(H^+)}\right) \quad \text{Ecuación (1.5)}$$

$$\frac{dm}{dt} = K C_0 \left(1 + \frac{H^+}{K_a}\right) \quad \text{Ecuación (1.6)}$$

Estas ecuaciones son aplicables a condiciones sink donde $C_s \gg C$ (C menor que $0.1 C_s$) e indican que la velocidad de disolución de un ácido débil aumenta si se incrementa el pH, en tanto que la velocidad de disolución de las bases débiles disminuye.

El pH del medio líquido, tiene un efecto sobre el grado de ionización de sustancias constituidas por electrolitos. Las moléculas ionizadas son mucho más solubles en un medio acuoso que las moléculas no ionizadas; las moléculas básicas son más solubles

en un medio ácido que en un medio alcalino. Lo contrario sucede con las sustancias acidas, las cuales se disuelven con más rapidez en un medio alcalino.

Consideraciones Generales para el Medio de Disolución.

Durante el desarrollo de un perfil o prueba de disolución, la Food and Drug Administration (FDA) recomienda que la disolución se evalúe en condiciones fisiológicas, si es posible. Esto permitirá relacionar los resultados de disolución con el comportamiento del producto *in vivo*, en virtud a que el pH del medio debe permitir la liberación completa del principio activo y su disolución.

La FDA recomienda se utilicen medios acuosos dentro del rango de pH de 1.2 a 6.8, entre los que se proponen:

- Ácido Clorhídrico 0.1N (pH 1.2).
- Solución amortiguadora de acetatos a pH 4.5.
- Solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8.
- Fluido gástrico simulado a pH 1.2 (sin enzimas).
- Fluido intestinal simulado a pH 6.8 (sin enzimas).

El pH del tracto GI como se mencionó anteriormente, tiene un importante efecto sobre la disolución de medicamentos administrados por vía oral, especialmente en aquellos que contienen fármacos con valores pKa dentro de rango fisiológico de pH. El valor de pH varía gradualmente a lo largo de todo el tracto GI, desde valores muy bajos en el estómago hasta un pH básico en la última sección del intestino. El pH del lumen intestinal, depende también de muchas variables como son: el tiempo después de la administración de los alimentos, volumen y contenido de los alimentos, así como de volumen de las secreciones.

Una forma farmacéutica oral de liberación inmediata se considera como un producto de disolución rápida, cuando no menos del 85% de los dosis se disuelve dentro de 30 minutos, usando el aparato I a 100 rpm o el aparato II a 50 rpm en un volumen de 900 mL o menos en cada uno de los siguientes medios: 1) en medio ácido como Ácido Clorhídrico 0.1N o Fluido Gástrico simulado sin enzimas; 2) Una solución amortiguadora

de pH 4.5; y 3) una Solución Amortiguadora con pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzimas⁽⁴⁾.

1.4. Equipos de Disolución (5, 10, 12,13).

Existen actualmente siete aparatos de disolución oficialmente reconocidos por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos y de Norteamérica. Los aparatos de disolución más utilizados son el aparato 1 (método de canastilla) y el aparato 2 (método de paletas).

1.4.1. Método de Canastilla y/o Paleta.

Los métodos de canastilla y paleta son simples, robustos, estándares y son los más empleados mundialmente. Estos métodos son suficientemente flexibles para usarse en las pruebas de disolución de una gran variedad de productos farmacéuticos, en particular para tabletas y cápsulas.

1.4.1.1. Aparato 2.

Se le denomina de paletas, ya que la flecha o columna vertical al final se encuentra una paleta o propela propiamente dicha. En la figura 2, se observa un esquema del aparato de paletas utilizado para estudios de disolución. Este equipo tiene las ventajas de: presentar un patrón de flujo más estable que el de las canastillas, por lo que se tiene una mejor dispersión del sólido, puede contar con paletas cubiertas de una película de material inerte, por lo que no presenta problemas de interferencia o corrosión con el fármaco disuelto, su diseño permite una inspección visual de la forma farmacéutica durante el tiempo de prueba, es útil para varias formas farmacéuticas incluyendo: cápsulas, tabletas y suspensiones orales, entre otros. Entre sus desventajas se mencionan: ser sensible a las variaciones en el patrón de flujo del medio, a velocidades bajas: la distribución del fármaco no es uniforme y cualquier variación geométrica o en la continuidad de la superficie misma provoca patrones de flujo anormal, por lo que se obtendrá resultados dispersos, no reproducibles o inexactos.

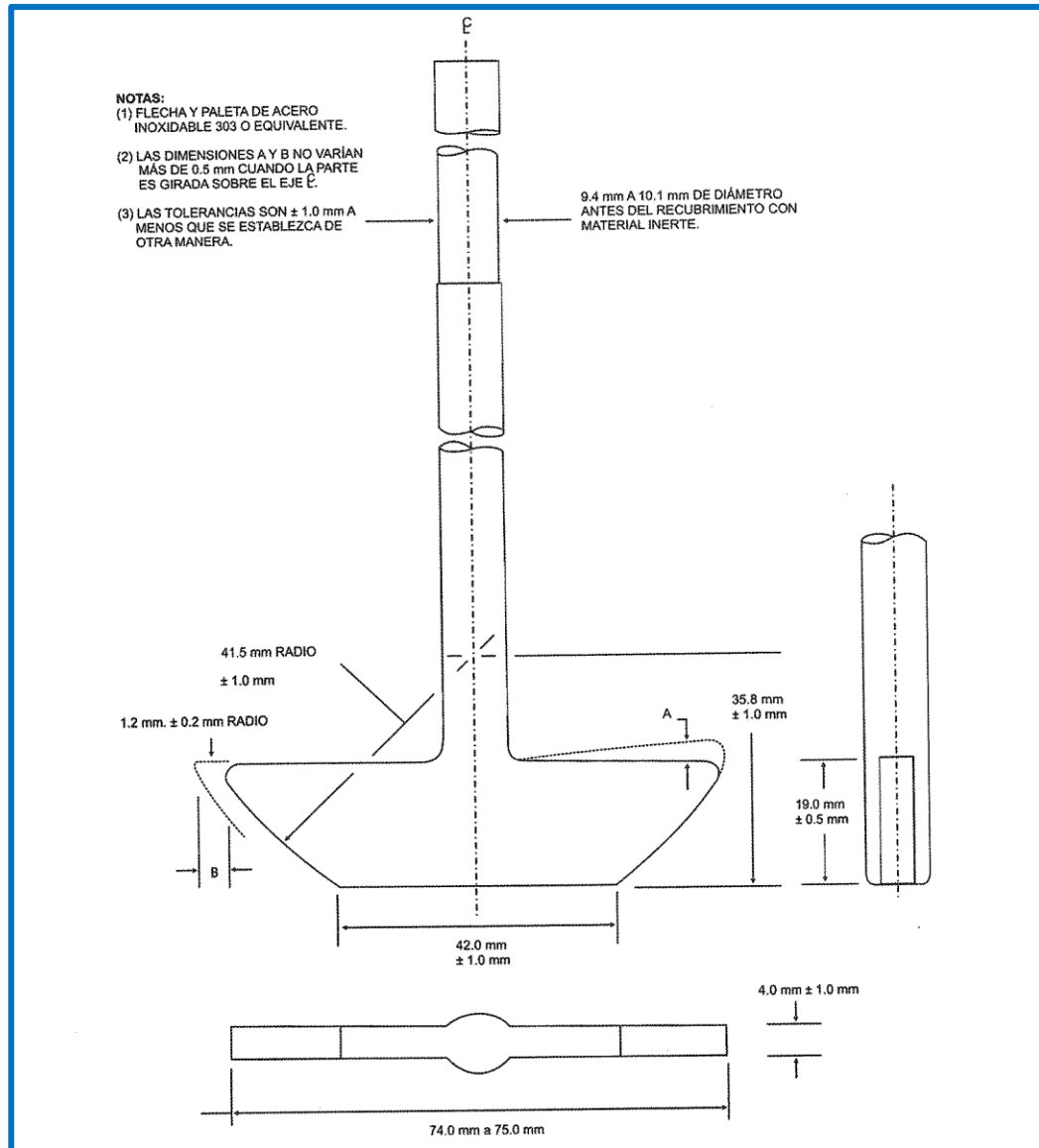


Figura 2. Esquema del aparato de paletas (23).

1.5 Calibración del Equipo de Disolución.

Por los diversos factores que pueden afectar los resultados de la prueba de disolución es necesaria la calibración del equipo. Para la calibración se siguen los procedimientos establecidos en las farmacopeas y que pueden dividirse en calibración química y mecánica las cuales se deben realizar cuando se inicia el estudio, cada seis meses o cuando se mueva de lugar el equipo.

1.5.1 Calibración Química.

La calibración química de los equipos de disolución se realiza por medio de las tabletas calibradoras, fabricadas en los Estados Unidos y aprobadas por la FDA. Las tabletas calibradoras son de del tipo desintegrable (prednisona).

1.5.2 Calibración Mecánica.

Esta cubre desde una inspección visual general con el fin de detectar la limpieza del equipo, roturas, grietas u otra condición que modifique la homogeneidad del medio o el patrón de flujo. La inspección del nivel del baño de disolución, la vibración externa, así como del sistema de agitación, donde se verifica el centrado, verticalidad, condiciones y dimensiones de los vástagos que sostienen las canastillas o paletas y la altura de las canastillas o paletas con respecto al fondo del vaso. Del sistema operacional, se verifica que la temperatura y la agitación sean las especificadas. Los parámetros y criterios para evaluar la calibración del equipo están establecidos en las farmacopeas.

1.6. Utilidad y Aplicaciones de las Pruebas de Disolución.

- ❖ Como indicador del desempeño “*in vivo*”.
- ❖ Como un requisito regulatorio de control de calidad que provee evidencia sobre la consistencia física del producto y el proceso de fabricación.
- ❖ Como una herramienta de aseguramiento de calidad en la evaluación de lote a lote.
- ❖ Durante las primeras etapas del desarrollo del producto y de su formulación; ayuda a la selección de la formulación más deseable para desarrollo.
- ❖ Provee los datos para facilitar la aprobación inicial y los cambios referentes al escalamiento y post-aprobación del producto.
- ❖ Permite a las entidades regulatorias tomar la decisión de aprobar cambios menores en la formulación y procesos de fabricación.

1.7. Comparación de Perfiles de Disolución ⁽¹⁴⁾.

La comparación de los perfiles de disolución puede ser realizada siguiendo los métodos de modelo independiente o métodos modelo dependiente.

1.7.1. Parámetros Modelo Independiente.

1.7.1.1. Eficiencia de Disolución.

La eficiencia de disolución, ED, se calcula a partir de las curvas acumulativas de fármaco disuelto, siendo necesario que se haya disuelto, como mínimo, el 90% de la dosis. El cálculo de la ED considera el área bajo la curva de disolución hasta un cierto tiempo, t , expresado como un porcentaje del área del rectángulo descrito por 100% de disolución al mismo tiempo (ecuación 2).

$$ED = \frac{\int_0^t y dt}{y_{100} t} \times 100$$

Ecuación (2)

1.7.1.2. Tiempo Medio de Disolución: (MDT).

El tiempo medio de disolución (MDT) se calcula a partir de las acumulativas de las cantidades disueltas de fármaco en función del tiempo mediante la ecuación:

$$MDT = \frac{\sum[(ti)(\Delta Qi)]}{Q_{\infty}}$$

Ecuación (3)

Donde:

$\sum[(ti)(\Delta Qi)]$ =Suma del producto de los incrementos de la cantidad de fármaco disuelto a cada intervalo del tiempo considerado por los tiempos medios correspondientes a todos los intervalos de tiempo utilizados.

Q_{∞} =Cantidad máxima disuelta de fármaco.

1.7.1.3. Factor de Diferencia (f1).

El factor de diferencia (f1) mide el porcentaje de la diferencia entre dos curvas a cada tiempo y es una medida del error relativo entre las dos curvas.

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n [R_1 - T_1]}{\sum_{t=1}^n R_1} \right\} \times 100\% \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde n es el número de muestreos, R y T son el porcentaje disuelto de los productos de referencia y el de prueba en cada punto de tiempo.

1.7.3.4. Factor de Similitud (f2).

El factor de similitud (f2) es una transformación logarítmica del recíproco de la raíz cuadrada de la suma de los errores al cuadrado. El factor de similitud está definido por la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 * \log \left\{ \frac{100}{\sqrt{\frac{1 + \sum_{t=1}^n (R_t - P_t)^2}{n}}} \right\} \quad \text{Ecuación (5)}$$

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

Para que las curvas se consideren similares, los valores de f1 deberán estar cerca de 0, y los valores de f2 deberán estar cerca de 100. Por lo general, los valores de f1 están entre (0-15) y los valores de f2 están entre (50-100) aseguran la igualdad o equivalencia de las dos curvas y, por lo tanto, del rendimiento de los productos de prueba y referencia.

1.7.2. Parámetros Modelo Dependiente.

Los parámetros modelo dependiente de la cinética de disolución, que pueden ser calculados y podrían ser empleados para fines comparativos son: el cálculo de la constante de disolución de acuerdo a la cinética que describen los datos experimentales y para algunos casos el porcentaje disuelto a determinado tiempo. Algunas cinéticas que pueden describir un proceso de disolución son: cinética de orden cero, cinética de primera orden, cinética de raíz cuadrada, cinética de raíz cúbica, modelo de Weibull.

1.7.2.1. Cinética de Orden Cero.

Este orden cinético puede observarse en los casos en que se procura disolver una pequeña cantidad de producto sólido en un gran volumen de disolvente (condición sink). La velocidad de disolución es independiente de la concentración del fármaco disuelto y puede presentarse cuando la cantidad disuelta no excede de un 10% de la solubilidad del producto en el disolvente ($C < 0,1 C$).

1.7.2.2. Cinética de Primer Orden.

Este tipo de cinética es probablemente la más frecuente en los métodos llamados "non sink". En esta cinética, a medida que la cantidad de fármaco en estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto, aumentando la concentración de la solución y por tanto la velocidad de disolución es función de la concentración del fármaco disuelto, describiendo un proceso de primer orden.

1.8. Cápsulas ⁽¹⁵⁾.

Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura o suave, compuestas de gelatina. Están diseñadas principalmente para uso oral, pero no es exclusivo. Puede contener polvos, gránulos, esferas, líquidos o geles.

1.8.1. Disolución de Cápsulas ⁽⁸⁾.

Las cápsulas se consideran como la segunda forma farmacéutica más popular de presentación de medicamentos por vía oral. Cuando todos los ingredientes son polvos, se utiliza una cápsula de gelatina dura, pero cuando los materiales son líquidos pueden ser contenidos en cápsulas de gelatina blanda. El uso de cápsulas de gelatina dura es casi un axioma en el estudio farmacológico y preliminar de un nuevo medicamento antes de cualquier estudio tecnológico. Una representación esquemática a través de la cual una cápsula se somete al proceso de disolución al medio gastrointestinal se da en la Figura 3.

Es evidente a partir de la Figura 3, que la cubierta de la cápsula se disuelve antes de que los contenidos en ella estén disponibles en los fluidos GI para la disolución, los materiales contenidos dentro de la cápsula podrían comportarse como un comprimido poco compacto para la disolución, aunque también se menciona que los contenidos de la cápsula se comportarán con mayor probabilidad como una suspensión, disolviéndose y distribuyéndose rápidamente en los fluidos GI. La cinética de liberación del fármaco a partir de esta forma de dosificación al igual que las tabletas, pueda ser crítica para su éxito terapéutico. Las cápsulas contienen no sólo el fármaco en forma sólida, sino también otros ingredientes inertes que son necesarias para la fabricación, así como la estabilidad física y química, de la forma de dosificación. Tanto el propio proceso de fabricación y los ingredientes inertes en el producto final puede afectar a la velocidad de disolución del fármaco desde la forma de dosificación. Incluso para un fármaco dado en la misma forma de dosificación, es posible que pueda tener una amplia variación, tanto en la velocidad como en la cantidad disuelta de cápsulas preparadas por diferentes fabricantes.

Las partículas finas colocadas en una cápsula por lo general no son sometidas a altas fuerzas de compresión y una posible fusión, lo que reduciría la superficie específica. Fármacos con superficie grande estarán disponibles para la disolución, en el caso de las cápsulas esto ocurrirá siempre que las partículas estén íntimamente humedecidas por el fluido biológico.

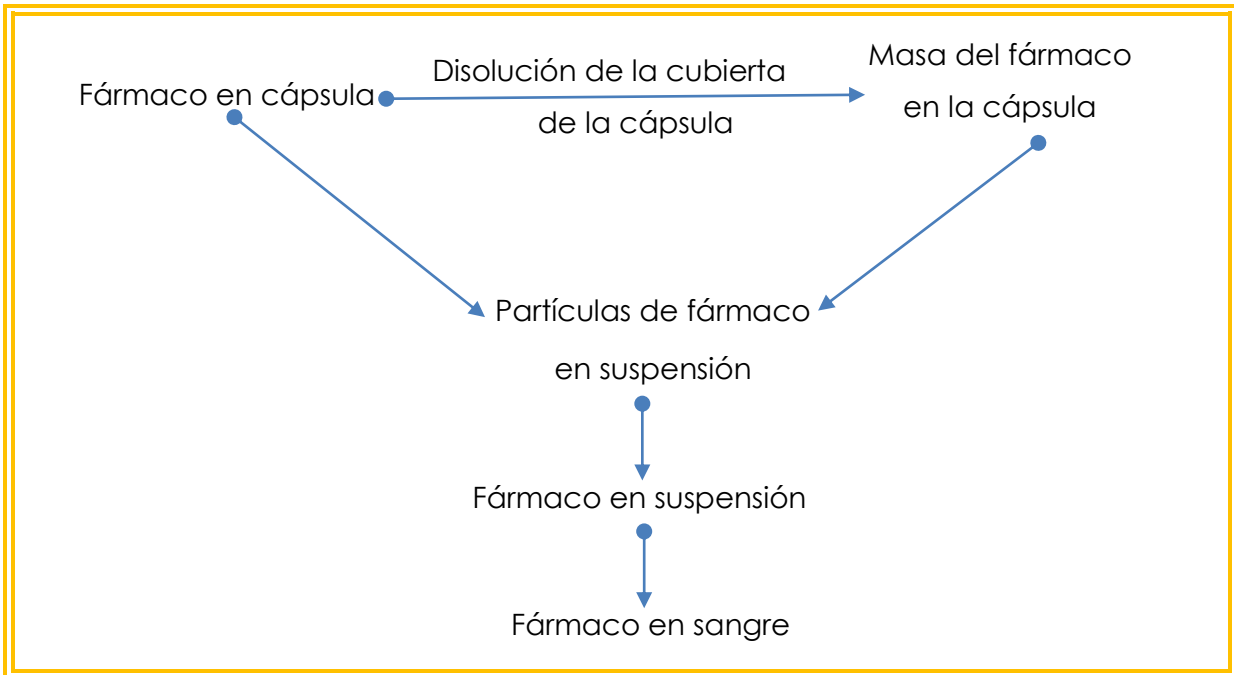


Figura 3. Esquema del proceso de disolución en cápsulas de gelatina dura ⁽⁸⁾.

1.8.2. Fabricación de Cápsulas ⁽¹³⁾.

Las cápsulas se fabrican generalmente a partir de gelatina obtenida por hidrólisis ácida de la piel de cerdo o hidrólisis alcalina de la piel y huesos de otros animales, sin embargo, se puede obtener, a partir de otras sustancias adecuadas, tales como almidón y otros polisacáridos. Durante la fabricación de las cápsulas se puede agregar aditivos tales como colorantes autorizados, opacantes, conservadores antimicrobianos, agentes edulcorantes y/o saborizantes.

De acuerdo a su composición y método de preparación se pueden considerar dentro de varias categorías; cápsulas duras, cápsulas blandas y cápsulas gastrointestinales.

1.8.3. Ventajas y Desventajas de la Forma Farmacéutica (9).

Ventajas.	Desventajas.
<ul style="list-style-type: none"> • Son fáciles de deglutir, ya que se ablandan y se vuelven resbaladizas al entrar en contacto con la saliva. • Atractivas para el paciente. • Fáciles de administrar y transportar. • Dosificación exacta. • Fáciles de identificar debido a la variedad de colores y formas. • Requieren de un número reducido de excipientes y procesos. • Enmascaran el mal sabor, olor y color de los fármacos. • Protegen al fármaco del medio ambiente (luz, polvo, oxígeno; no humedad). • Estabilidad física, química y microbiológica. • Permite la administración simultánea de fármacos incompatibles. 	<ul style="list-style-type: none"> • No pueden administrarse a personas inconscientes, bebés y ancianos. • Difícil de dosificar (llenado depende de muchos factores). • No pueden fraccionarse. • Son susceptibles a la humedad y a la temperatura (condiciones de almacenamiento). • Se depende de proveedores únicos (restricción). • No pueden dosificarse fármacos delicuescentes (gran afinidad por la humedad).

1.9. Características de la Amoxicilina Trihidratada ^(16, 17,18).

1.9.1. Propiedades Fisicoquímicas.

Estructura

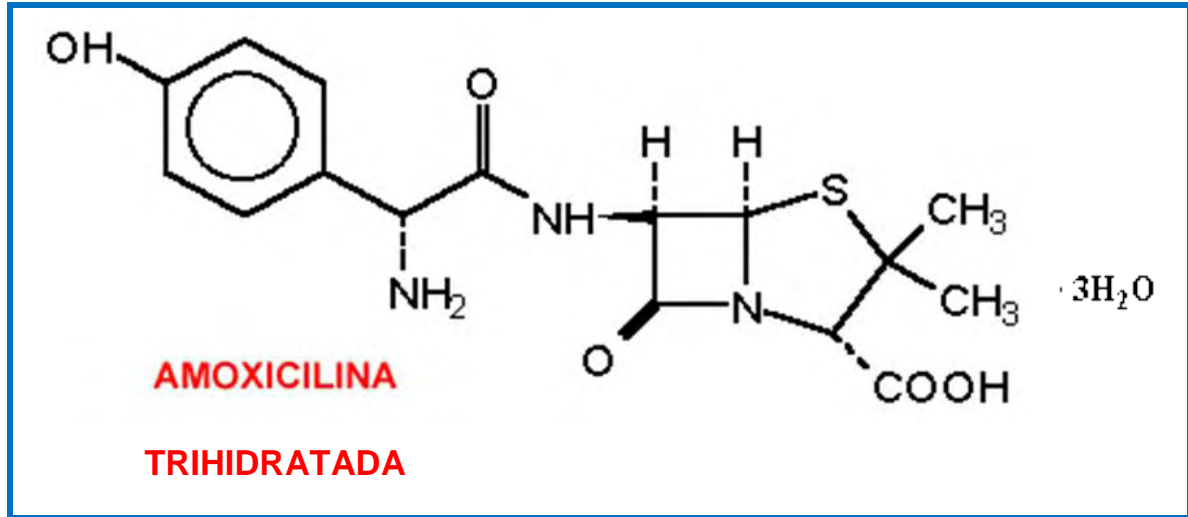


Figura 4. Estructura de Amoxicilina Trihidratada ⁽¹⁷⁾.

Nombres: Ácido (2S,5R,6R)-6-[(2R)-2-amino-2-(4-hidroxifenil) acetamido]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tio-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico trihidratado.

Formula Condensada: C₁₆H₁₉N₃O₅·3H₂O

Peso Molecular: 419.46 g/mol.

Descripción: Polvo cristalino de color blanco.

Constante de Disociación: pK_a 2.4, 7.4, 9.6.

Solubilidad: poco soluble en agua y metanol; muy poco soluble en etanol y prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Coefficiente de Partición: Log P (octanol/agua) 0.87.

Sistema Biofarmacéutica: Clase I.

Espectro UV: longitud de onda 272 nm.

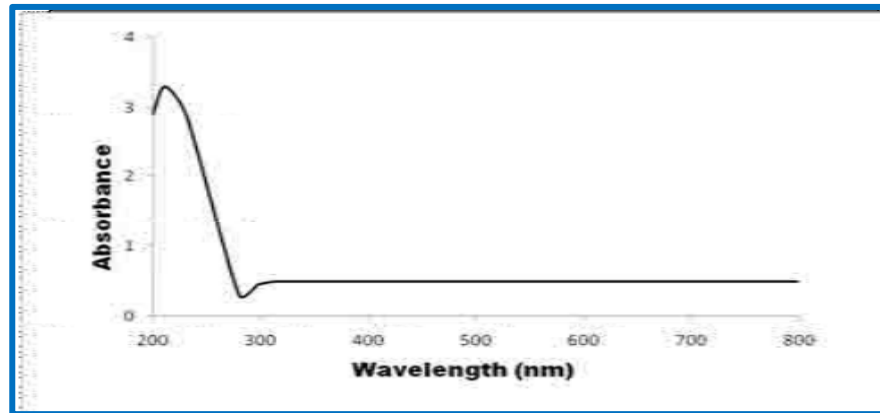


Figura 5. Espectro de Absorción UV Amoxicilina (17).

1.9.2. Farmacocinética (16, 18, 19).

La Amoxicilina es estable en medio ácido en presencia de jugos gástricos y puede ser administrada por vía oral sin tener en cuenta el ritmo de las comidas. Se absorbe rápidamente después de la administración oral, alcanzando los niveles máximos en 1-2.5 horas. Difunde adecuadamente en la mayor parte de los tejidos y líquidos orgánicos. No difunde a través de tejido cerebral ni líquido cefalorraquídeo, salvo cuando están las meninges inflamadas. La vida media de Amoxicilina es de 61.3 min. El 75% aproximadamente de la dosis de Amoxicilina administrada se excreta por la orina sin cambios mediante excreción tubular y filtración glomerular; esta excreción puede ser retardada administrando probenecid, y también es más lenta en los pacientes con insuficiencia renal que requieren un reajuste de las dosis. La Amoxicilina no se liga a las proteínas en proporción elevada (17%). La administración de una dosis de 500 mg de amoxicilina alcanza, como promedio, unos niveles séricos pico de 7.5 $\mu\text{g/ml}$ y todavía puede detectarse Amoxicilina en suero 8 horas después de su administración. La presencia de alimentos en el estómago no interfiere significativamente la absorción de la Amoxicilina.

Una pequeña cantidad de la Amoxicilina se excreta en la leche materna. En cambio, la amoxicilina no cruza la barrera placentaria.

1.9.3. Características de Solubilidad.

La Amoxicilina presenta características anfóteras ⁽²⁰⁾, con tres pKa: 2,4; 7,4 y 9,6. Estudios previos han establecido que su degradación tiene un orden cinético de primer orden (figura 6) y su curva de solubilidad en función del pH tiene forma de "U" (figura 7), aumentando su solubilidad hacia pH ácido y neutro, en el cual la fuerza iónica del medio no afecta su solubilidad (figura 8).

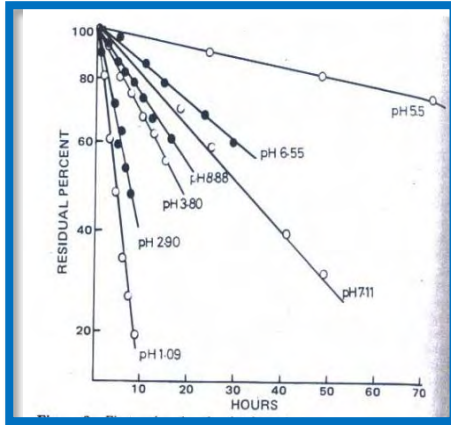


Figura 6. Degradación de Amoxicilina en función del pH ⁽²⁰⁾.

- Amoxicilina trihidratada

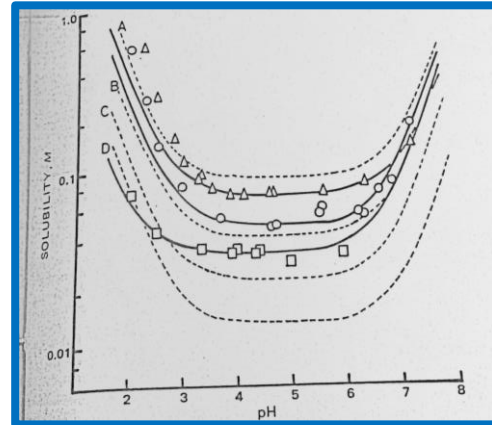


Figura 7. Curva de solubilidad de Amoxicilina en función del pH ⁽²⁰⁾.

- A=Ciclacilin hidratada
- B= Ampicilina anhidra
- C=Ampicilina trihidratada
- D= Amoxicilina trihidratada

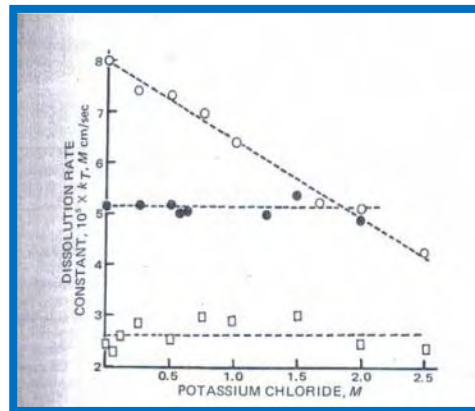


Figura 8. Solubilidad en función de la fuerza iónica ⁽²⁰⁾.

- Ampicilina anhidra
- Ampicilina trihidratada
- Amoxicilina trihidratada

Dado que estudios de disolución “*in vitro*” reportados en literatura donde el medio de disolución es diferente al que se indica en libros oficiales (farmacopeas), surge la inquietud: realmente el medio de disolución usado en estudios de disolución de amoxicilina en libros oficiales, es el más representativos para simular la situación que ocurre “*in vivo*”, si consideramos que la disolución de un medicamento para su posterior absorción depende de varios factores y no solo del pH del medio.

1.9.4. Presentaciones comerciales (21).

En el mercado se comercializan diferentes formas farmacéuticas y presentaciones de la Amoxicilina como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Formas farmacéuticas y presentaciones de la Amoxicilina.

Principio Activo	Forma Farmacéutica	Presentación
Amoxicilina	Cápsulas	250 y 500 mg
Amoxicilina	Suspensión	250 y 500 mg/mL
Amoxicilina	Tabletas	875mg y 1g

1.9.4.1. Marcas comerciales más usadas de Amoxicilina en México (21).

En México se encuentran cápsulas de Amoxicilina de 250 y 500 mg de diferentes laboratorios y precios como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. Costos y Laboratorios que comercializan cápsulas de Amoxicilina en México.

Principio Activo	Forma Farmacéutica	Nombre Comercial	Presentación	Laboratorios	Precio
Amoxicilina	Cápsulas	Polimox	250 mg y 500mg	Hormona	\$65.00
		Penamox	cada caja	Sanfer	\$140.00
		Gimalxina	contiene 12	Collins	\$53.00
		Amoxicilina	cápsulas.	APOTEX	\$74.00

*Precio vigente al 24 de Abril del 2016, obtenidos por entrevista personal en farmacias de la CDMX.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El fin de las pruebas de disolución *in vitro* es evaluar la disolución del principio activo que se espera en el tracto GI, para lo cual se indica, el uso de un medio de disolución acuoso representativo de la fase líquida presente en el tracto GI, tal como se refiere en la literatura. Considerando el aspecto fisiológico de la disolución con respecto al ensayo *in vitro* de la misma, se establece que la mayor parte del tiempo, aunque no siempre, la absorción de fármacos se produce en la parte intestinal del tracto GI donde el pH está dentro de un intervalo de 5-7 y no en la sección gástrica (estómago) donde el pH es por lo general entre 2 -3, y que el proceso de absorción del fármaco depende de la disolución, y la mayoría de la absorción se produce en el intestino. Los aspectos fisiológicos indican, que un medio de disolución en una prueba *in vitro* debe ser acuoso y tener un pH en el intervalo de 5 a 7 ⁽²²⁾.

La Amoxicilina es un bactericida de amplio espectro, del cual se fabrican y comercializan gran variedad de medicamentos genéricos en el mercado mexicano. La Organización Mundial de la Salud, señala a este antibiótico, como uno de los productos médicos notificados con más frecuencia como producto de calidad subestándar (productos fuera de especificación), señalándose que su uso bajo condición de "calidad subestándar" puede contribuir a la resistencia antibacteriana, aspecto alarmante para la salud de los consumidores ⁽¹⁵⁾.

Bajo el anterior contexto, el presente trabajo pretende mostrar el cumplimiento de la calidad como producto terminado de cápsulas de Amoxicilina, haciendo énfasis en el comportamiento de disolución del principio activo de la forma farmacéutica, usando dos medios de disolución (ácido clorhídrico pH 1.2 y solución de fosfatos de pH 4.5) además de agua indicada como medio de disolución en la prueba compendial ⁽²³⁾. Considerando que todo principio activo presentado en una forma farmacéutica sólida debe disolverse para ser absorbido en el tracto GI y que bajo ciertas circunstancias la calidad de un producto en términos de biodisponibilidad y/o bioequivalencia puede documentarse utilizando estudios de disolución *in vitro* ⁽²⁵⁾.

3. HIPÓTESIS.

Debido a que el pH del medio de disolución puede afectar el proceso de disolución de una sustancia, se espera que el comportamiento de disolución de las cápsulas de Amoxicilina visualizado como perfil, sea diferente cuando se use un medio de disolución con un pH 1.2 en mayor medida que cuando se use un medio con un pH 4.5 en comparación con el agua, ya que la amoxicilina presenta una mayor solubilidad hacia un pH ácido.

4. OBJETIVOS.

a. General.

Evaluar el comportamiento de disolución de Amoxicilina cápsulas de 500 mg en tres medios de disolución.

b. Específicos.

- Verificar el cumplimiento de los parámetros farmacopéicos de calidad establecidos para cápsulas de Amoxicilina.
- Implementar y validar un método analítico para la cuantificación de Amoxicilina en cápsulas aplicable a un estudio de disolución *in vitro* en los diferentes medios de disolución a estudiar.
- Obtener los perfiles de disolución de amoxicilina en cápsulas en los diferentes medios de disolución a utilizar.
- Evaluar si el pH del medio de disolución tiene impacto significativo sobre el comportamiento de disolución de cápsulas de Amoxicilina.

5. MATERIAL Y MÉTODO.

Actitud del investigador	Forma de Recolección de Información	Secuencia Temporal del Estudio	Cantidad de poblaciones	Nombre del protocolo
Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Estudio experimental

5.1. Población objetivo:

- Cápsulas de Amoxicilina de 500 mg.

5.2. Población de estudio:

- Cápsulas de Amoxicilina de 500 mg, medicamento de referencia de 2 lotes diferentes.
- Cápsulas de Amoxicilina de 500 mg, medicamento de Prueba de 2 lotes diferentes.

5.3. Criterios de inclusión:

- Cápsulas de Amoxicilina de 500 mg (de marca líder y económica).
- La valoración del medicamento de prueba debe estar dentro de los límites Farmacopéicos y no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.
- El medicamento de prueba y de referencia debe tener una fecha de caducidad vigente al momento de ser utilizados en el estudio y que abarque toda la duración del estudio.
- Parámetros Farmacopéicos conforme a lo establecido farmacopeicamente.

5.4. Criterios de exclusión:

- Cápsulas de Amoxicilina mezclados con otro (s) principio (s) activo (s) y defectos físicos que impidan su utilización.
- Cápsulas de Amoxicilina con aspecto físico que implique el incumplimiento farmacopeico de la prueba de aspecto.

5.5. Parte experimental

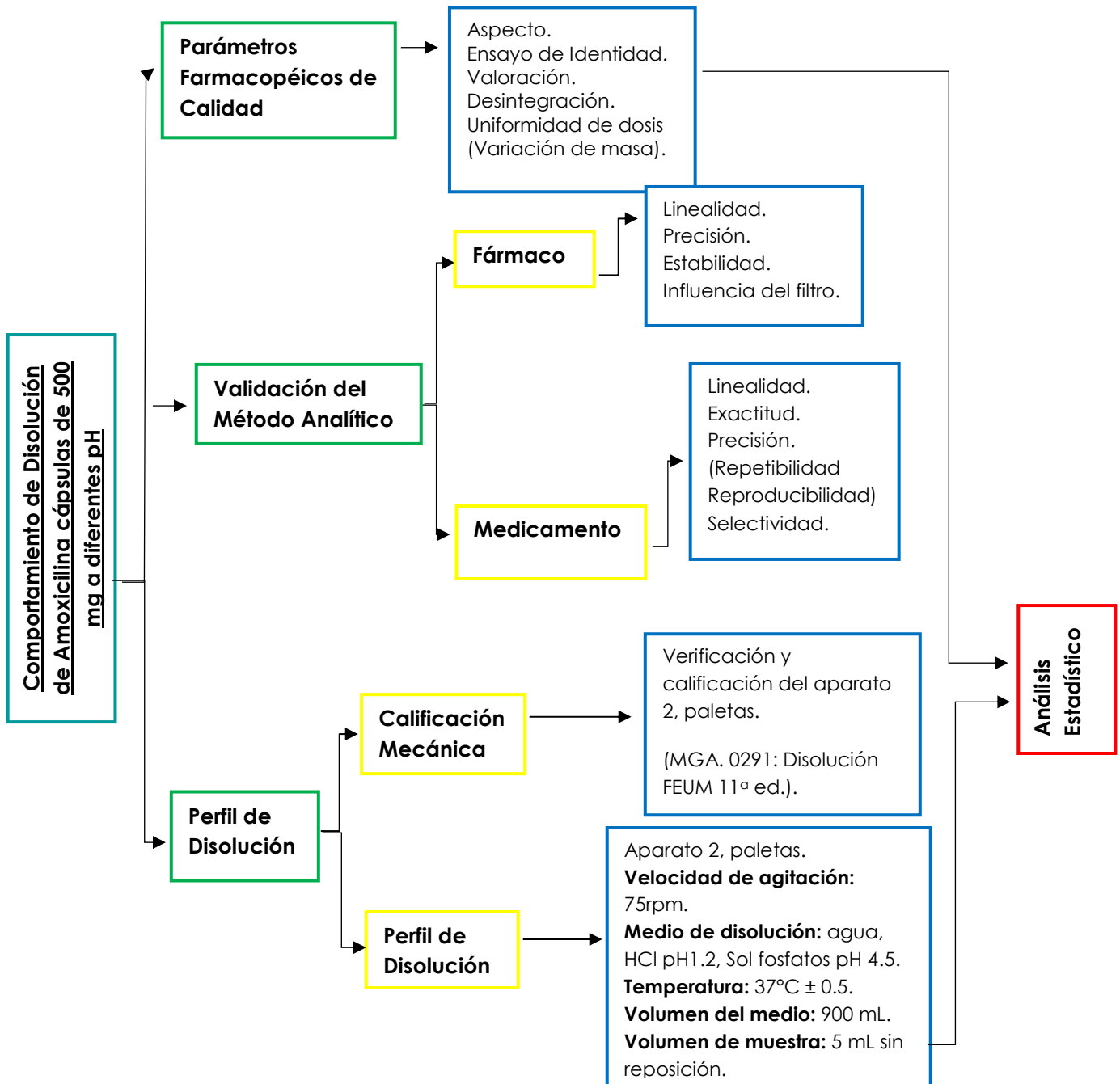


Figura 9. Diagrama de flujo de la metodología.

5.6. Equipo.

- Disolutor Varian 705 DS.
- Potenciómetro Hanna Instruments Modelo: HI-2211.
- Desintegrador Modelo BJ2.
- Estufa MAPSA Modelo: HDP-334.
- Baño de ultrasonido Bandelin Sonorex Super Modelo: RK 1050 CH.

5.7. Instrumentos.

- Balanza Analítica Mettler Toledo Modelo: ME204.
- Espectrofotómetro PerkinElmer Modelo: Lamda XLS+.
- Termómetro de inmersión parcial (-10 a 150 °C).

5.8. Material.

- Matraces volumétricos de 200, 500, 25, 50, 10 y 5 mL Marca: PYREX.
- Vasos de precipitado de 600, 100, 250, 50 mL Marca: KIMAX.
- Jeringas desechables de 5 mL Marca: Terumo.
- Pipetas volumétricas 1, 2, 5 mL Marca: PYREX.
- Celda de cuarzo de 1cm.
- Embudo de talle cortó Marca: PYREX.
- Recipiente de acero inoxidable de 8 L.
- Sinkers.
- Papel filtro Whatman 541.
- Portafiltros.
- Cánulas.
- Piseta.
- Tubos de ensayo de 13X100 Marca: KIMAX Y PYREX.
- Gradilla.
- Probeta de 1L Marca: KIMAX.
- Puntas para micropipeta.
- Micropipeta eppendorf 100-1000 μ L.
- Espátula de mango de madera.

- Espátula de acero inoxidable.
- Guantes de Látex.
- Capilares.
- Portaobjetos.
- Papel aluminio.
- Bureta 10 mL Marca: PYREX.
- Soporte universal.
- Pinza de doble presión.
- Papel absorbente.

5.9. Reactivos.

- Sustancia de Referencia: Amoxicilina Trihidratada, Lote: 71029.
- Metanol, Meyer Lote: B1115628.
- Piridina, Reproquifin Lote: 19517-C.
- Fosfato Monobásico de Potasio
- Ácido Clorhídrico, Meyer Lote: COS13211-0.
- Agua destilada Milipore.
- Ninhidrina, Meyer Lote: H1008938.
- Silica gel.
- Cloroformo, JT Baker Lote: M42C59.

5.10. Medicamentos de Estudio.

Para este estudio se seleccionaron dos lotes diferentes de un medicamento genérico de Amoxicilina cápsulas de 500 mg y dos lotes diferentes del medicamento de referencia de Amoxicilina cápsulas de 500 mg. Los medicamentos se adquirieron en farmacias del área Metropolitana de la Ciudad de México, con caducidad vigente.

5.11. Parámetros Farmacopéicos de Calidad ^(23,24).

Los parámetros fisicoquímicos y farmacéuticos descritos a continuación, se realizaron a los medicamentos en estudio. La metodología para la realización de cada uno de ellos fue conforme a lo descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 10^a y 11^a Ed.

5.11.1. Aspecto ⁽²³⁾.

El aspecto se llevó a cabo con un análisis visual de 10 cápsulas para cada marca, se describió la forma, el color, tamaño, presencia de fisuras u otros defectos.

Especificación: Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura, compuestas de gelatina.

5.11.2. Ensayos de Identidad ⁽²³⁾.

Soporte. Gel de Sílice.

Fase Móvil. Metanol, Cloroformo, Agua y Piridina (90:80:30:10).

Revelador. Se preparó una solución de ninhidrina en alcohol que contenía aproximadamente 3.0 mg/mL de ninhidrina.

Preparación Sustancia de Referencia. Se preparó una solución de la SRef de Amoxicilina trihidratada en solución de ácido clorhídrico 0.1N con 4.0 mg/mL de Amoxicilina.

Preparación de la Muestra. Se pesaron 20 cápsulas, se calculó su contenido neto promedio y se mezclaron los contenidos. Se pesó una cantidad de polvo equivalente a 10 mg de Amoxicilina que fue colocada en un matraz volumétrico de 10 mL se llevó al aforo con solución de ácido clorhídrico 0.1N.

Las muestras de los medicamentos tanto la referencia como el genérico se aplicaron en las placas de sílice gel con ayuda de tubos capilares, en carriles diferentes. Se colocaron en las cámaras de elución y se dejaron ahí hasta que $\frac{3}{4}$ partes arriba de la línea de aplicación.

Se retiraron las placas, se marcó el frente de la fase móvil y se roció con el revelador (ninhidrina en alcohol), posteriormente las placas se colocaron en la estufa a una temperatura de 85°C durante 10 minutos.

Especificación: La mancha principal obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra corresponde, en tamaño, color y Rf con la mancha obtenida en el cromatograma con la preparación de referencia.

5.11.3. Uniformidad de Dosis. MGA 0.299 (Variación de masa) ⁽²⁴⁾.

Se pesaron con exactitud 10 cápsulas individualmente para obtener el peso bruto, se identificó cada unidad, se vació el contenido de cada cápsula y se pesó con exactitud cada cápsula o envase vacío. Posteriormente se calculó el peso neto individual por diferencia de peso bruto menos el peso de la cápsula vacía correspondiente, el resultado obtenido se relacionó con el resultado de la valoración del principio activo.

Especificación: *Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0% de lo declarado en el marbete.*

5.11.4. Valoración. MGA 0.101 (Valoración de Antibióticos Betalactámicos) ⁽²³⁾.

Preparación de la muestra. Para cada marca y lote se tomaron 20 cápsulas de las cuales se obtuvo el peso promedio, se vació el contenido de cada cápsula en un mortero, se homogenizó y se pesó por triplicado una muestra equivalente a 50 mg de Amoxicilina, se colocó en un matraz aforado de 50 mL y se agregó 30 mL de la solución de fosfato monobásico de potasio pH 5, se colocó en el sonicador durante 35 minutos, hasta disolver, se llevó a volumen con fosfato monobásico de potasio para así obtener una concentración final de 1 mg/mL.

Preparación del estándar. Se pesaron 15 mg de SR de Amoxicilina, se colocó en un matraz volumétrico de 25 mL, se adicionó 15 mL de fosfato monobásico de potasio pH 5 y se sónico durante 35 minutos, posteriormente se llevó al aforo con la solución de fosfato monobásico de potasio.

Procedimiento. Se transfirió 2 mL de la preparación de referencia a un matraz volumétrico de 5 mL y se llevó a volumen con la solución de fosfato monobásico de potasio pH 5, para obtener una solución de concentración de 0.24 mg/mL.

De la solución muestra se tomó una alícuota de 2.4 mL, se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL, se llevó a volumen con la solución de fosfato monobásico de potasio con pH 5 obteniendo una concentración final de 0.24 mg/mL. Ambas soluciones se leyeron a una longitud de onda de 272 nm.

Cálculos. Se determinó la concentración de la preparación de muestra y de la preparación de referencia utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{A_m}{A_{ref}} (C) \quad \text{Ecuación (6)}$$

Donde:

A_m = Absorbancia de la preparación de la muestra.

A_{ref} = Absorbancia de la preparación de referencia.

C = Concentración en miligramos por mililitro de la SRef de amoxicilina.

Especificación: *Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0% de lo declarado.*

5.11.5. Desintegración (23).

Los vasos del desintegrador se llenaron con agua hasta tapar la canastilla completamente, antes de colocar las cápsulas se verificó la temperatura del baño $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Se colocaron las 6 cápsulas en los tubos de la canastilla y ésta a su vez en el gancho metálico del desintegrador (figura 10), posteriormente el aparato se puso en operación y se contabilizó el tiempo en el que se disgregó la cápsula.

Especificación: *La desintegración completa se define como la condición en la que solo quedan sobre la malla del aparato fragmentos insolubles de gelatina de la cápsula o bien una masa suave del núcleo.*



Figura 10. Equipo para determinar la desintegración de cápsulas y/o tabletas.

5.12. Validación del Método Analítico ⁽²⁶⁾.

La validación del método analítico se realizó conforme a lo establecido en el numeral 7 de la Norma Mexicana NOM- 177-SSA1-2013.

5.12.1. Con el Fármaco.

5.12.1.1 Linealidad.

Solución de referencia. Se pesó 50 mg de SRef de Amoxicilina se llevó a un matraz aforado de 100 mL se disolvió con el medio de disolución a utilizar, y se alcanzaron las siguientes concentraciones de 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 µg/mL (cuadro 5). El análisis de las muestras se realizó a 272 nm usando como blanco de ajuste el medio de disolución. Cada nivel de concentración se realizó por duplicado.

Cuadro 5. Curva de Calibración con el fármaco.

Nivel	Vol. De Referencia (mL)	Aforo (mL)	Concentración final (µg/mL)
25%	0.5	5	50
50%	1.0		100
75%	1.5		150
100%	2.0		200
125%	2.5		250
150%	3.0		300
175%	3.5		350

Con los datos obtenidos de las 2 repeticiones, usando regresión lineal, se calculó el coeficiente de correlación (r) y el error relativo debido a la regresión ($S_{x/y}$).

Criterio de aceptación: $r \geq 0.99$; error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.

5.12.1.2. Precisión.

De los datos de linealidad se calculó el CV% del factor de respuesta (cociente de la absorbancia entre la concentración) al determinar la desviación estándar y el promedio de los datos.

Criterio de aceptación: CV% del factor de respuesta no es mayor al 2%.

5.12.1.3. Estabilidad de la Muestra.

Una solución considerada al 100% de nivel de concentración se analizó espectrofotométricamente a 272 nm y después se sometió a condiciones de refrigeración y un resguardo de 24 y 48 horas, para analizar de igual manera y concomitantemente con soluciones de referencia a la misma concentración y preparada el día del análisis. Esto por triplicado.

Con los datos se obtuvieron las diferencias absolutas del porcentaje cuantificado.

Criterio de aceptación: La diferencia absoluta del promedio del porcentaje cuantificado en el análisis inicial y final debe ser menor o igual a 3%.

5.12.1.4. Influencia del filtro.

Una solución preparada por sextuplicado con una concentración final de 200 µg/mL se analizó espectrofotométricamente a 272 nm antes y después de ser filtradas con ayuda de un portafiltro y papel Whatman 541.

Con estos datos se calculó la diferencia absoluta entre el promedio de las muestras filtradas y sin filtrar.

Criterio de aceptación: La diferencia absoluta entre el promedio de los datos de las seis muestras de solución filtrada y sin filtrar debe ser igual o menor al 2%.

5.12.2. Con el Medicamento.

5.12.2.1. Linealidad.

Solución de Muestra (M).

Se pesaron 3 muestras equivalentes a 12.5 mg de Amoxicilina cápsulas para cada marca, éstas fueron pesadas de forma independiente y colocadas en matraces volumétricos de 25 mL, adicionando medio de disolución hasta alcanzar la solubilización de la muestra con ayuda del sonicador y una vez disuelto se llevó al aforo con medio de disolución.

Solución de referencia (R).

Se pesaron 25 mg de SR de Amoxicilina y fueron colocados en un matraz volumétrico de 50 mL, adicionando medio de disolución hasta alcanzar la solubilización de la muestra con ayuda del sonicador y una vez disuelto se llevó al aforo con medio de disolución.

Se preparó una curva, por triplicado, con 7 niveles de concentración como se muestra en el cuadro 6. Las soluciones fueron analizadas a 272 nm usando como blanco de ajuste el medio de disolución.

Cuadro 6. Curva de calibración con el medicamento.

Nivel	Vol. De Referencia (mL)	Vol. De Muestra Problema (mL)	Aforo (mL)	Concentración final (µg/mL)
25%	0	0.5	5	50
50%	0.5			100
75%	1.0			150
100%	1.5			200
125%	2.0			250
150%	2.5			300
175%	3.0			350

Criterio de aceptación: *Coeficiente de regresión ≥ 0.99 y un error relativo debido a la regresión $\leq 3\%$.*

5.12.2.2. Exactitud.

Se calculó el promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad.

Criterio de aceptación: *El porcentaje de recuperación no debe variar en más del 3% con respecto a la cantidad nominal en cada punto.*

5.12.2.3. Precision

5.12.2.3.1. Repetibilidad.

De los datos de linealidad se determinó el coeficiente de variación de los porcentajes de recuperación.

Criterio de aceptación: *CV% debe ser menor o igual al 3%.*

5.12.2.3.2. Reproducibilidad.

Se evaluó el efecto de dos analistas en la precisión del método, preparado por triplicado el nivel del 100% (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y se calculó el porcentaje cuantificado.

Criterio de Aceptación: *El CV% global, del porcentaje cuantificado debe ser menor o igual al 3%.*

5.12.2.4. Selectividad.

Se preparó una solución de muestra a una concentración final de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, se leyó espectrofotométricamente a 272 nm, utilizando medio de disolución como blanco de ajuste y se comparó contra una solución de referencia a la misma concentración y una solución de muestra problema adicionada con estándar en concentración final de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La preparación de la muestra se realizó por triplicado.

Criterio de Aceptación: *Cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.*

5.13. Verificación y Calificación del aparato 2.

Para la calificación y verificación del aparato 2 se tomaron en cuenta los siguientes puntos generales (cuadro 7):

- Nivelación de la placa de los vasos.
- Velocidad de Rotación.
- Verticalidad de los vástagos.
- Centrado del vástago.
- Altura del elemento de agitación.
- Velocidad de rotación.

Para la calificación y la verificación del aparato 2 se utilizó el MGA.0291.

Cuadro 7. Calificación y verificación del aparato 2.

Parámetro	Instrumento	Descripción
Nivelación de la placa de los vasos	Nivel analógico calibrado	Se midió en el centro de la placa, en placa de soporte analógico, en al menos 2 direcciones de los vasos calibrado perpendiculares entre sí.
Centrado del vástago	Vernier y compás de precisión	Se midió alrededor de los 360° de circunferencia interior del vaso. En 4 posiciones perpendiculares entre sí.
Verticalidad del vaso	Escuadra	Se midió en la parte interna y recta de los recipientes. Se tomaron dos medidas perpendiculares entre sí.
Altura del elemento de agitación	Esferas de Calibración	Se fijó la distancia entre el fondo interior del vaso y la parte inferior del elemento de agitación, con ayuda de una esfera de calibración.
Velocidad de Rotación	Cronómetro	Se contó el número de vueltas que dará cada elemento de agitación en un minuto con ayuda de un cronómetro.

5.14. Perfil de Disolución *In Vitro*.

5.14.1. Condiciones.

Aparato: 2 de paletas

Medio de disolución: Solución amortiguadora de fosfato monobásico de potasio pH 4.5, Solución HCl 0.1N pH 1.2 y agua.

Volumen: 900 mL.

Temperatura: 37 ± 0.5 °C.

Velocidad: 75 rpm.

Tiempo de muestreo: 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75 y 90 min.

Volumen de muestra: 5 mL sin reposición de volumen.

5.14.2. Preparación de Medios de Disolución.

El volumen a utilizar de los 2 diferentes medios se preparó de acuerdo a lo indicado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 11ª Ed.

5.14.2.1. Medio de Disolución: pH 1.2 HCl 0.1N.

En un matraz volumétrico de 1000 mL, se agregaron 850 mL de agua posteriormente se adicionó 7.5 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se verificó el pH con ayuda de un potenciómetro y si era necesario se ajustó con una solución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico dependiendo el caso hasta obtener un pH de 1.2, posteriormente se llevó a volumen con agua.

5.14.2.2. Medio de Disolución: SA. Fosfato Monobásico de Potasio pH 4.5

En un matraz volumétrico de 1000 mL, se disolvió 13.61 g de fosfato monobásico de potasio con 750 mL de agua. Se verificó el pH con ayuda de un potenciómetro y si era necesario se ajustó con una solución de hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico. Posteriormente se llevó a volumen con agua.

5.14.2.3. Medio de Disolución: Agua.

Se verificó el pH del agua a utilizar durante todos los días que se llevó a cabo el estudio con este medio de disolución, el cual debió estar un rango de 6.0 – 6.5.

Nota: El pH de todos los medios se midió al inicio de la preparación y al final de la desgasificación.

5.14.3. Desgasificación de los Medios.

Se adiciono el medio de disolución dentro de un recipiente de acero inoxidable con capacidad de 8 L se puso en calentamiento hasta ebullición durante 15 minutos, posteriormente se enfrió con ayuda de un baño de hielo.

5.14.4. Procedimiento.

Se encendió el equipo disolutor Varian Modelo 705 DS (ver figura 11), se adicionó el agua para el baño y se colocaron las paletas, posteriormente se adicionó en cada vaso 900 mL de medio de disolución previamente desgasificado evitando burbujas al vaciarlo. Se inició el calentamiento y recirculación del agua del baño para alcanzar una temperatura constante de 37 ± 0.5 °C en cada vaso. El equipo se programó a una velocidad de 75 rpm por un tiempo de 90 min, se accionó el equipo y enseguida se adicionó cada una de las cápsulas dentro de un sinker con un desfase de tiempo de un minuto entre cada cápsula, se tomaron muestras filtradas (con portafiltro) de 5 mL de la zona intermedia entre la superficie del medio de disolución y la parte superior de la paleta y a una distancia de al menos 1 cm de las paredes del vaso, sin reposición del medio. Las muestras se analizaron por espectrofotometría UV a 272 nm haciendo las diluciones necesarias para obtener una respuesta confiable, posteriormente se realizó el cálculo para obtener los % disueltos a cada tiempo.



Figura 11. Disolutor Varian 705 DS.

5.14.5. Análisis Estadístico.

La comparación de los medicamentos usando parámetros independientes de cinética de disolución: %ED y TMD fue realizada a través de un análisis de varianza seguido de un análisis de medias cuando fue necesario. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente diferente cuando $P < 0.05$.

La comparación de los perfiles de disolución de la marca de referencia contra la marca de prueba, fue realizada a través del cálculo de factor de similitud (f_2) y el factor de diferencia (f_1). Comparaciones con un valor de $f_2 \geq 50$ y de $f_1 \leq 15$ se consideraron como productos con un comportamiento de disolución similar.

6. RESULTADOS.

La parte de resultados está presentada en 5 secciones.

- Sección 1, se muestran los resultados obtenidos de los **parámetros farmacopéicos** (controles de calidad) de cápsulas de Amoxicilina 500 mg. Para la identificación de los medicamentos se usará la siguiente nomenclatura.

Cápsulas de Amoxicilina 500 mg		Nomenclatura
Referencia 1	Lote 1	R1A
Referencia 2	Lote 2	R1B
Prueba 1	Lote 1	P2A
Prueba 2	Lote 2	P2B

- Sección 2, se encuentran los resultados de la **validación del método analítico**, subdividido en la validación con el fármaco y con el medicamento respectivamente.
- Sección 3, se exponen los resultados de los **perfiles de disolución**.
- Sección 4, presenta los resultados de la **Eficiencia de Disolución, el Tiempo Medio de Disolución (TMD), cinética de disolución, factor de similitud (f2) y factor de diferencia (f1)**.
- Sección 5, se muestra el **análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de Tukey**.

SECCIÓN 1.

6.1. Parámetros Farmacopéicos.

6.1.1. Aspecto.

En la figura 12 se observa el aspecto de las cápsulas de Amoxicilina 500 mg de las dos marcas estudiadas. Ninguna de ellas presentó características fuera de la especificación indicada.



Figura 12. Medicamentos de estudio.

Dictamen: Conforme

6.1.2. Ensayo de Identidad.

En la figura 13 se observa la elución de Amoxicilina en las cromatoplacas de silica gel, utilizando como fase móvil Metanol: Cloroformo: Agua: Piridina en proporción 90:80:30:10. El cuadro 8, concentra el valor de los Rf obtenido en todos los medicamentos de estudio y del estándar de amoxicilina trihidratada utilizado, los cálculos de Rf se realizaron con la siguiente fórmula (ecuación 7).

$$R_f = \frac{\text{Distancia Recorrida por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida por el eluyente}} \quad \text{Ecuación (7)}$$

Cuadro 8. Valores de Rf.

	Muestra	Rf
Cromatoplaaca Referencia	STD	0.7037
	R1A	0.7407
	R1B	0.7222
Cromatoplaaca Prueba	STD	0.5660
	P2A	0.5849
	P2B	0.6037

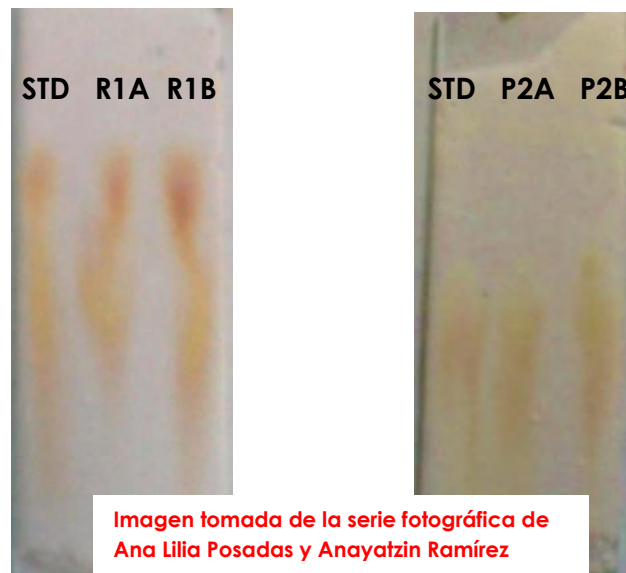


Figura 13. Placas de gel de sílice de muestras de los medicamentos utilizados comparados con el Estándar de Amoxicilina Trihidratada.

Dictamen: Conforme

6.1.3. Uniformidad de Dosis (Variación de masa).

Los resultados para la uniformidad de dosis de los medicamentos de prueba y de referencia, no mostraron desviación a la especificación farmacopeica (contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0% de lo declarado en el marbete) alcanzando valores de promedio muy similares, tal como puede observarse en el cuadro 9 y su representación gráfica en el gráfico 1.

Cuadro 9. Uniformidad de dosis del medicamento de prueba y referencia.

N° de cápsula	Medicamento Referencia		Medicamento Prueba	
	R1A	R1B	P2A	P2B
	% de Amoxicilina	% de Amoxicilina	% de Amoxicilina	% de Amoxicilina
1	107.13	114.98	106.08	109.29
2	105.37	109.97	110.26	104.51
3	108.03	108.63	110.00	112.04
4	109.92	108.50	110.73	107.63
5	112.19	109.01	111.59	103.38
6	106.85	107.64	98.78	106.20
7	112.64	106.30	110.40	106.63
8	107.20	115.73	109.29	102.36
9	106.98	109.11	107.62	108.95
10	107.39	108.14	109.65	101.40
\bar{X}	108.37	109.80	108.44	106.24
CV%	0.4177	0.5363	0.6323	0.5663

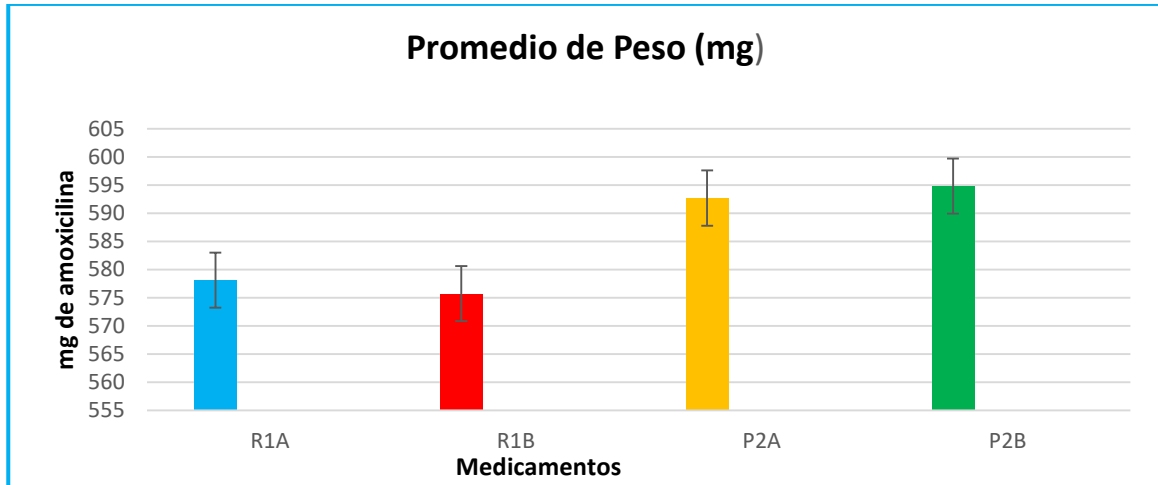


Gráfico 1: Promedio de peso de 10 cápsulas (mg).

Dictamen: Conforme

6.1.4. Valoración.

El porcentaje contenido de Amoxicilina (valoración) de los medicamentos estudiados por marca y lote de medicamento se muestran en el cuadro 10, éste concentra los promedios de las 3 muestras por marca y lote con el CV% obtenido para cada caso, la representación gráfica de los mismos se presenta en el gráfico 2.

Cuadro 10. Porcentaje de principio activo de Amoxicilina en el medicamento de referencia y el de prueba.

Medicamentos	Promedio	CV%
R1A	108.37	2.63
R1B	109.80	1.82
P2A	108.44	0.0717
P2B	106.24	0.0074

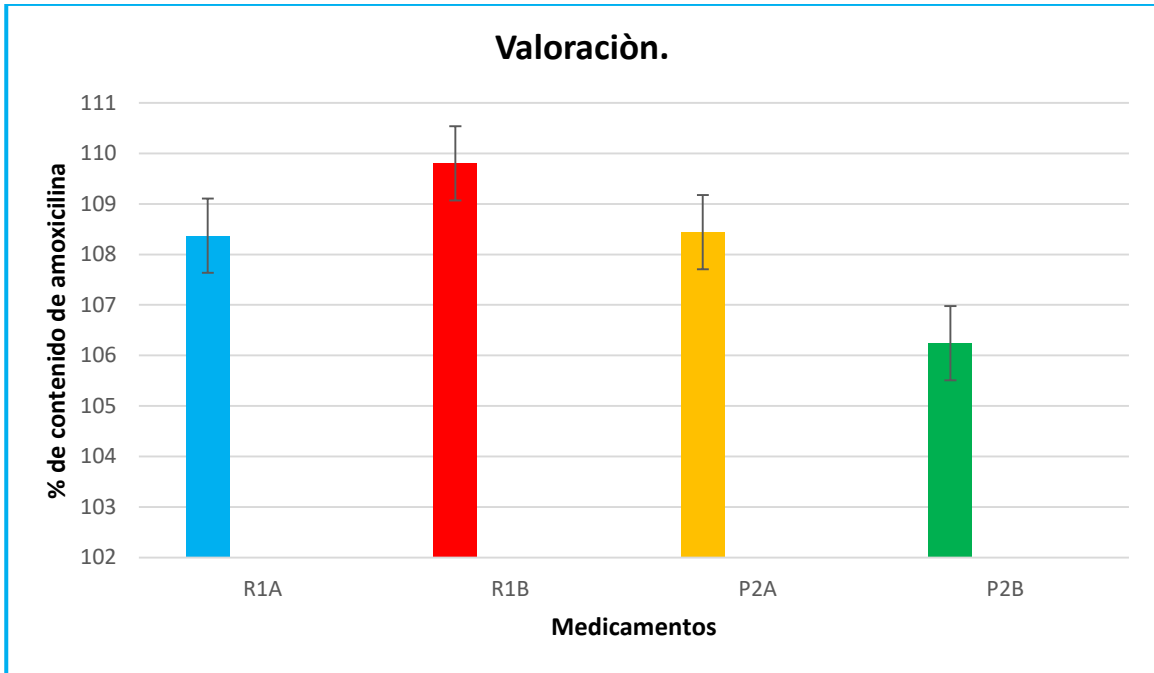


Gráfico 2: Porcentaje promedio de Amoxicilina en el medicamento de prueba y el de referencia.

Dictamen: Conforme

6.1.5. Desintegración.

El tiempo de desintegración de las cápsulas en las presentaciones analizadas fue menor a los 10 minutos tal como se registra en el cuadro 11.

Cuadro 11. Tiempo de desintegración del medicamento de prueba y el de referencia.

Medicamento/ Lote	Tiempo de Desintegración (minutos)
R1A	8:45
R1B	9:33
P2A	9:23
P2B	9:39

Dictamen: Conforme

SECCIÓN 2.

6.2. Validación Del Método Analítico Para Perfiles De Disolución.

6.2.1. Con el Fármaco.

6.2.1.1. Linealidad.

La relación entre la absorbancia y la concentración de Amoxicilina en el intervalo de 50 a 350 µg/mL determinada para el parámetro de linealidad para el fármaco utilizando como medio de disolución agua, solución de fosfatos pH 4.5 y solución de HCl pH 1.2, mostró una relación lineal con un coeficiente de correlación mayor a 0.99 y un error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$) menor al 2% en todos los casos, tal como puede observarse en los gráficos 3-5 respectivamente y en el cuadro 12.

Cuadro 12. Parámetros obtenidos de la linealidad del fármaco en los 3 medios de disolución.

Parámetro	Especificación	Medio de Disolución Valor Obtenido		
		Agua	pH 4.5	pH 1.2
b	Sin especificación	-0.00357	0.00057	0.00200
m	Sin especificación	0.00248	0.00260	0.00251
r	≥0.99	0.99967	0.99979	0.99958
$S_{y/x}$	No mayor al 2%	0.01875	0.4535	0.0311

Dictamen: Conforme

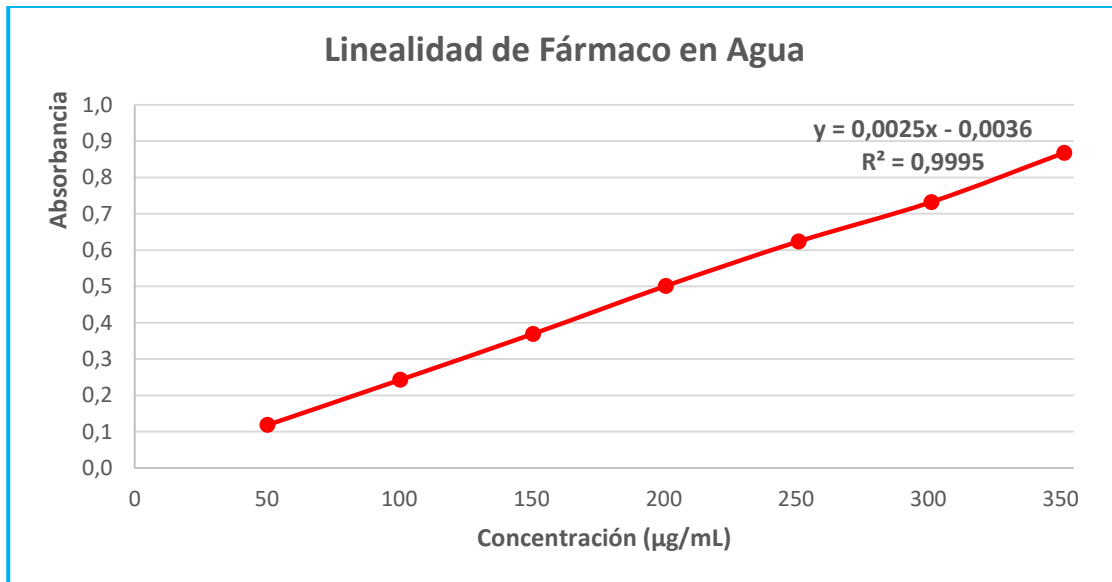


Gráfico 3: Linealidad del fármaco en medio de disolución de agua.

Dictamen: Conforme

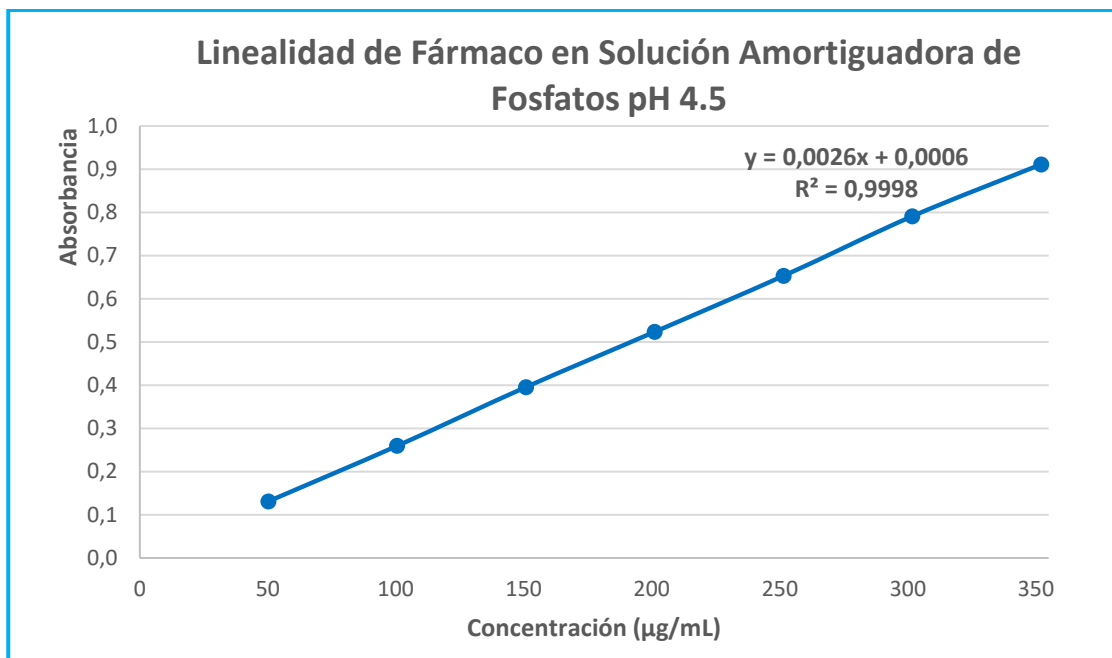


Gráfico 4: Linealidad del fármaco en medio de disolución fosfatos pH 4.5.

Dictamen: Conforme

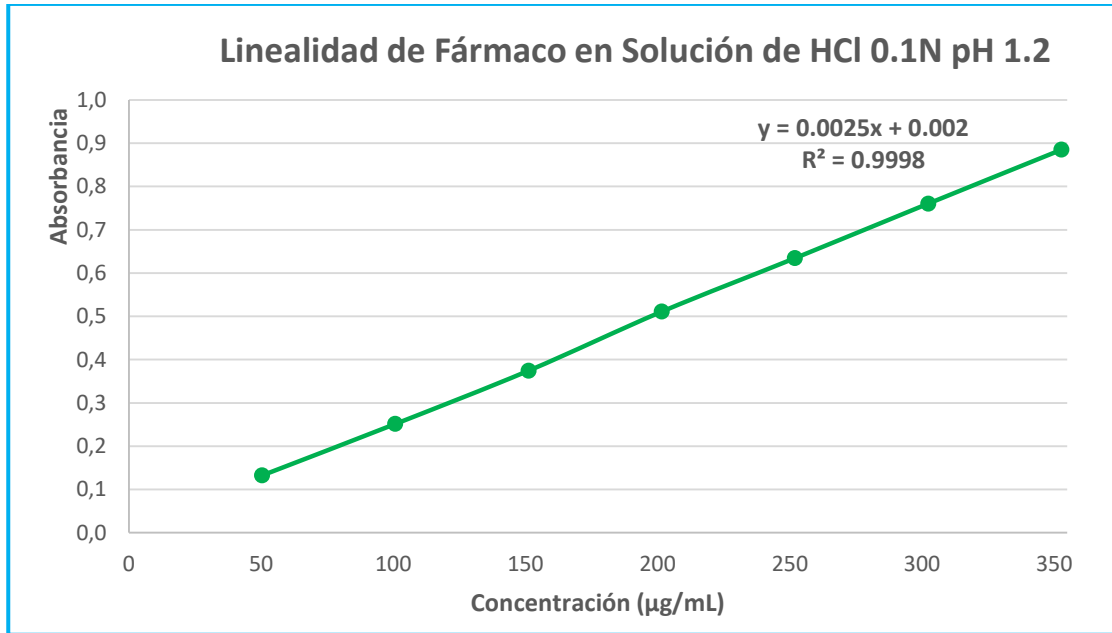


Gráfico 5: Linealidad del fármaco en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

Dictamen: Conforme

6.2.1.2. Precisión.

El cuadro 13 muestra el CV% del factor respuesta calculado a partir de los datos de linealidad para el fármaco en los diferentes medios de disolución estudiados, como requerimiento para establecer el parámetro de precisión.

Cuadro 13. Precisión del fármaco (Amoxicilina) en 3 diferentes medios de disolución.

Medio de disolución	CV% del Factor Respuesta
Agua	1.288
Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 4.5	1.125
Solución de HCl pH 1.2	3.160

Dictamen: Conforme

6.2.1.3. Estabilidad de la Muestra.

En los cuadros 14-16 se presentan los resultados para la estabilidad de la muestra a las 0, 24 y 48 horas de una solución de Amoxicilina de concentración de 200 µg/mL resguardada a temperatura ambiente y protegida de la luz en los diferentes medios de disolución estudiados.

Cuadro 14. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución agua.

Condición/Concentración						
Inicial 0 h	24h	48h	24 h		48 h	
Amoxicilina µg/mL			% diferencia absoluta	Promedio	% diferencia absoluta	Promedio
200	205.82	224.70	2.56	1.62	12.35	9.63
	201.86	223.31	0.93		11.65	
	202.79	209.79	1.39		4.89	

Dictamen: Conforme hasta las 24 h.

Cuadro 15. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución fosfatos pH 4.5.

Condición/Concentración						
Inicial 0 h	24h	48h	24 h		48 h	
Amoxicilina µg/mL			% diferencia absoluta	Promedio	% diferencia absoluta	Promedio
200	195.64	193.68	1.38	1.31	2.37	1.91
	201.15	195.27	1.38		1.58	
	200.75	194.86	1.18		1.78	

Dictamen: Conforme a las 24 y 48 h.

Cuadro 16. Estabilidad del fármaco utilizando como medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

Condición/Concentración						
Inicial 0 h	24h	48h	24 h		48 h	
Amoxicilina µg/mL			% diferencia absoluta	Promedio	% diferencia absoluta	Promedio
200	208.75	209.16	4.74	2.40	4.94	6.86
	202.17	214.91	1.44		7.83	
	201.35	214.91	1.03		7.83	

Dictamen: Conforme hasta las 24 h.

6.2.1.4. Influencia del filtro.

La influencia del filtro se realizó utilizando papel filtro Whatman 541 como medio filtrante en los tres medios de disolución estudiados. El cuadro 17 presenta como la diferencia absoluta entre las absorbancias determinadas antes y después de filtrar las soluciones en estudio, cumplen el criterio de aceptación para el parámetro influencia del filtro.

Cuadro 17. Influencia del filtro utilizando en tres medios de disolución.

Mues- tra	Concentra- ción µg/mL	Agua		Fosfatos pH 4.5		Sol. HCl 0.1N pH 1.2	
		Absorbancia sin filtrar	Absorbancia con filtrar	Absor- bancia sin filtrar	Absorbancia con filtrar	Absorbancia sin filtrar	Absorbancia con filtrar
1	200	0.515	0.512	0.538	0.558	0.515	0.508
2		0.524	0.515	0.535	0.500	0.505	0.519
3		0.527	0.543	0.545	0.517	0.525	0.517
4		0.522	0.538	0.535	0.555	0.535	0.525
5		0.526	0.538	0.535	0.535	0.535	0.530
6		0.539	0.542	0.538	0.493	0.518	0.493
7		0.533	0.539	0.540	0.550	0.540	0.550
	Promedio	0.526	0.532	0.538	0.529	0.524	0.520
	Diferencia	0.006		0.009		0.004	
	% Diferencia absoluta	1.14		1.67		0.76	

Dictamen: Conforme

6.2.2. Con el Medicamento.

6.2.2.1. Linealidad.

La linealidad de los medicamentos (referencia y prueba) realizada por la técnica de adición de estándar en tres medios de disolución se presenta en los gráficos 6-8. El cuadro 18, presenta el concentrado de los valores de la ordenada al origen (b), pendiente (m), coeficiente de correlación (r) y error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$) de los gráficos respectivos.

Cuadro 18. Parámetros obtenidos de la linealidad de los medicamentos en los 3 medios de disolución.

Parámetro	Especificación	Agua		Fosfatos pH 4.5		HCl 0.1N pH 1.2	
		Referencia	Prueba	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba
b	Sin especificación	-0.00648	0.00682	0.01858	0.01728	0.02374	0.01902
m	Sin especificación	0.00258	0.00255	0.00254	0.00255	0.00258	0.00260
r	≥ 0.99	0.99919	0.99959	0.99955	0.99916	0.99963	0.99953
$S_{y/x}$	$< 3\%$	0.008792	0.1876	0.00688	0.02271	0.008885	0.02152

Dictamen: Conforme

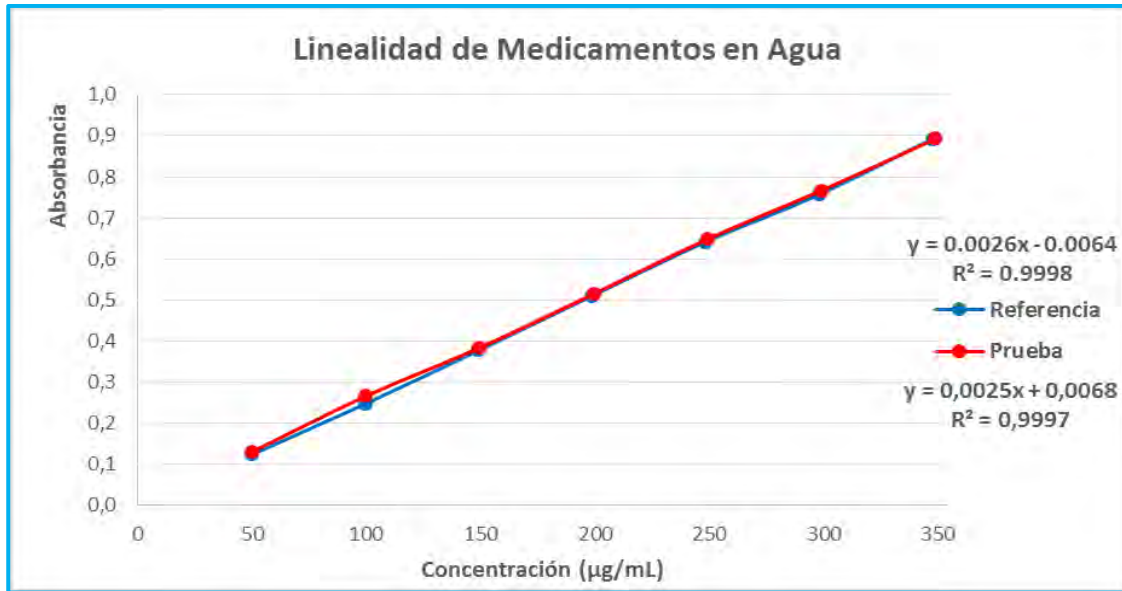


Gráfico 6: Linealidad del medicamento en medio de disolución agua.

Dictamen: Conforme

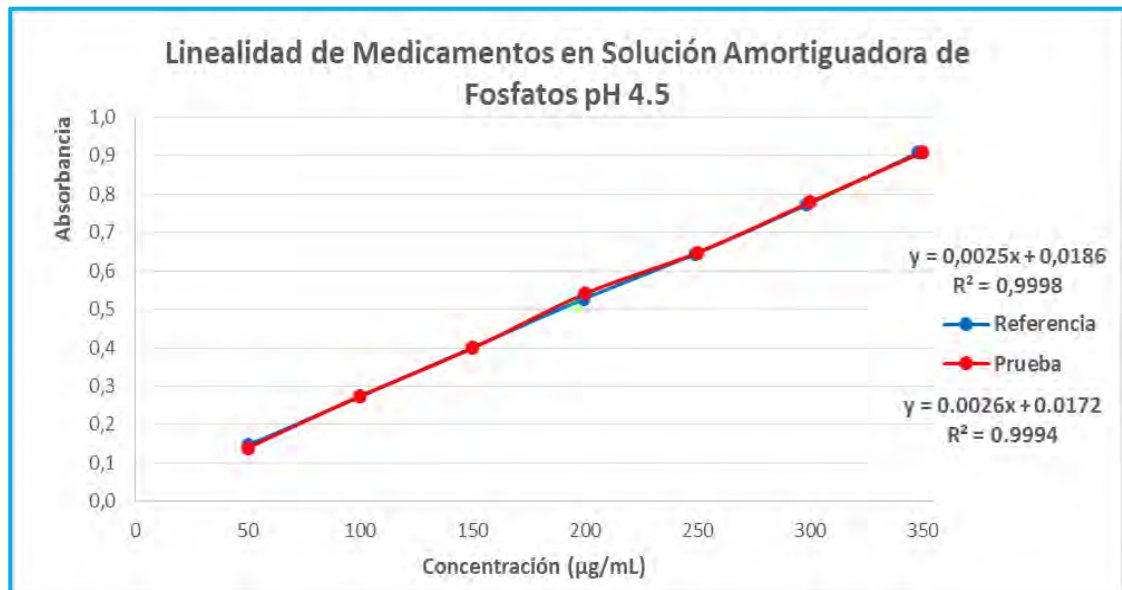


Gráfico 7: Linealidad del medicamento en medio de disolución fosfatos pH 4.5

Dictamen: Conforme

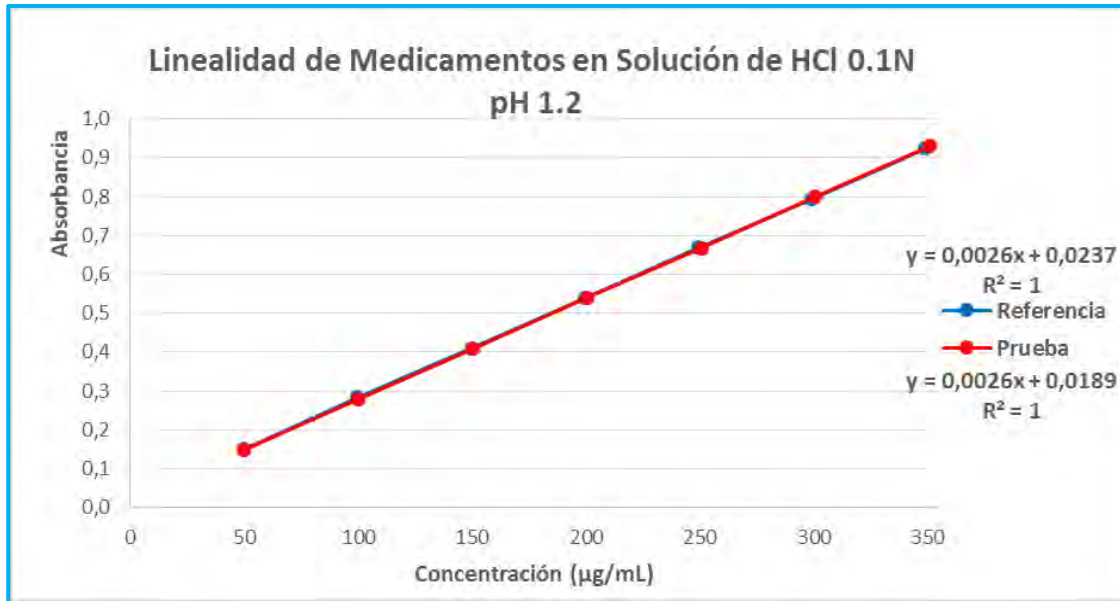


Gráfico 8: Linealidad del medicamento en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

Dictamen: Conforme

6.2.2.2. Exactitud.

El cuadro 19, presenta la exactitud del método para los medicamentos de referencia y prueba en los 3 medios de disolución utilizados. Los datos se presentan como el porcentaje promedio de recuperación para cada nivel de concentración del intervalo de linealidad.

Cuadro 19. Exactitud con el medicamento de referencia y prueba en los 3 medios de disolución.

Conc. (µg/mL)	Agua		Fosfatos pH 4.5		HCl 0.1N pH 1.2	
	Promedio del % Recuperado					
	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba
50	100.09	99.99	100.00	100.00	99.99	99.93
100	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
150	100.00	100.00	100.00	99.95	100.00	100.00
200	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
250	99.94	100.00	99.99	100.00	100.00	100.00
300	100.00	100.00	100.03	100.00	100.00	100.00
350	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Dictamen: Conforme

6.2.2.3. Precisión.

6.2.2.3.1. Repetibilidad.

La precisión en términos de repetibilidad se presenta en el cuadro 20, donde se puede observar que el CV% en los tres medios de disolución se encuentran dentro del criterio de aceptación con excepción del medicamento de prueba el cual no es repetible a una concentración de 50 µg/mL en el medio HCl 0.1 N pH 1.2.

Cuadro 20. Repetibilidad con el medicamento de referencia y prueba de los 3 medios de disolución.

Conc. (µg/mL)	Agua		Fosfatos pH 4.5		HCl 0.1N pH 1.2	
	CV%					
	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba
50	0.8888	0.9158	0.3662	1.0197	1.6407	3.8125
100	0.3619	0.2658	3.5230	0.3937	0.8728	0.3612
150	0.2647	1.0522	0.1238	0.5353	1.2316	0.4256
200	0.2024	0.4247	0.0916	0.2542	0.6016	0.5118
250	0.0814	0.4580	0.0733	0.3001	0.3495	0.5300
300	0.2028	1.3212	0.0912	0.1851	0.1947	0.5622
350	0.1180	0.4805	0.0634	0.3908	0.1949	0.9920
Promedio	0.3029	0.7026	0.6189	0.4398	0.7265	0.4398

Dictamen: Conforme

6.2.2.3.2. Reproducibilidad.

Este parámetro se llevó a cabo por triplicado por 2 analistas, usando el nivel de concentración del 100% (200 µg/mL), en los tres medios de disolución utilizados. En los cuadros 21-23 se puede observar las concentraciones recuperadas de principio activo, el % de la cantidad recuperada y el CV% por cada analista.

Cuadro 21. Reproducibilidad del medicamento en agua.

	Conc. Adicionada (µg/mL)	Referencia			Prueba		
		Conc. Recuperada (µg/mL)	% conc. Recuperada	CV%	Conc. recuperada (µg/mL)	% conc. recuperada	CV%
Analista 1	200	198.93	100.13	0.2024	199.68	100.16	0.4247
		198.21	99.76		200.00	100.32	
		198.88	100.10		198.40	99.52	
Analista 2	200	198.26	99.99	0.0814	198.32	99.89	0.1231
		197.91	99.85		198.80	100.14	
		198.26	99.99		198.48	99.97	

Dictamen: Conforme

Cuadro 22. Reproducibilidad del medicamento en fosfatos pH 4.5.

	Conc. Adicionada (µg/mL)	Referencia			Prueba		
		Conc. Recuperada (µg/mL)	% conc. Recuperada	CV%	Conc. recuperada (µg/mL)	% conc. recuperada	CV%
Analista 1	200	199.04	99.89	0.0916	200.25	100.08	0.2542
		199.34	100.04		200.47	100.19	
		199.37	100.06		199.50	99.71	
Analista 2	200	200.04	100.02	0.4495	201.90	100.31	0.2708
		199.96	99.98		200.04	99.98	
		201.56	100.78		200.89	99.81	

Dictamen: Conforme

Cuadro 23. Reproducibilidad del medicamento en ácido clorhídrico 0.1N pH 1.2.

	Conc. Adicionada (µg/mL)	Referencia			Prueba		
		Conc. Recuperada (µg/mL)	% conc. Recuperada	CV%	Conc. recuperada (µg/mL)	% conc. recuperada	CV%
Analista 1	200	200.38	100.50	0.6016	199.30	99.48	0.5118
		199.71	100.16		200.37	100.01	
		198.05	99.33		201.35	100.50	
Analista 2	200	200.84	99.89	0.3608	199.92	99.55	0.3913
		201.87	100.40		201.17	100.17	
		200.47	99.71		201.37	100.27	

Dictamen: Conforme

6.2.2.3. Selectividad.

La curva de calibración realizada usando la técnica de adición de un estándar en cada uno de los medios de disolución: agua, solución de fosfatos pH 4.5 y solución de HCl pH 1.2 para determinar este parámetro se presentan en los gráficos 9-11. En ellos se observa que en ningún caso las absorbancias atribuidas al medicamento de prueba o referencia son mayores a las obtenidas de una solución de referencia al mismo nivel de concentración.

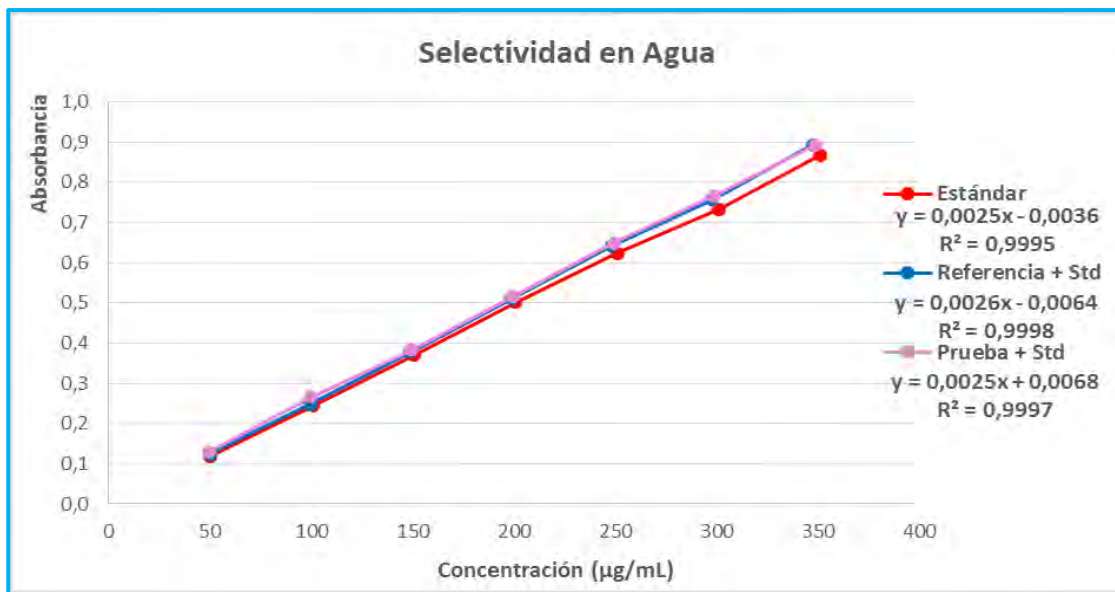


Gráfico 9: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en agua.

Dictamen: Conforme

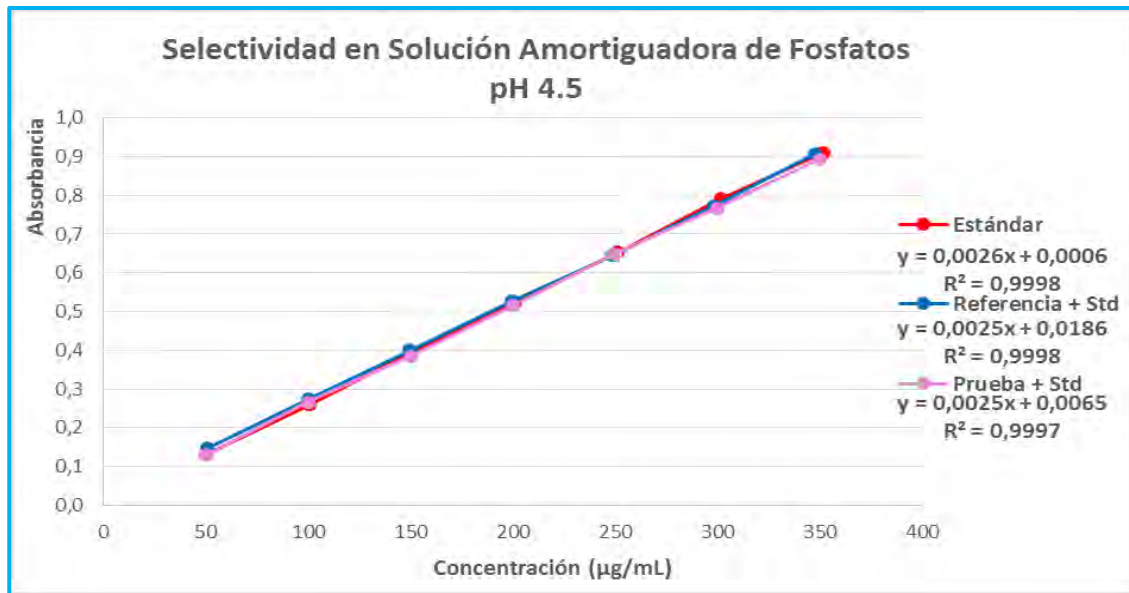


Gráfico 10: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en fosfatos pH 4.5.

Dictamen: Conforme

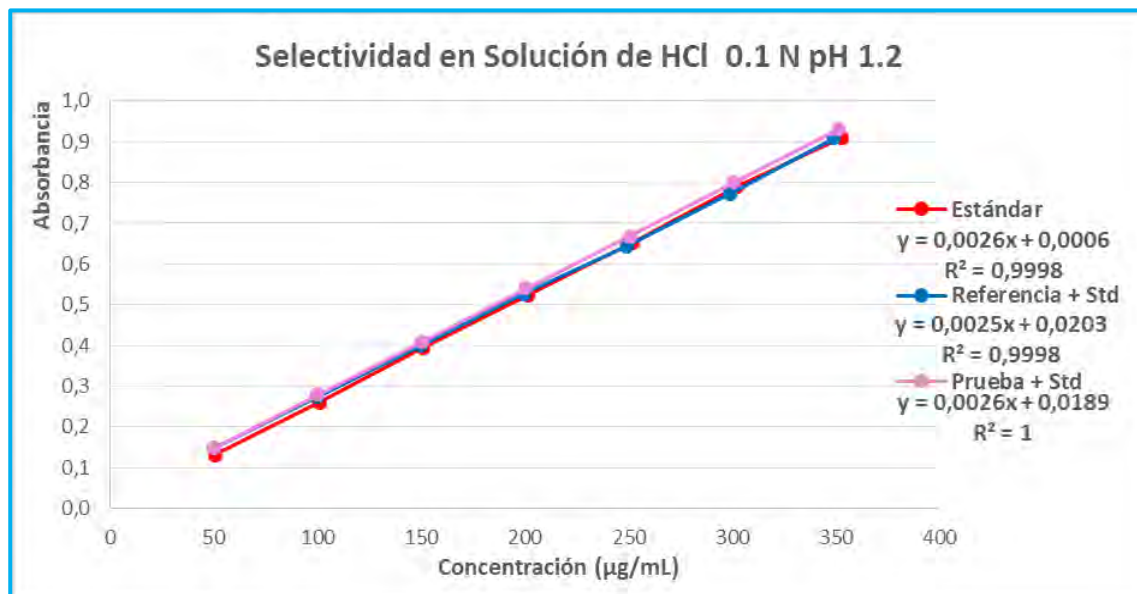


Gráfico 11: Curva con estándar contra curvas de adición de estándar en medicamento de referencia y prueba en HCl 0.1N pH 1.2.

Dictamen: Conforme

SECCIÓN 3.

6.3. Disolución.

6.3.1. Porcentaje disuelto al tiempo 60 minutos.

La cantidad promedio de ingrediente activo disuelto en las cápsulas de Amoxicilina a los 60 minutos presentado como porcentaje (Q), muestra que todas las formulaciones cumplen $Q = 80\%$ de fármaco disuelto a los 60 minutos, excepto para el estudio usando medio ácido clorhídrico pH 1.2, en el cual exhibe un % disuelto mucho mayor al 100 % como puede observarse en el gráfico 12.

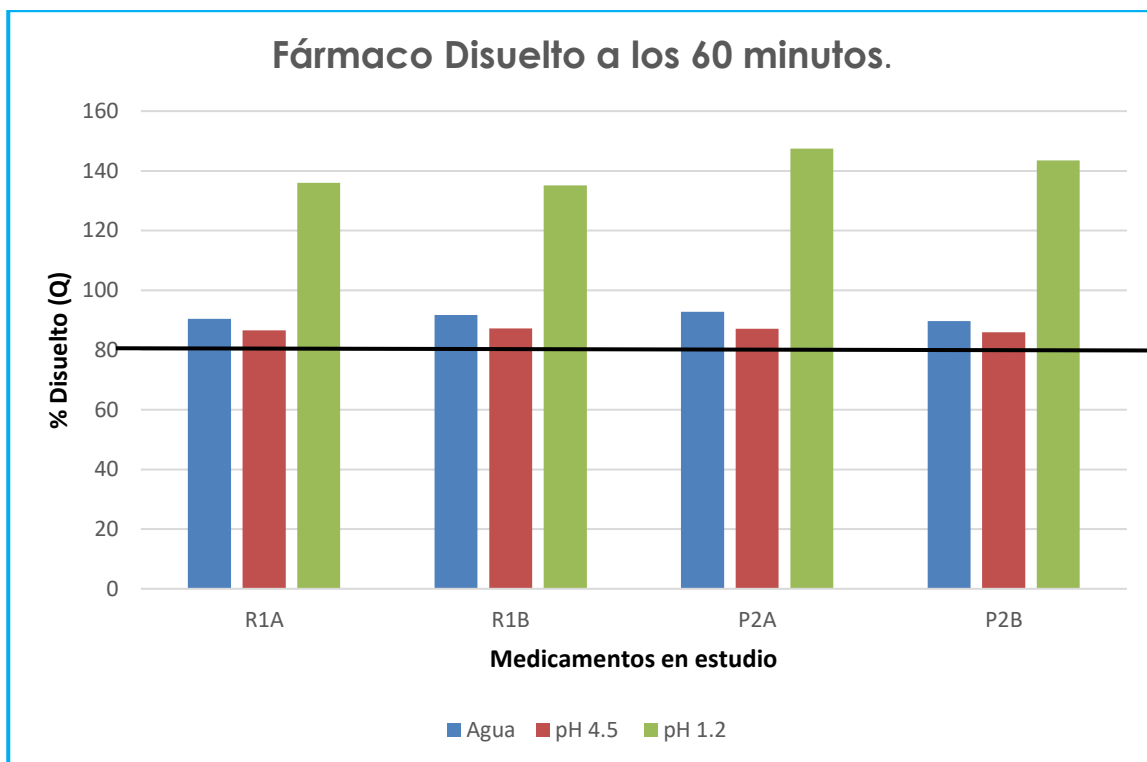


Gráfico 12: Fármaco disuelto a los 60 minutos en los diferentes medios de disolución utilizados.

6.3.2. Perfiles de Disolución.

Medio de disolución: Agua.

El comportamiento de disolución para el medicamento de referencia y prueba de los lotes estudiados usando medio de disolución agua se observan en los gráficos 13 y 14 respectivamente.

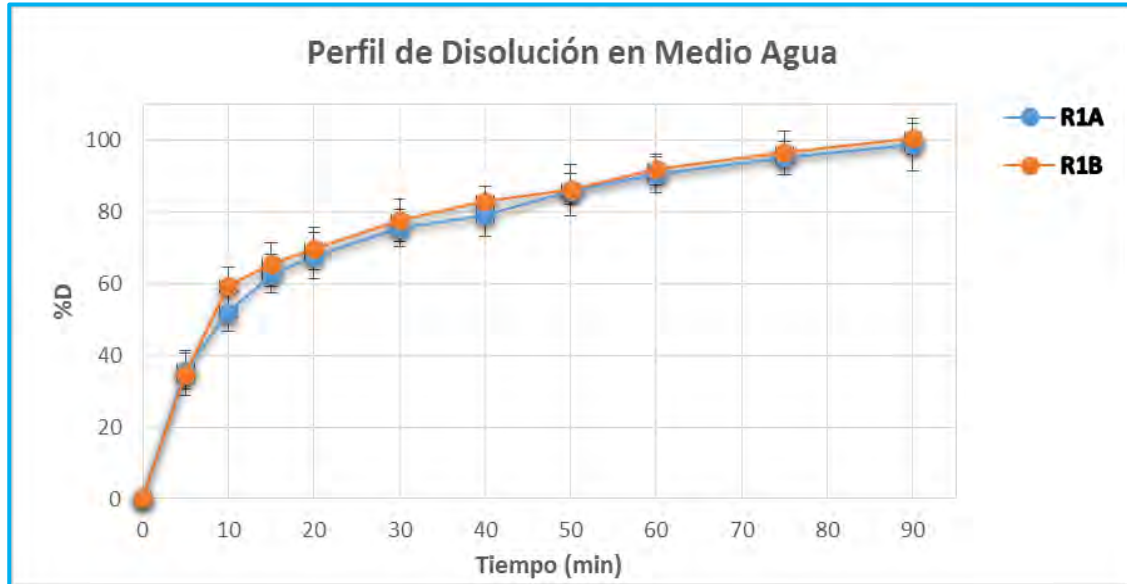


Gráfico 13: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución agua.

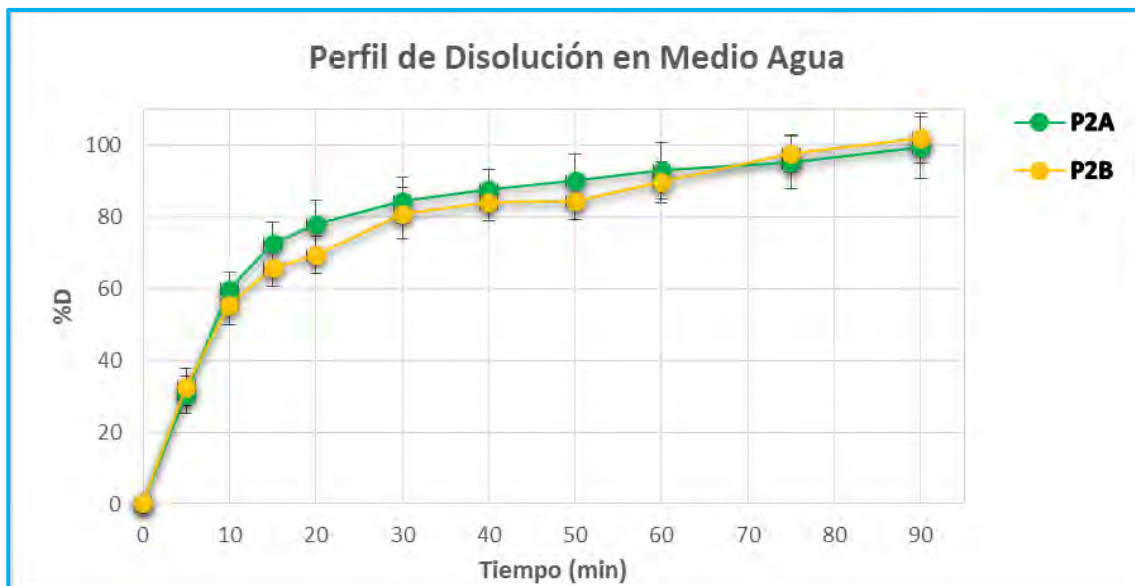


Gráfico 14: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución agua.

Medio de disolución: Solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5.

Los gráficos 15 y 16 presentan el comportamiento de disolución para el medicamento de referencia y prueba de los lotes estudiados usando medio de disolución una solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5.

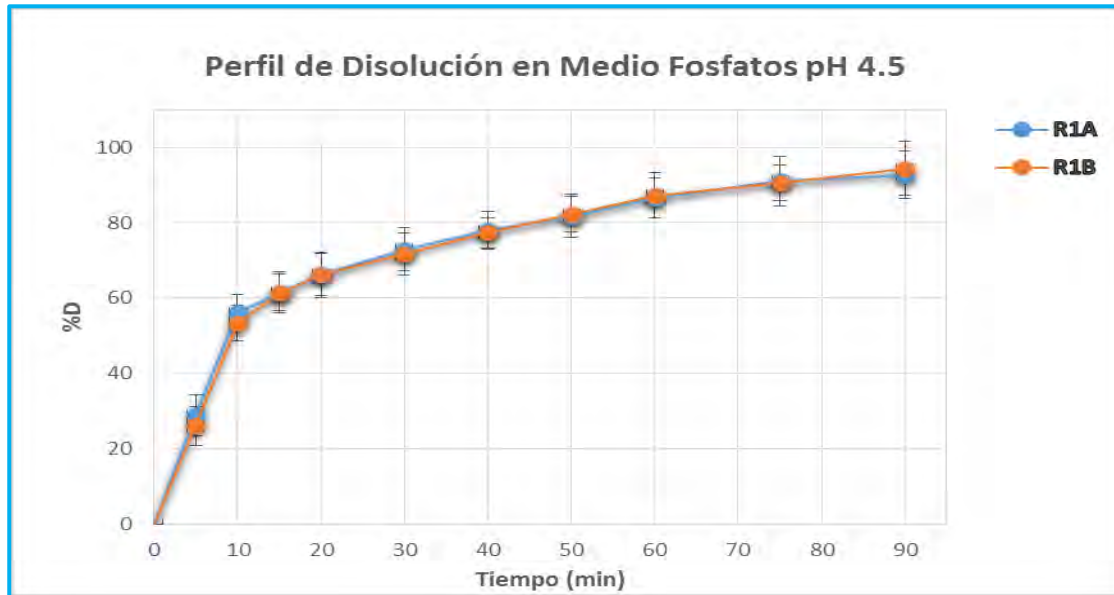


Gráfico 15: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución fosfatos pH 4.5.

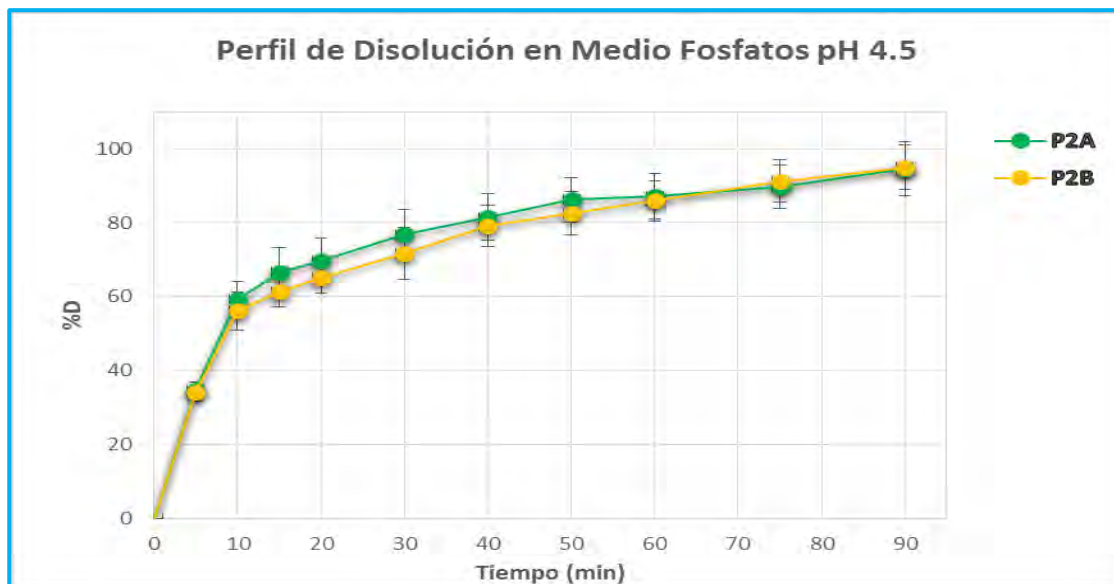


Gráfico 16: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución fosfatos pH 4.5.

Medio de disolución: Solución de HCl pH 1.2.

En los gráficos 17 y 18 se observa el comportamiento de disolución para los medicamentos de referencia y prueba de los lotes estudiados usando medio de disolución una solución de HCl pH 1.2.

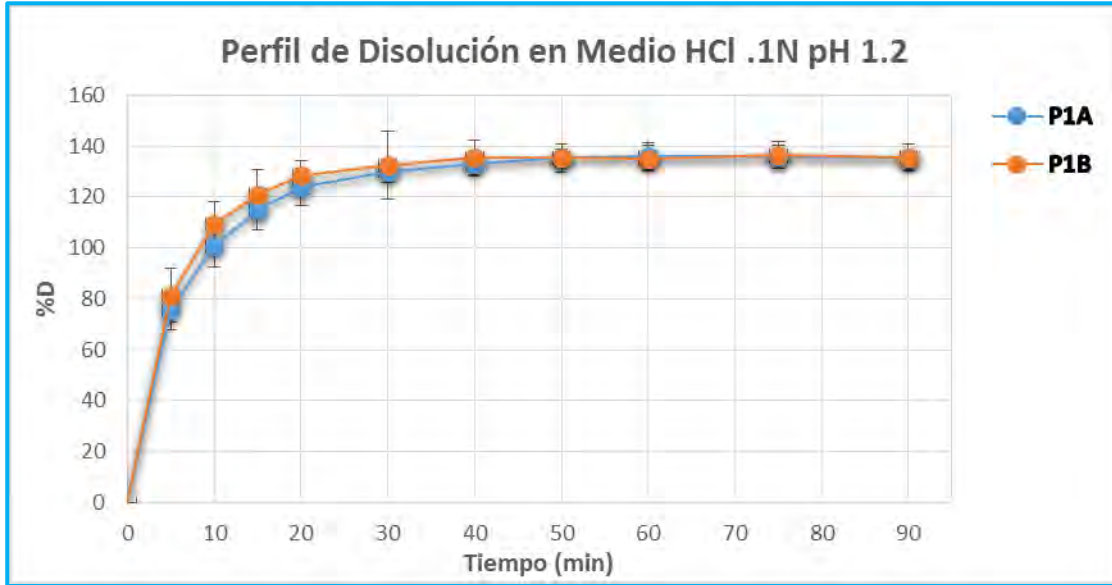


Gráfico 17: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de referencia en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

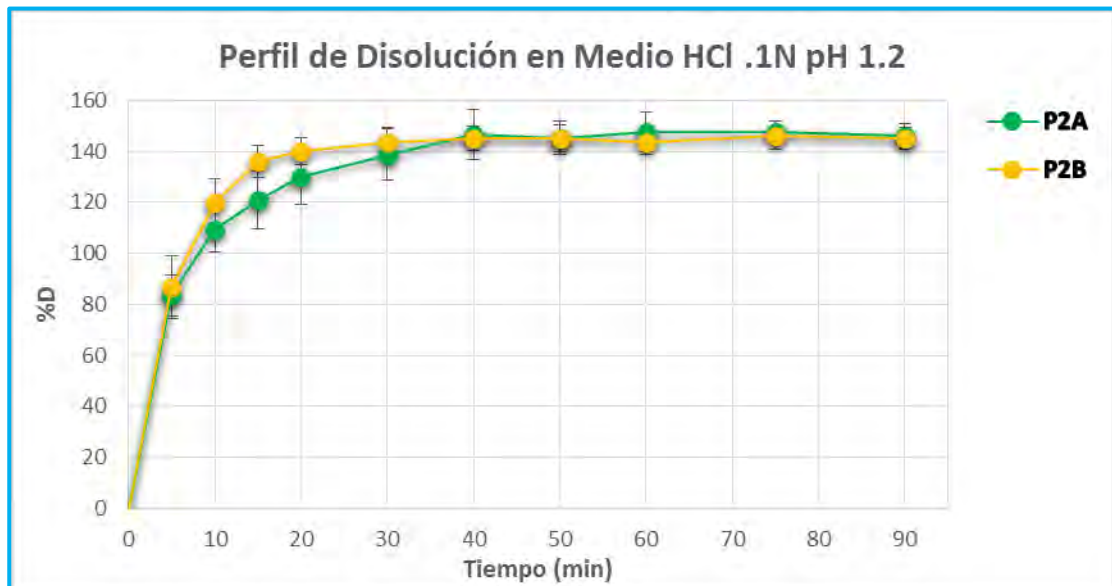


Gráfico 18: Perfil de disolución de dos lotes de medicamento de prueba en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

6.3.3. Comparación de Perfiles de Disolución.

La comparación del comportamiento de la de disolución de las cápsulas de Amoxicilina referencia y prueba durante 90 minutos en tres medios de disolución, se presentan en los gráficos siguientes.

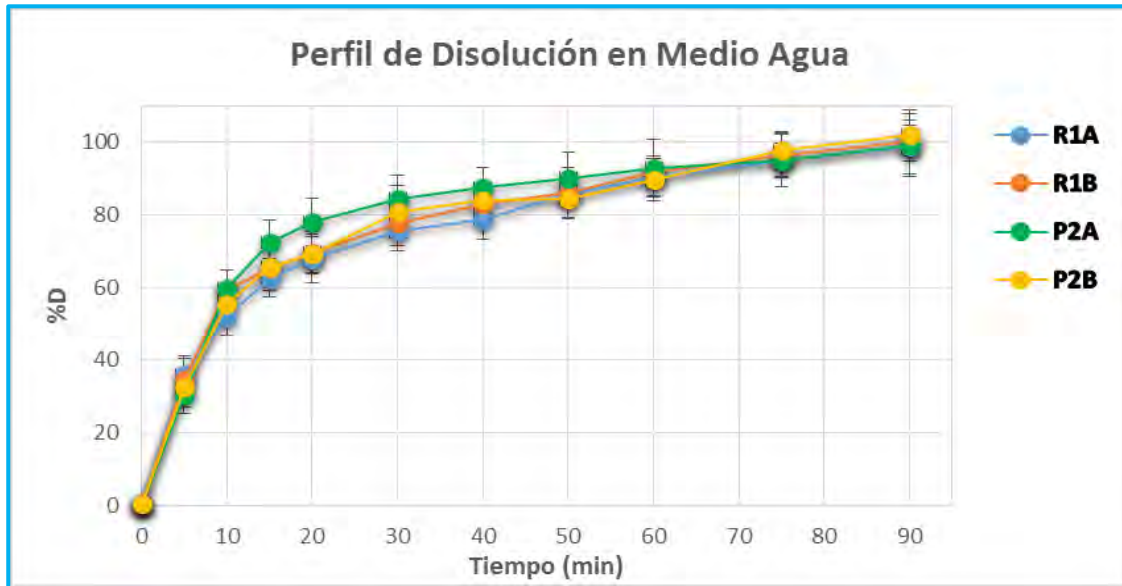


Gráfico 19: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución agua.

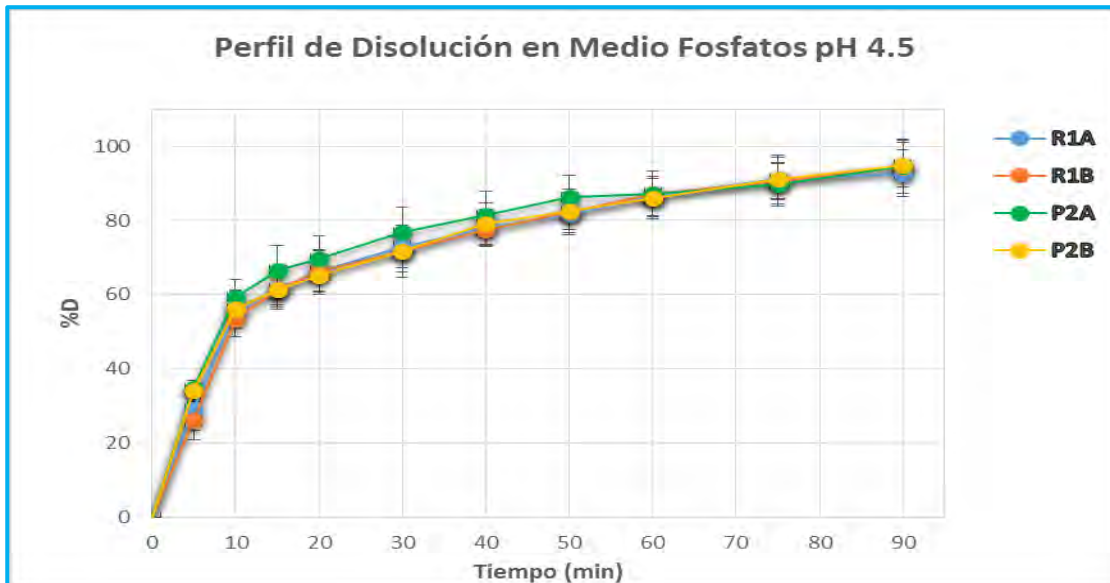


Gráfico 20: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución fosfatos pH 4.5.

El gráfico 21 conjunta los % disueltos promedio a los diferentes tiempos de los medicamentos utilizados en el estudio con medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

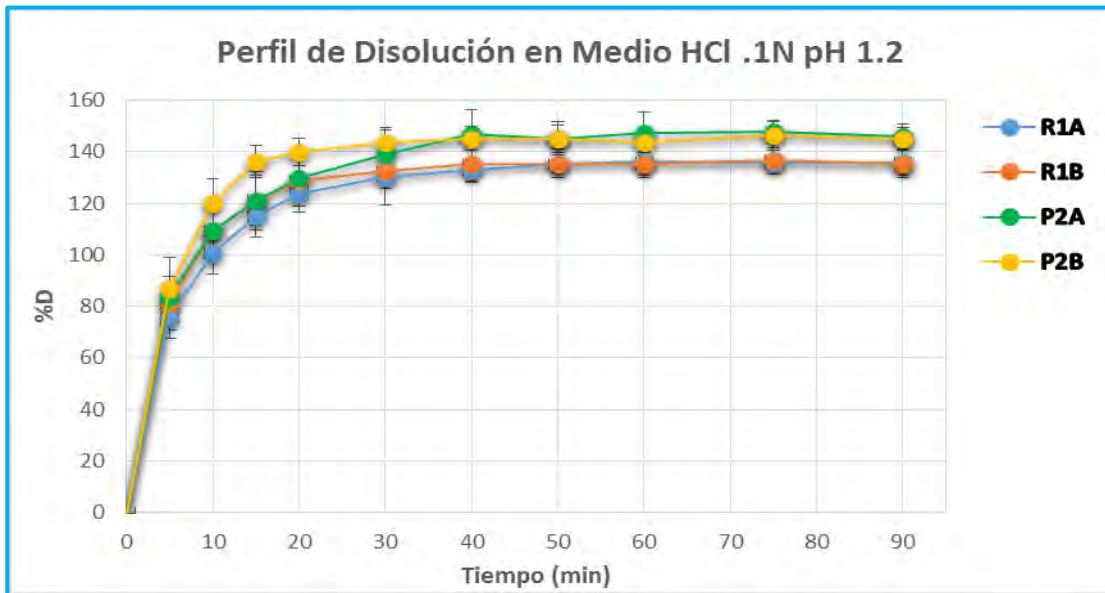


Gráfico 21: Perfil de disolución de las formulaciones estudiadas en medio de disolución HCl 0.1N pH 1.2.

SECCIÓN 4.

6.3.4. Tiempo Medio de Disolución (TMD).

En los gráficos 22-23 se observa la variación que hay en el tiempo medio de disolución cuando se ocupan diferentes medios en cada uno de los medicamentos y lotes utilizados en el estudio.

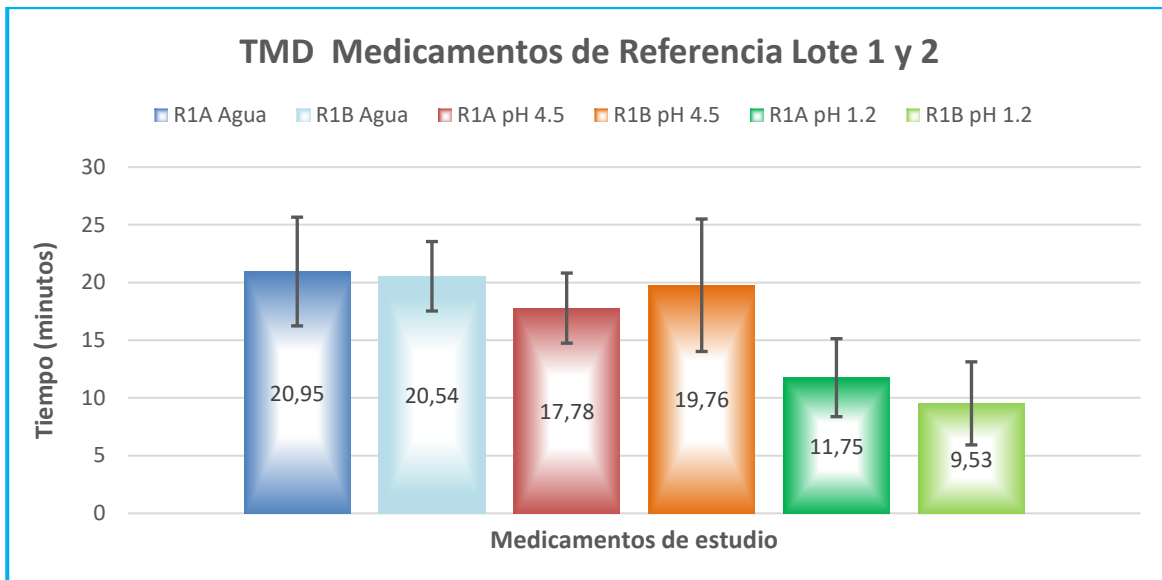


Gráfico 22: Tiempo medio de disolución obtenido en el medicamento de referencia de cápsulas de Amoxicilina 500 mg con los diferentes medios de disolución estudiados.

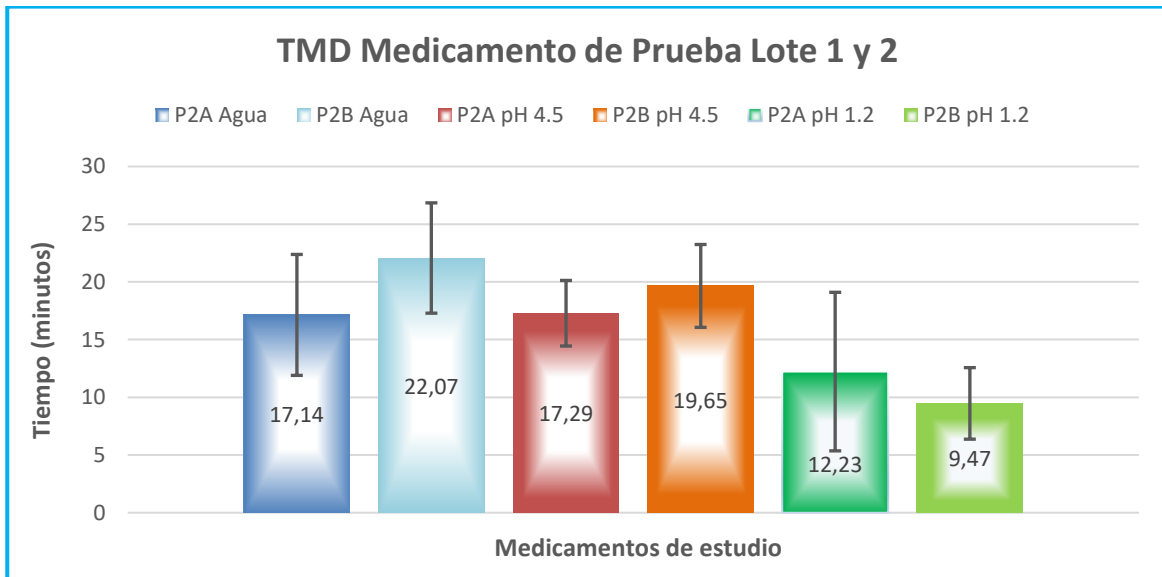


Gráfico 23: Tiempo medio de disolución obtenido en el medicamento de prueba de cápsulas de Amoxicilina 500 mg con los diferentes medios de disolución estudiados.

6.3.5. Eficiencia de Disolución (%EF).

En los gráficos 24-25 se observa la variación que existe en la eficiencia de disolución, cuando se ocupan diferentes medios de disolución, en cada uno de los medicamentos y lotes utilizados en el estudio.

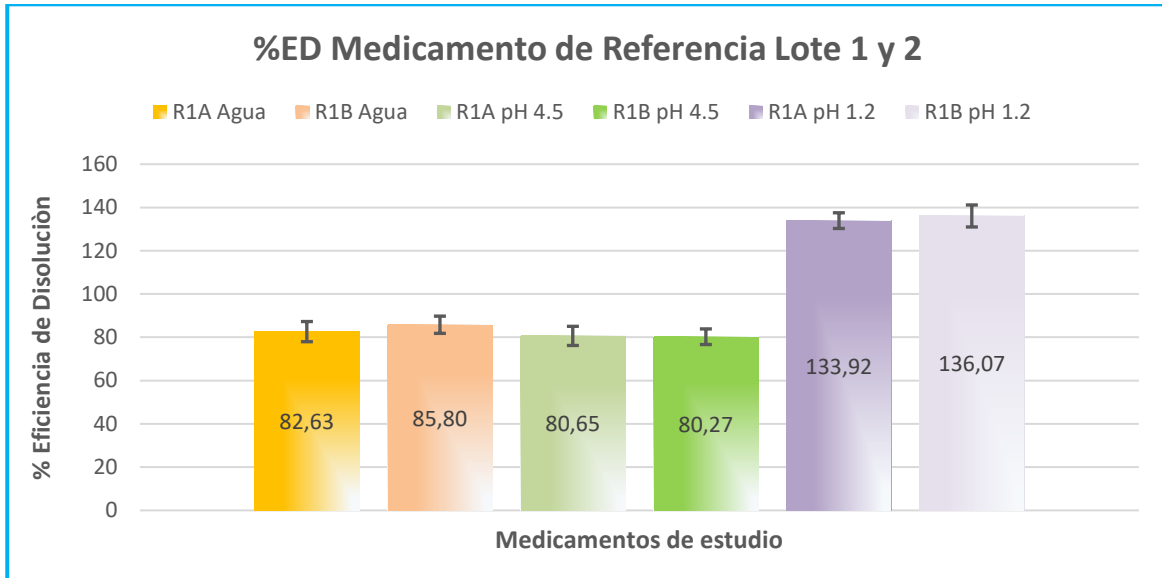


Gráfico 24: Eficiencia de Disolución del medicamento de referencia en los 3 medios de disolución.

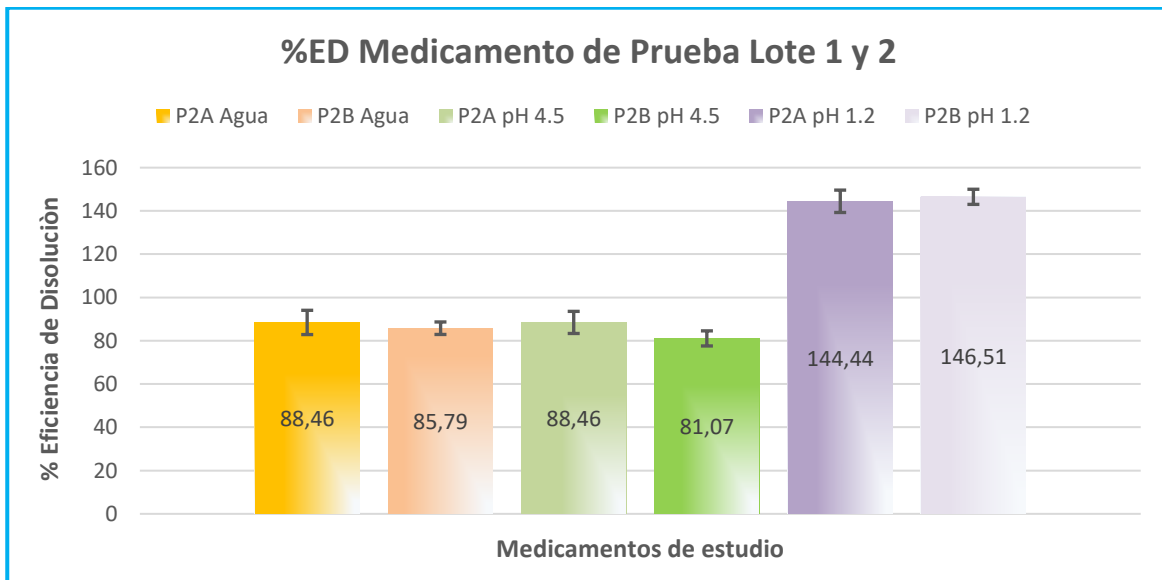


Gráfico 25: Eficiencia de Disolución del medicamento de prueba en los 3 medios de disolución.

6.3.6. Cinética de Disolución.

En el cuadro 24 se reporta el coeficiente de determinación (r^2) que se obtuvo al realizar los cálculos de la cinética de disolución para los medios de disolución en agua y fosfatos pH 4.5 ya que para el medio de HCl los datos obtenidos no permitieron su cálculo.

Cuadro 24. Cinética de disolución en los diferentes medios.

Medicamento	Medio agua	Medio fosfatos pH 4.5
	r^2	r^2
R1A	0.9760	0.9525
R1B	0.9675	0.9667
P2A	0.9247	0.9317
P2B	0.9272	0.9685
Orden de cinética	Orden 1	Orden 1

6.3.7. Factor de Similitud (f2) y Factor de Diferencia (f1).

Cuadro 25. Factor de similitud y de diferencia.

Medicamentos / Medio		Valor de f2 Especificación (50-100)	Valor de f1 Especificación (0-15)
Agua	fosfatos		
R1A vs R1A		70.78	4.68
R1B vs R1B		62.25	7.86
P2A vs P2A		60.66	7.92
P2B vs P2B		66.77	5.42

Dictamen: Conforme

SECCIÓN 5.

6.4. Análisis de Varianza y Prueba de Tukey.

Ho: $M_1=M_2=M_3$

(M)= Medio de Disolución

Ha: $M_1= M_2 \neq M_3$ ò Ha: $M_1 \neq M_3 \neq M_2$

Variable de respuesta: %ED

Cuadro 26. Análisis de varianza de un factor (Efecto de pH).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2480.5794	2	1240.2897	63.2736	2.44461E-20	3.0602
Dentro de los grupos	2763.8818	141	19.6019			
Total	5244.4612	143				

Conclusión: Se rechaza la Ho ya que F (F calculado) > Valor crítico de F (F tablas), por lo tanto se acepta la Ha que nos dice que en al menos en un medio de disolución el % de fármaco disuelto es distinto con un 95% de confiabilidad; y para saber cual es el medio que tiene un comportamiento diferente se debe realizar una comparación múltiple de medias por ejemplo (Prueba de Tukey o Dunnett) ^(27,28).

Cuadro 27. Diferencia de media (Prueba de Tukey).

HSD= 2.115			
	agua	pH 4.5	pH 1.2
agua		1.6282	9.5049
pH 4.5			7.8766
pH 1.2			

- Diferencia significativa entre medio de disolución agua y ácido clorhídrico pH 1.2.
- Diferencia significativa entre medio de disolución Fosfatos pH 4.5 y ácido clorhídrico pH 1.2.

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

El trabajo experimental se realizó con el medicamento de Referencia que establece COFEPRIS para Amoxicilina cápsulas de 500 mg y un medicamento de prueba, de los cuales se adquirieron dos lotes de cada medicamento (referencia y prueba). Para la identificación de las marcas y los lotes analizados se utilizó la siguiente nomenclatura: Referencia 1 del lote 1 (R1A), Referencia 1 del lote 2 (R1B), Prueba 2 de lote 1 (P2A) Y Prueba 2 del lote 2 (P2B). La realización del estudio empleando al menos 2 lotes diferentes tuvo la finalidad de explorar la consistencia de los resultados entre lotes.

I. Parámetros Farmacopéicos.

La monografía de Cápsulas de Amoxicilina 500 mg en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11ª Edición establece como pruebas de control de calidad para producto terminado las siguientes: aspecto, ensayo de identidad, uniformidad de dosis (variación de masa) y valoración, sin embargo con la finalidad de complementar el control de calidad se realizó también la prueba de desintegración.

Las dos marcas con los dos lotes de cada medicamento presentaron un aspecto físico similar a excepción del color de la cápsula, el medicamento de referencia tenía una cápsula de gelatina de color blanco con verde y el de prueba tenía una cápsula de gelatina roja con blanco pero en dimensiones eran idénticas como se puede ver en la (figura 12).

El ensayo de identidad, realizado por cromatografía de capa fina mostró que al ser comparados las muestras del estándar contra los medicamentos en estudio, eluyen de igual manera generando que el valor calculado para el R_f presentará valores similares, indicando por tanto que estamos hablando del mismo compuesto: Amoxicilina trihidratada (ver cuadro 8).

Los resultados de la evaluación de las características de calidad: uniformidad de contenido y valoración de la cantidad de ingrediente activo por unidad, en las cápsulas de los cuatro lotes estudiados, muestran que se cumple con el criterio de aceptación (90.0 -120.0 % de ingrediente activo) sin mostrar una variación alta entre las

muestras de los lotes estudiados, lo que sugiere que para los mismos la uniformidad del fármaco en las diversas etapas del proceso de fabricación fue controlado (ver gráfico 1 y gráfico 2).

Bajo la consideración que para una forma farmacéutica sólida de liberación inmediata la desintegración es un requisito previo para la disolución del principio activo y su posterior absorción en este proyecto, se decidió realizar la prueba de desintegración a las cápsulas de Amoxicilina, los resultados obtenidos indican que en ninguna de las formulaciones obtenidas el tiempo para lograr residuos de gelatina de la cápsula o bien una masa suave sin núcleo palpable fue mayor a 10 minutos, resultados que están dentro del tiempo establecido como criterio de aceptación en caso de tabletas.

II. Validación del Método Analítico.

Con la finalidad de asegurar que los resultados obtenidos por el método analítico a emplear en el estudio de disolución fueran confiables, se realizó la validación del método siguiendo lo indicado en la normatividad para estudios de disolución (NOM 177-SSA1-2013) para el medicamento de referencia y el medicamento de prueba en los tres medios de disolución a usar.

a) Con el Fármaco.

Los parámetros analíticos con el fármaco dentro de la validación del método analítico tienen la finalidad de evaluar la capacidad del sistema analítico (equipo de medición) de dar respuestas proporcionales y precisas en el intervalo de concentración estudiado, los resultados obtenidos muestran que el sistema analítico tuvo las características necesarias para ser usado como instrumento de medición en nuestro estudio. Al evidenciarse que, para los 3 medios de disolución ocupados (ver cuadro 12) el sistema usado (espectrofotómetro) proporciona respuestas lineales en el intervalo de 50 a 350 µg/mL con la precisión requerida para el objetivo propuesto, sin embargo en el (cuadro 13) se observa que en el medio de HCl 0.1N pH 1.2 la linealidad cumple con los criterios de aceptación correspondientes pero presentó un grado de concordancia entre las respuestas analíticas individuales obtenidas de 3.16 en porcentaje del coeficiente de variación, valor que si bien está por arriba del 2% marcado como criterio

de aceptación en la normatividad correspondiente, el valor obtenido puede atribuirse a una ligera mayor imprecisión en el nivel más bajo de concentración del intervalo estudiado.

La estabilidad del fármaco evaluada a las 24 y 48 horas preparado en solución (agua, fosfatos pH 4.5 y HCl 0.1N pH 1.2) y almacenada a temperatura de refrigeración (cuadros 14-16) indicó que a las 24 horas la Amoxicilina conserva sus especificaciones de calidad establecidas en medio de agua y HCl 0.1N pH 1.2. En medio de fosfatos pH 4.5 es estable a las 24 y 48 h, al cumplir con el criterio de aceptación el cual nos dice que el promedio de las muestras analizadas debe ser menor al 2%, después de este tiempo es muy probable que la Amoxicilina empiece su degradación, esto paso con los tres medios ya mencionados anteriormente.

Con la finalidad de determinar el grado de influencia de la posible adherencia del fármaco al filtro se determinó la diferencia de concentración obtenida en una muestra que contenía 200 µg/mL de principio activo antes y después de filtrar con un filtro Whatman 541; los resultados mostraron que el uso del filtro mencionado no influye de forma significativa en la respuesta medida bajo las condiciones de estudio realizadas. (cuadro 17).

b) Con el medicamento.

Para la validación de los medicamentos de referencia y prueba en los distintos medios se empleó la técnica de adición de estándar debido a que no se conocen los placebos de los medicamentos y conociendo que bajo la propiedad de aditividad de las absorbancias se puede determinar la influencia o no de los excipientes en las respuestas medidas.

Los resultados entre las absorbancias y las concentraciones correspondientes en el intervalo de 50 a 350 $\mu\text{g/mL}$ muestran una proporcionalidad lineal del tipo $y = mx + b$ en los tres medios estudiados, con coeficientes de determinación mayor a 0.99 y errores relativos menores al 3% como se observa en el (cuadro 18) y graficos del 6-8.

La exactitud del método en los niveles de concentración estudiados mostró que el grado de desviación entre el valor nominal de cada nivel y valor experimental obtenido (representado como % recuperado) no fue mayor al 3% requerido por la normatividad para este parámetro, infiriendo por tanto que el método analítico en los medios estudiados es exacto (cuadro 19). Del mismo modo la precisión del método evaluada en términos de repetibilidad y reproducibilidad, cumplieron con los criterios de aceptación, al no obtenerse una variación mayor al 3% de coeficiente de variación, indicando que la dispersión y variabilidad analítica obtenida es adecuada cuando los análisis se realicen en un solo día o por diferentes analistas. Excepto para el nivel de 50 $\mu\text{g/mL}$ en medio de HCl 0.1N pH 1.2, donde no es repetible (cuadro 20).

La capacidad del método analítico para medir de forma exacta y específica la Amoxicilina, sin interferencias de impurezas y/o excipientes que pueden estar presentes en la muestra, se verificó con la realización de la técnica de adición de un estándar, en el intervalo de linealidad establecido (50 a 350 $\mu\text{g/mL}$) para los tres medios (gráficos 9-11). La respuesta lineal obtenida del medicamento de referencia con estándar adicionado y el medicamento de prueba con estándar adicionado tienen un comportamiento similar a la recta del estándar, sugiriendo que el método es selectivo y que los excipientes de cada una de las formulaciones no interfieren en la cuantificación de la Amoxicilina trihidratada en los diferentes medios ⁽²⁹⁾.

III. Disolución.

La prueba de disolución y estudios de perfil de disolución de medicamentos, como un requisito regulatorio de control de calidad, provee evidencia sobre la consistencia física del producto y el proceso de fabricación, además puede en algunos casos ser indicador del desempeño “*in vivo*”⁽¹⁾.

En nuestro estudio los resultados de la evaluación del fármaco disuelto (Q) a los 60 minutos ⁽²³⁾ como requisito farmacopeico para cápsulas de Amoxicilina presentados en el (gráfico 12), indican que todas las formulaciones en los 3 medios de disolución estudiados, cumple con el criterio. No obstante, cuando se usa ácido clorhídrico pH 1.2, como medio de disolución se obtuvo un porcentaje disuelto a los 60 minutos mayor que cuando se emplea como medio de disolución agua o la solución de fosfatos pH 4.5. Esta situación llamo nuestra atención y dado que fue similar a la obtenida en todos los lotes de cápsulas estudiados, se descarta un error en metodología analítica o error sistemático por parte de los analistas.

El porcentaje disuelto mayor a los 60 minutos de Amoxicilina en las formulaciones estudiadas cuando se usa ácido clorhídrico pH 1.2 como medio de disolución, tampoco puede ser explicado por el contenido de principio activo, dado que los resultados de la valoración para dichas formulaciones está dentro del rango de 106.0 a 110.0% de principio activo y está dentro del criterio farmacopéico estipulado para las mismas (90.0 al 120.0%) ⁽²³⁾. Se ha reportado que la solubilidad de la Amoxicilina es dependiente del pH, y se indica que hay un aumento en su solubilidad hacia pH ácido ⁽²¹⁾. También se conoce que “un aumento en la temperatura favorece la solubilidad y la velocidad de disolución” ⁽¹⁹⁾, con base al antecedente de la influencia del pH en la solubilidad de la Amoxicilina, combinado con un ambiente de temperatura más alto durante la disolución ($37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) que la temperatura ambiente de trabajo en la prueba de valoración ($22-25^{\circ}\text{C}$), se pudo producir un porcentaje mayor de fármaco disuelto que el observado cuando la disolución se realizó con el medio de disolución agua y solución de fosfatos.

Los perfiles de disolución obtenidos en los tres diferentes medios de disolución estudiados en las dos formulaciones y sus respectivos lotes (gráficos 19-21) reprodujeron un patrón de disolución semejante, es decir, hay una fase de desintegración-disgregación muy rápida y una fase de disolución sin alcanzar una meseta que pudiera indicar el máximo disuelto de forma clara, a excepción del perfil de disolución obtenido en HCl pH 1.2 en el cual si se observa la meseta.

No se observó una variación significativa en el patrón de comportamiento disuelto durante el tiempo que duro el perfil de (0 a 90 min) en los diferentes medios de disolución usados. Tampoco se observó diferencia significativa entre el patrón de comportamiento de las formulaciones respectivas en los diferentes lotes. Por lo anterior se sugiere que para la formulación de referencia y de prueba estudiadas, cuando se usa como medio de disolución agua, solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5 o solución de HCl pH 1.2, exhiben una consistencia en el proceso de fabricación que resulta también en consistente en la disolución del fármaco.

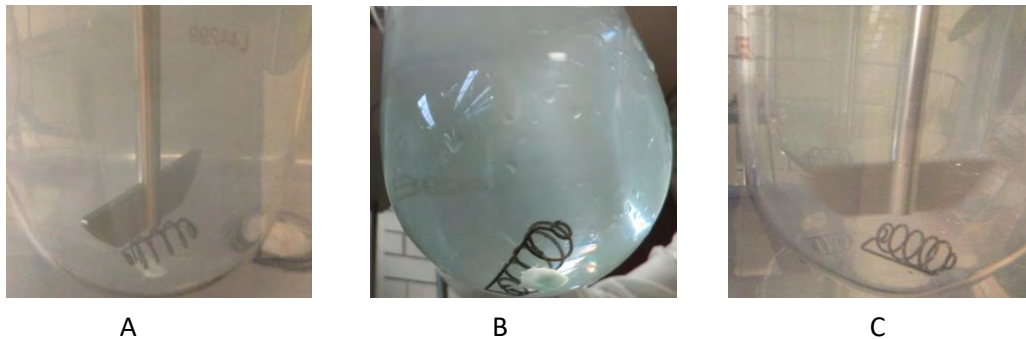
Al comparar los porcentajes disueltos de Amoxicilina presentados en los perfiles de disolución usando los tres medios, se nota que el patrón de comportamiento en dos de tres medios estudiados es muy semejantes, tanto en la formulación de referencia como en la de prueba. La semejanza de comportamiento de los perfiles de disolución de Amoxicilina en agua y solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5 entre las formulaciones de prueba y referencia es corroborada al obtenerse sus valores de f1 entre 0 y 15 y de f2 entre 50 y 100 (cuadro 25).

De acuerdo a lo reportado por Yamana y Tsuji en 1976⁽²⁰⁾ la solubilidad de Amoxicilina es dependiente del pH; aumenta cuando el disolvente tiene un pH por debajo de 2 y se mantiene constante en un rango de pH 3.5 – 6 (figura 7). Este hecho puede ser el primer sustento del porque en nuestro estudio, en el medio de disolución agua y fosfatos pH 4.5 se presentó un comportamiento muy similar en el porcentaje disuelto, durante todo el perfil. En tanto, cuando el medio de disolución tiene un pH 1.2, se alcanza en menor tiempo un porcentaje disuelto mucho mayor comparado con los otros dos medios, sugiriendo por lo tanto que en el medio de disolución a pH 1.2, se pudo generar una velocidad de disolución más rápida del principio activo.

El porcentaje obtenido de amoxicilina disuelta cuando se usa el medio de disolución pH 1.2, fue cercano al 140% y no congruente con el determinado en la prueba de valoración (106.0-110.0%, gráfico 2). Tal hecho, puede no ser explicado totalmente por la solubilidad de Amoxicilina a pH 1.2, como se indico anteriormente ⁽²⁰⁾. El porcentaje disuelto obtenido cuando se usa un medio de disolución pH 1.2, pudiera ser explicado

por el hecho de que el medio de disolución favoreció la solubilidad del principio activo, y pudo también favorecer la solubilidad de los excipientes, esto último sustentando porque se observó de los estudios de disolución que, en el fondo de los vasos quedaba residuos visibles de la formulación cuando se usó agua o solución de fosfatos como medio de disolución, en tanto cuando se usaba medio de disolución pH 1.2 al término de la prueba no se observaban residuos del polvo en el fondo de los vasos.

Figura 14. Estado final de la formulación disuelta en A. Medio de disolución agua; B. Medio de disolución de fosfatos pH 4.5 y C. Medio de disolución HCl pH 1.2.



La propuesta de la contribución de absorptividad en las muestras de disolución como explicación al aumento de porcentaje disuelto del activo cuando se usa el medio de disolución pH 1.2, no contradice el resultado de selectividad reportado en este estudio para este medio, ya que hay que considerar que la prueba de selectividad, fue realizada con el medio ácido con los excipiente, el principio activo, pero éstos no fueron solubilizados a la temperatura de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, condición que favorece la solubilidad de todos los componentes de la formulación (principio activo y excipientes).

Otro parámetro importante que se evaluó en este estudio fue el Tiempo Medio de Disolución (TMD) el cual se define como la media estadística de los tiempos de las moléculas individuales en el sistema a tiempo cero, que son retenidas dentro de este sistema antes de su disolución *in vitro* ⁽³⁰⁾, es decir es el tiempo medio para que una molécula se disuelva bajo condiciones de disolución *in vitro* ⁽³¹⁾. De esta manera, comparando los TMD de los medicamentos de referencia en los 3 medios de disolución se puede observar que hay una diferencia promedio entre el agua y el medio de

fosfatos pH 4.5 aproximadamente de 3 minutos, y entre el medio de disolución agua - ácido clorhídrico pH 1.2 hay una diferencia promedio de 11 minutos, y en el medicamento de prueba existe una diferencia promedio entre el agua y el medio de fosfatos aproximadamente de 1 minuto y entre el medio de disolución agua-ácido clorhídrico pH 1.2 hay una diferencia de 9 minutos por lo tanto se puede decir que en medio de disolución de ácido clorhídrico pH 1.2 las moléculas del fármaco necesitan menos tiempo para disolverse, por los hechos previamente explicados.

La comparación entre los medios de disolución estudiados también se realizó empleando lo propuesto por Khan y Rhodes el “por ciento de eficiencia de la disolución”, que se define como el porcentaje del área de un rectángulo descrito por 100% disuelto y el tiempo ⁽³²⁾.

La eficiencia de disolución se llevó acabo hasta los 90 minutos para los tres medios de disolución como se puede observar (gráficos 24 y 25) donde al realizar la comparación entre medicamentos en los respectivos medios se observa similitud entre el medio de Agua y Fosfatos pH 4.5 ya que todos están ligeramente arriba de 80% pero no entre agua y ácido clorhídrico, ya que existe una diferencia promedio del 53% lo que refleja claramente que el comportamiento entre estos dos medios es diferente.

También se realizó la comparación en función a la cinética de liberación del activo, donde se encontró que en los dos medios de disolución (agua y fosfatos) sigue una cinética de primer orden (cuadro 24), lo que indica que a medida que la cantidad de fármaco en estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto. Para el medio de ácido clorhídrico no se pudo calcular debido a que no se tenían al menos tres puntos de muestreo antes de que este llegara al 100% de fármaco disuelto.

Como es conocido, la disolución puede proporcionar información valiosa acerca de la disponibilidad biológica de un fármaco así como de la uniformidad entre un lote y otro, donde uno de los muchos factores involucrados en un estudio de disolución es el medio de disolución. El pH del medio idealmente debe permitir la liberación completa

del principio activo y su disolución, su elección y valor de pH considera el hecho que el valor de pH fisiológico varía gradualmente a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, desde valores, muy bajos en el estómago hasta un pH básico en la última sección del intestino. Nuestro estudio propuso 2 medios de disolución diferente al estipulado farmacopeicamente: medio con valor pH 1.2 y 4.5, bajo la consideración que en el primero se inicia la disolución y en el segundo fisiológicamente se tiene más tiempo de contacto para el proceso de absorción. Considerando que al usar el medio de disolución agua, cuyo valor de pH oscilaba entre 6.4 y 6.7, los porcentajes disueltos de fármaco alcanzados fueron del 100%, en el medio de disolución de fosfatos pH 4.5 fueron del 95% y en el medio de ácido se alcanzaron hasta 145%, se puede sugerir que el medio de disolución agua o solución amortiguadora de fosfatos de pH 4.5, son medios de disolución que pueden ser útiles para determinar cambios en el comportamiento de disolución de cápsulas de Amoxicilina. No así en el medio ácido, donde al tener una disolución mucho más rápida no se puede discernir con precisión algún cambio en comportamiento de disolución, cuando se usa perfiles de disolución o como prueba de disolución.

De acuerdo al (cuadro 26) donde se muestra el análisis de varianza de un factor en el cual se evaluó el efecto que tiene el medio de disolución en los medicamentos, se rechaza la hipótesis nula ya que el valor de F calculada es mayor que la F de tablas esto quiere decir que existe diferencia entre las medias calculadas de los medios de disolución por lo tanto para definir entre que parejas de medias existe diferencia se ocupó la de prueba de Tukey (cuadro 27) en el que se concluye que el medio de agua y fosfatos son semejantes pero al comparar agua con ácido clorhídrico existe diferencia significativa, así como también hay diferencia entre fosfatos y ácido clorhídrico.

8. CONCLUSIONES.

- Los parámetros farmacopéicos para cápsulas de Amoxicilina del producto de referencia y de prueba utilizado cumplen con los parámetros farmacopéicos por la FEUM 10ª y 11ª Ed.
- El método analítico para cuantificar Amoxicilina en los medios de disolución HCl 0.1N pH 1.2, SA Fosfatos pH 4.5 y Agua cumplió con los criterios de linealidad, precisión, exactitud, estabilidad y especificidad, por lo que el método se consideró validado para analizar el fármaco en las pruebas de perfil de disolución.
- Los resultados de disolución obtenidos sugieren que de los tres medios evaluados, el agua es el mejor medio para realizar estudios de disolución *in vitro*.
- Las formulaciones de prueba y de referencia cuando la disolución se realiza en agua o solución de fosfatos pH 4.5 produce diferencia en sus valores de eficiencia de disolución y tiempo medio de disolución, sin que éstos tengan significancia estadística.

9. REFERENCIAS.

1. Gómez L., López R., García M.E., Cervantes A., Rivera P. Bioequivalencia. UNAM Fes: Cuautitlán México DF: 2005.
2. Amidon G.L., Lennernas H., Shah V.P., Crison J.R.. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in vivo Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research* 12 (1995) 413-420.
3. Dressmann J.B., Amidon G.L.: Reppas C., Shah V.P.. Dissolution Testing a Prognostic Tool for oral Drug Absorption; Immediate Release Dosage Forms. *Pharmaceutical Research* 15 (1998) 11-22.
4. FDA. Guidance for Industry. Waiver of in Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate- Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. US. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for drug Evaluation and Research (CDER), August 2000, BP.
5. FDA. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), August 1997, BP.
6. Kasim N.A, Whitehouse M., Ramachandran C.; Bermejo M., Lennemas H.S., Amidon, G.L. Molecular Properties of WHO Essentials Drug and Provisional Biopharmaceutical Classification. *Molecular Pharmaceutics* 1 (2000) 85-96.
7. Fonseca L.B., Labastie M., Pereira V. and Valpato N.M. Development and Validation of a Discriminative Dissolution Test for Nimesulide Suspensions. *AAS PharmSciTech*. Vol.10; No. 4, December 2009.
8. Banakar V. *Pharmaceutical Dissolution Testing*. Marcel Dekker Inc. USA. 1992.
9. Remington G.A. *Farmacía*. 2a Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 2003.

10. Abdou HM. Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence. Easton: MACK Publishing Company; 1989
11. Aiache J.M., A.M Guyot Hermann. Biofarmacia. 2a Edición. El Manual Moderno. México. 1983.
12. Averell S. Introduction to the Validation of a Dissolution Apparatus, Dissolution technologies, February (2004) 19-21.
13. Aulton M.E. Farmacia, la Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas. 2ª Edición. Elsevier Science. España. 2004.
14. Aguilar R.A., Caamaño S.M., Martín M.F. Biofarmacia y Farmacocinética Ejercicios y Problemas resueltos. España: Elsevier: 2008. [consultado: 5 de Septiembre 2016]. Disponible en: https://books.google.com.mx/books?id=AfjmO44ugKYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
15. Johnston A., Holt D. W. Substandard drugs: a potential crisis for public health. British journal of clinical pharmacology, 2014, vol. 78, no 2, p. 218-243.
16. Sean C., Martindale S. Guía Completa de Consulta Farmacoterapéutica. Pharma Editores. España. 2003.
17. Anthony C., Moffat M.D., Osselton B.W. Clarke's Analysis of Drugs Poisons. Pharmaceutical Press. 3th. Edition. London. 2004.
18. Katzung B.G. Farmacología. El Manual Moderno. México. 1991.
19. Cid C. E. Control de Calidad Biofarmacéutico de Medicamentos, Cinética de Disolución Farmacocinética Biodisponibilidad. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Estados.

20. Tsuji A, Nakashima E, Hamano S, Yamana T. Physicochemical Properties of Amphoteric, &Lactam Antibiotics II: Solubility, and Dissolution Behavior of Aminocephalosporins as a Function of pH . 1979; 68 (3): 308-11.
21. COFEPRIS [Pagina de Internet]. México: Secretaria de Salud; [Actualizado 08-06-2016 Consultado 17-09-2016]. Disponible en [http:// www.cofepris.gob.mx](http://www.cofepris.gob.mx)
22. Qureshi, S. (2009). Drug Dissolution Testing: Selecting a Dissolution Medium. American Pharmaceutical Review, 1, 2-5.
23. Secretaria de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 11ª Edición. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México. 2014.
24. Secretaria de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 10ª Edición. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México. 2011.
25. U.S. F.D.A. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations, Rockville, Maryland 20857, 2003.
26. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.
27. Cervantes A., Marquez M., Diseño de Experimentos. Curso Practico.unam Fes Zaragoza, México DF: 2007.
28. Montgomery D., Diseño y Análisis de Experimentos. Segunda edición. Limusa Wiley, Arizona:2006.

29. Bader M. A Systematic Approach to Standar Addition Methods in Instrumental Analysis, 1980., 57: 703-706.
30. Podczeck F. Comparison of in vitro dissolution profiles by calculating mean dissolution time (MDT) or mean residence time (MRT), 1992: 94-100.
31. Costa P, Sousa J. Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur J Pharm Sci, 13, 123-133 (2001).
32. Vila Jato, J. L. Tecnología Farmacéutica. Formas Farmacéuticas. Vol. II, Ed. Síntesis, Madrid. 1997.
33. Organización Panamericana de la Salud, documentos técnicos; <http://www.paho.org>
34. Benmoussa A., El Harti J., Cherrah Y. Comparison of the Dissolution of Reference Dispersible Tablets of Amoxicillin versus two generics manufactured in morocco, 2013; 5, (1): 49-51.
35. Virraruel A., Zou J. Investigating the Dissolution Profiles of Amoxicillin, Metronidazole, and Zidovudine Formulations used in Trinidad and Tobago, West Indies, 2014; 15 (5): 1060-1069.
36. Nyi M., Rusniyanti. Evaluation of Content and Dissolution Profile of Generic Amoxicillin Tablets Marketed in Indonesia, 2012; 3(12): 64-66.
37. Nasser M., Nayuni N., Kumar A. The differences between the branded and generic medicines using solid dosage forms: In-vitro dissolution testing. 2012; 2: 1-8.
38. Gregory P., Vivian A. Selection of Dissolution Medium for QC Testing of Drug Products, 2011; 7-11.
39. Fotaki N, Brown W. Rationale for Selection of Dissolution Media: Three Case Studies. 2013; 6-13.

40. André L., Aníbal de F. , Carla R. , Manoelito C. Comparative In Vitro Analysis of Dissolution Profiles of Pharmaceutical Formulations Containing Amoxicillin, 2013; 32(3): 358-363.
41. Medina J.R., Rodríguez J.C. Liberación de Indometacina a partir de productos genéricos (cápsulas) en el sistema de disolución convencional de vasos. Revista infarmate, año 2, número 7, mayo-junio 2006.

ANEXOS.

CONTROL DE CALIDAD AMOXICILINA CÁPSULAS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
 CERTIFICADO DE ANÁLISIS



Producto: <u>Amoxicilina</u>	Presentación: <u>Cápsulas</u>	Contenido: <u>500 mg</u>
Marca Comercial: <u>R1A</u>	Lote externo: <u>043KR292</u>	Lote Interno: <u>1</u>
Fecha de Análisis: <u>5/Mayo/2016</u>	Método de Análisis: <u>FEUM 11° Ed</u>	

ANÁLISIS	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Aspecto²⁴	CONFORME Son preparaciones sólidas compuestas de gelatina conformadas de dos piezas	Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura, compuestas de gelatina.
Ensayo de identidad²⁴	CONFORME Las manchas obtenidas del estándar y de la muestra presentan el mismo color, tamaño y Rf.	La mancha obtenida del estándar y de la muestra de los medicamentos debe tener el mismo tamaño, color y Rf.
Uniformidad de Dosis²³ (Variación de masa)	CONFORME CV%= 0.4177	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Valoración²⁴	CONFORME R1A=108.37% CV%= 2.63	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Desintegración²⁴	8:45 min.	S/E

Emitido por: Ramírez Hernández Anayatzin 	Revisado por: Posadas Luna Ana Lilia 	Fecha de emisión: 12-27 Mayo 2016	Aprobado por: Dra. Leticia Cruz Antonio.
--	--	---	--

CONTROL DE CALIDAD AMOXICILINA CÁPSULAS


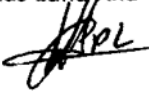



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE ANÁLISIS



Producto: <u>Amoxicilina</u>	Presentación: <u>Cápsulas</u>	Contenido: <u>500 mg</u>
Marca Comercial: <u>R1B</u>	Lote externo: <u>043LQ255B</u>	Lote Interno: <u>2</u>
Fecha de Análisis: <u>5/Mayo/2016</u>	Método de Análisis: <u>FEUM 11° Ed</u>	

ANÁLISIS	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Aspecto²⁴	CONFORME Son preparaciones sólidas compuestas de gelatina conformadas de dos piezas	Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura, compuestas de gelatina.
Ensayo de identidad²⁴	CONFORME Las manchas obtenidas del estándar y de la muestra presentan el mismo color, tamaño y Rf.	La mancha obtenida del estándar y de la muestra de los medicamentos debe tener el mismo tamaño, color y Rf.
Uniformidad de Dosis²³ (Variación de masa)	CONFORME CV%= 0.5363	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Valoración²⁴	CONFORME R1B= 109.80% CV%= 1.82	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Desintegración²⁴	9:33 min.	S/E

Emitido por:	Revisado por:	Fecha de emisión:	Aprobado por:
Ramírez Hernández Anayatzin 	Posadas Luna Ana Lilia 	12-27 Mayo 2016	Dra. Leticia Cruz Antonio. 

CONTROL DE CALIDAD AMOXICILINA CÁPSULAS






UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE ANÁLISIS



Producto: <u>Amoxicilina</u>	Presentación: <u>Cápsulas</u>	Contenido: <u>500 mg</u>
Marca Comercial: <u>P2A</u>	Lote externo: <u>16240112</u>	Lote Interno: <u>3</u>
Fecha de Análisis: <u>12/Mayo/2016</u>	Método de Análisis: <u>FEUM 11° Ed</u>	

ANÁLISIS	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Aspecto²⁴	CONFORME Son preparaciones sólidas compuestas de gelatina conformadas de dos piezas	Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura, compuestas de gelatina.
Ensayo de identidad²⁴	CONFORME Las manchas obtenidas del estándar y de la muestra presentan el mismo color, tamaño y Rf.	La mancha obtenida del estándar y de la muestra de los medicamentos debe tener el mismo tamaño, color y Rf.
Uniformidad de Dosis²³ (Variación de masa)	CONFORME CV%= 0.6323	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Valoración²⁴	CONFORME P2A= 108.44% CV%= 0.0717	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Desintegración²⁴	9:23 min.	S/E

Emitido por:	Revisado por:	Fecha de emisión:	Aprobado por:
Ramírez Hernández Anayatzin 	Posadas Luna Ana Lilia 	12-27 Mayo 2016	Dra. Leticia Cruz Antonio. 

CONTROL DE CALIDAD AMOXICILINA CÁPSULAS


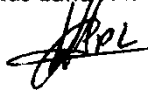



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE ANÁLISIS**



Producto: <u>Amoxicilina</u>	Presentación: <u>Cápsulas</u>	Contenido: <u>500 mg</u>
Marca Comercial: <u>P2B</u>	Lote externo: <u>16240176</u>	Lote Interno: <u>4</u>
Fecha de Análisis: <u>12/Mayo/2016</u>	Método de Análisis: <u>FEUM 11° Ed</u>	

ANÁLISIS	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Aspecto²⁴	CONFORME Son preparaciones sólidas compuestas de gelatina conformadas de dos piezas	Son preparaciones sólidas conformadas de dos piezas de consistencia dura, compuestas de gelatina.
Ensayo de identidad²⁴	CONFORME Las manchas obtenidas del estándar y de la muestra presentan el mismo color, tamaño y Rf.	La mancha obtenida del estándar y de la muestra de los medicamentos debe tener el mismo tamaño, color y Rf.
Uniformidad de Dosis²³ (Variación de masa)	CONFORME CV%= 0.5663	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Valoración²⁴	CONFORME P2B= 106.24% CV%= 0.0074	Contiene no menos del 90.0% y no más del 120.0%
Desintegración²⁴	9:39 min.	S/E

Emitido por: Ramírez Hernández Anayatzin 	Revisado por: Posadas Luna Ana Lilia 	Fecha de emisión: 12-27 Mayo 2016	Aprobado por: Dra. Leticia Cruz Antonio. 
---	---	---	---




VALIDACIÓN CON EL FÁRMACO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE VALIDACIÓN



PARAMETRO	RESULTADO			ESPECIFICACIÓN
	Medio de dln.	Agua	Fosfato pH 4.5 HCl 0.1N pH 1.2	
Linealidad²⁶	Conforme $r = 0.99967$ $S_{y/x} = 0.001875$	Conforme $r = 0.99979$ $S_{y/x} = 0.4535$	Conforme $r = 0.99958$ $S_{y/x} = 0.0311$	$r \geq 0.99$ $S_{y/x}$ no mayor al 2%
Precisión²⁶	Conforme CV%= 1.2604	Conforme CV%= 1.1248	No conforme CV%= 2.3746	CV% menor o igual al 2%
Estabilidad de la muestra²⁶	24h= Conforme 48h= No conforme Promedio 24h=1.62 Promedio 48h= 9.63	24hrs= Conforme 48h= Conforme Promedio 24h=1.31 Promedio 48h= 1.91	24h= Conforme 48h= No Conforme Promedio 24h=2.40 Promedio 48h= 6.86	Diferencia absoluta del % cuantificado inicial y final debe ser menor o igual al 3%
Influencia del filtro²⁶	Conforme %Diferencia Absoluta= 1.14	Conforme %Diferencia Absoluta= 1.67	Conforme %Diferencia Absoluta= 0.76	La diferencia absoluta entre el promedio de los datos de por lo menos 6 muestras de solución filtrada y sin filtrar debe ser igual o menor al 2%.

Emitido por:	Revisado por:	Fecha de emisión:	Aprobado por:
Ramírez Hernández Anayatzin 	Posadas Luna Ana Lilia 	3-24 Junio 2016	Dra. Leticia Cruz Antonio. 

VALIDACIÓN CON EL MEDICAMENTO (Referencia)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE VALIDACIÓN



PARAMETRO	RESULTADO			ESPECIFICACIÓN
Medio de dln.	Agua	Fosfato pH 4.5	HCl 0.1N pH 1.2	
Linealidad²⁶	Conforme $r=0.99919$ $Sy/x=0.008792$	Conforme $r=0.99955$ $Sy/x=0.006880$	Conforme $r=0.99963$ $Sy/x=0.008885$	$r \geq 0.99$ Sy/x no mayor al 3%
Exactitud²⁶	Conforme	Conforme	Conforme	El promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad, más del 3% con respecto a la cantidad nominal en cada punto
Repetibilidad²⁶	Conforme $CV\%=0.3029$	Conforme $CV\%=0.6189$	Conforme $CV\%=0.7265$	$CV\%$ menor o igual al 3%
Reproducibilidad²⁶	Conforme $1CV\%_{global}=0.2024$ $2CV\%_{global}=0.0814$	Conforme $1CV\%_{global}=0.0916$ $2CV\%_{global}=0.4495$	Conforme $1CV\%_{global}=0.6016$ $2CV\%_{global}=0.3608$	El $CV\%$ global, debe ser menor o igual al 3%
Selectividad²⁶	Conforme	Conforme	Conforme	No debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.

Emitido por:	Revisado por:	Fecha de emisión:	Aprobado por:
Ramírez Hernández Anayatzin 	Posadas Luna Ana Lilia 	3-24 Junio 2016	Dra. Leticia Cruz Antonio.

$1CV\%_{global}$ = Porcentaje del coeficiente de variación analista 1

$2CV\%_{global}$ = Porcentaje del coeficiente de variación analista 2

VALIDACIÓN CON EL MEDICAMENTO (Prueba)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CERTIFICADO DE VALIDACIÓN



PARAMETRO	RESULTADO			ESPECIFICACIÓN
	Medio de dln.	Agua	Fosfato pH 4.5	
Linealidad²⁶	Conforme $r=0.99959$ $Sy/x=0.1876$	Conforme $r=0.99916$ $Sy/x=0.02271$	Conforme $r=0.99953$ $Sy/x=0.02152$	$r \geq 0.99$ Sy/x no mayor al 3%
Exactitud²⁶	Conforme	Conforme	Conforme	El promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad, más del 3% con respecto a la cantidad nominal en cada punto
Repetibilidad²⁶ (100-350µg/mL)	Conforme $CV\%=0.7026$	Conforme $CV\%=0.4398$	Conforme $CV\%=1.0279$	$CV(\%)$ menor o igual al 3%
Reproducibilidad²⁶	Conforme $1CV\%_{global}=0.4247$ $2CV\%_{global}=0.1231$	Conforme $1CV\%_{global}=0.2542$ $2CV\%_{global}=0.2708$	Conforme $1CV\%_{global}=0.5118$ $2CV\%_{global}=0.3913$	El $CV(\%)$ global, debe ser menor o igual al 3%
Selectividad²⁶	Conforme	Conforme	Conforme	No debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.

$1CV\%_{global}$ = Porcentaje del coeficiente de variación analista 1

$2CV\%_{global}$ = Porcentaje del coeficiente de variación analista 2

Emitido por:	Revisado por:	Fecha de emisión:	Aprobado por:
Ramírez Hernández Anayatzin 	Posadas Luna Ana Lilia 	3-24 Junio 2016	Dra. Leticia Cruz Antonio.