

00565

3



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN  
CIENCIAS QUIMICAS

INFLUENCIA DEL METODO DE DISOLUCION Y  
FACTORES DE LA FORMULACION SOBRE LA  
VELOCIDAD DE DISOLUCION DE SUSPENSIONES  
DE BENZOILMETRONIDAZOL

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

ORIENTACION CONTROL DE MEDICAMENTOS

P R E S E N T A :

**QFB MA. DEL CARMEN HERNANDEZ ROJAS**



UNAM  
DIRECCION GENERAL DE  
ESTUDIOS DE POSGRADO

293114

CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

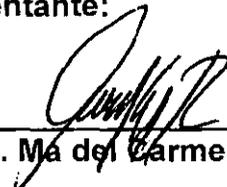
**JURADO ASIGNADO:**

<b>PRESIDENTE</b>	<b>Dra. Raquel López Arellano</b>
<b>PRIMER VOCAL</b>	<b>Dra. Helgi Jung Cook</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>M. en C. Ma. Luisa Vázquez Ramírez</b>
<b>PRIMER SUPLENTE</b>	<b>Dra. Adriana Ganem Rondero</b>
<b>SEGUNDO SUPLENTE</b>	<b>M. en C. Inés Fuentes Noriega</b>

**Sitio donde se desarrolló el tema:**

**Laboratorio 113, Departamento de Farmacia, Facultad de Química  
Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Química.**

**Sustentante:**

  
\_\_\_\_\_  
**Q.F.B. María del Carmen Hernández Rojas**

**Asesor:**

  
\_\_\_\_\_  
**M. en C. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado**

## **AGRADECIMEINTOS**

**Agradezco a CONACYT y a la DGEP por el apoyo económico proporcionado durante la realización de mis estudios de posgrado.**

**Agradezco al Ing. Joaquín Pérez Ruelas por permitirme el uso de las instalaciones de Laboratorio de Tecnología Farmacéutica para la fabricación de las suspensiones y por proporcionarme una muestra de benzoilmetronidazol, materia prima.**

**Agradezco al QFB Rodolfo Pastelín por permitirme el uso de un microscopio y un micrómetro ocular para la determinación del tamaño de partícula de benzoilmetronidazol.**

**Agradezco al QFB Marco Antonio Pérez de los laboratorios Tecnofarma por proporcionarme una muestra de benzoilmetronidazol, materia prima.**

**Agradezco a la QFB Honoria Fuentes Sixtos por proporcionarme una muestra de benzoilmetronidazol, materia prima.**

**Agradezco a la M en C Blanca Rivero Cruz por su colaboración en la revisión presente trabajo.**

**Agradezco a los miembros del jurado por sus valiosos comentarios y en particular a la Dra. Raquel López Arellano.**

**Agradezco a la QFB Jacqueline Ramos Brito por su invaluable colaboración durante la realización del presente estudio.**

**Agradezco infinitamente a la M en C. Margarita Rodríguez Alvarado y a la M en C. Inés Fuentes Noriega por el apoyo y asesoría brindado durante la realización del trabajo experimental y escrito.**

**A MIS PADRES Y HERMANOS MIL GRACIAS POR LA CONFIANZA Y APOYO QUE SIEMPRE ME HAN DADO.**

**A JACQUELINNE, SUSANA, IVETH, BLANCA, MIRZA, GRISELDA, ADRIANA, LLUVIA, HAYDEE, EDAHENA Y ÓSCAR GRACIAS POR SU AMISTAD.**

**A LUIS:**

**Gracias por complementar mi vida.  
Gracias por lo que me estas dando día a día.**

**TE AMO**

## INDICE

	<b>Página</b>	
<b>I</b>	<b>Resumen</b>	<b>iv</b>
<b>II</b>	<b>Lista de abreviaturas</b>	<b>v</b>
<b>III</b>	<b>Lista de esquemas</b>	<b>v</b>
<b>IV</b>	<b>Lista de figuras</b>	<b>v</b>
<b>V</b>	<b>Lista de cuadros</b>	<b>vii</b>
<b>VI</b>	<b>Lista de tablas</b>	<b>ix</b>
<b>VII</b>	<b>Lista de ecuaciones</b>	<b>ix</b>
<b>1.</b>	<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	<b>2</b>
2.1	Objetivo principal	2
2.2	Objetivos particulares	2
<b>3</b>	<b>Justificación</b>	<b>3</b>
<b>4.</b>	<b>Antecedentes</b>	<b>6</b>
4.1	Propiedades fisicoquímicas del benzoilmetronidazol	6
4.2	Propiedades farmacológicas del benzoilmetronidazol	6
4.2.1	Mecanismo de acción	6
4.2.2	Absorción, destino y eliminación	7
4.2.3	Posología	7
4.2.4	Toxicidad	7
4.3	Características de los métodos de disolución	8
4.4	Disolución de suspensiones	8
4.5	Efecto del tamaño de partícula en la velocidad de disolución	16
4.6	Métodos de comparación de perfiles de disolución	17
4.6.1	Eficiencia de la disolución	17
4.6.2	Factor de similitud	18
4.6.3	Métodos independientes	18
<b>5</b>	<b>Metodología</b>	<b>22</b>
5.1	Fabricación de la suspensión experimental de benzoilmetronidazol	22
5.2	Determinaciones fisicoquímicas de las suspensiones de benzoilmetronidazol	22
5.3	Evaluación de los parámetros de calidad del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.	24

5.3.1	Especificidad del método	24
5.3.2	Linearidad del método	25
5.3.3	Exactitud del método	25
5.3.4	Repetibilidad del método	25
5.3.5	Reproducibilidad del método	25
5.3.6	Linearidad del sistema	25
5.3.7	Repetibilidad del sistema	26
5.3.8	Reproducibilidad del sistema	26
5.4	Evaluación de los métodos de disolución	26
5.4.1	Evaluación del tipo de filtro	26
5.4.2	Estabilidad de la muestra	26
5.5	Método de disolución directo	27
5.6	Pruebas de diálisis	28
5.6.1	Método de diálisis	28
5.6.1.1	Paletas	28
5.6.1.2	Bio-dis	29
5.6.1.3	Agitador magnético	29
5.6.1.4	Paletas con agitador magnético	30
5.6.1.5	Canastillas	31
5.6.1.6	Celda "Vankel"	32
5.6.1.7	Canastilla de diámetro de poro de 1-5 mm	33
5.7	Estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis	34
5.8	Efecto de varios parámetros de la suspensión sobre la velocidad de disolución empleando el método directo.	35
5.8.1	Fabricación de las suspensiones de benzoilmetronidazol empleadas en el estudio del efecto de varios parámetros de la formulación y fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución.	36
<b>6</b>	<b>Resultados y Discusión</b>	<b>38</b>
6.1	Propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de benzoilmetronidazol	38
6.2	Determinación del tamaño de partícula de las suspensiones de benzoilmetronidazol	39
6.3	Evaluación de los parámetros de calidad del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.	42
6.3.1	Validación del sistema analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.	42
6.3.1.1	Linearidad del sistema analítico	42
6.3.1.2	Repetibilidad del sistema analítico	44
6.3.1.3	Reproducibilidad del sistema analítico	45
6.3.2	Validación del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución	46

6.3.2.1	Especificidad del método analítico	46
6.3.2.2	Linealidad del método analítico	47
6.3.2.3	Exactitud del método analítico	48
6.3.2.4	Repetibilidad del método analítico	50
6.3.2.5	Reproducibilidad del tipo de filtro	50
6.4	Evaluación del tipo de filtro	51
6.5	Estabilidad de la muestra	53
6.6	Método de diálisis	54
6.7	Estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis	55
6.8	Estudio comparativo de tres lotes de Flagyl®, Flagenase® y suspensión experimental empleando método de diálisis y el método directo	59
6.9	Estudio del efecto de variables de la formulación y proceso de fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución.	65
6.9.1	Diseño de experimentos	65
<b>7</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>72</b>
<b>8</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>74</b>
<b>Apéndice I</b>	<b>Cálculos</b>	<b>77</b>
<b>Apéndice II</b>	<b>Elección del mejor modelo (Variable de respuesta %Dis. a los 120 min) para el estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis</b>	<b>78</b>
<b>Apéndice III</b>	<b>Análisis estadístico del estudio comparativo de disolución de tres lotes de Flagyl®, Flagenase® y la suspensión experimental empleando el método de diálisis y el método directo</b>	<b>85</b>
<b>Apéndice IV</b>	<b>Análisis estadístico para conocer el efecto de algunos factores de manufactura y formulación de suspensiones de benzoilmetronidazol realizado para el diseño de experimentos factorial completo <math>2^4</math></b>	<b>87</b>
<b>Apéndice V</b>	<b>Propiedades reológicas de Flagyl® y la suspensión experimental</b>	<b>95</b>

## I RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron suspensiones de benzoilmetronidazol mediante dos metodologías de disolución, directa y por diálisis. Se estudiaron por ambas metodologías propuestas tres lotes de tres fabricantes (Flagyl®, Flagenase® y una suspensión fabricada por nosotros).

La suspensión que presentó una mayor velocidad de disolución fue la suspensión experimental. Flagenase® presentó inconsistencias en la velocidad de disolución entre diferentes lotes. Flagyl® presentó la velocidad de disolución más lenta al formar conglomerados en el medio de disolución que impedían la liberación del benzoilmetronidazol, esta observación se presentó también con un lote de Flagenase®.

Se encontró que el método directo es capaz de diferenciar entre lotes del mismo fabricante y entre diferentes fabricantes. Al utilizar el método de diálisis, el benzoilmetronidazol no se libera completamente, además de que no es capaz de discernir entre diferentes fabricantes.

Se estudió el efecto de la velocidad de agitación, posición y tamaño del saco de diálisis sobre la velocidad de diálisis y se concluyó que solo el tamaño de la bolsa es estadísticamente significativo.

También se estudió el efecto de dos agentes viscosantes, la carboximetilcelulosa y la acacia, el tamaño de partícula del benzoilmetronidazol, la viscosidad de la suspensión y la velocidad de agitación durante la fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución. Se evaluaron varias respuestas como  $t_{90}$ , la eficiencia de la disolución, tiempo medio de disolución, tamaño de partícula y pendiente de la curva de disolución.

Las variables de respuesta que describen mejor el comportamiento de los factores estudiados son la ED%, el tamaño de partícula y la pendiente de la curva de disolución. Los factores que exhibieron un mayor efecto sobre las variables de respuesta estudiadas son la velocidad, la carboximetilcelulosa, la interacción velocidad\* carboximetilcelulosa, la acacia, y la interacción tamaño de partícula\*velocidad. El factor que menor efecto implicó en las variables de respuesta fue la acacia.

## II LISTA DE ABREVIATURAS

cps	centipoises
D	Dalton
DER	Desviación estándar relativa
ED	Eficiencia de la disolución
f	Factor de similitud
ExpL1	Experimental lote 1 por el método de diálisis
ExpL2	Experimental lote 2 por el método de diálisis
ExpL3	Experimental lote 3 por el método de diálisis
ExpDL1	Experimental lote 1 por el método directo
ExpDL2	Experimental lote 2 por el método directo
ExpDL3	Experimental lote 3 por el método directo
FlageL1	Flagenase lote 1 por el método de diálisis
FlageL2	Flagenase lote 2 por el método de diálisis
FlageL3	Flagenase lote 3 por el método de diálisis
FlageDL1	Flagenase lote 1 por el método directo
FlageDL2	Flagenase lote 2 por el método directo
FlageDL3	Flagenase lote 3 por el método directo
FlagyL1	Flagyl lote 1 por el método de diálisis
FlagyL2	Flagyl lote 2 por el método de diálisis
FlagyL3	Flagyl lote 3 por el método de diálisis
FlagyDL1	Flagyl lote 1 por el método directo
FlagyDL2	Flagyl lote 2 por el método directo
FlagyDL3	Flagyl lote 3 por el método directo
min	Minutos
o/w	Aceite/agua
p.f.	Punto de fusión
TMD	Tiempo medio de disolución

Página

## III LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Proceso Farmacocinético de un fármaco	4
Esquema 2	Diagrama de flujo para la fabricación de las suspensiones evaluadas en el estudio del efecto de varios parámetros de la formulación y fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución	37

## IV LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fórmula molecular del Benzoilmetronidazol	6
Figura 2	Aparato de disolución diseñado por Shah (1973)	14
Figura 3	Aparato de disolución diseñado por Marty (1975)	15
Figura 4	Eficiencia de la disolución para tabletas	17
Figura 5	Eficiencia de la disolución para cápsulas, donde se puede observar el tiempo de latencia	18

Figura 6	Perfiles de disolución mostrando las diferencias de nivel y forma o paralelismo	19
Figura 7	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método directo	27
Figura 8	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No. 2	28
Figura 9	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el BIO-DIS	29
Figura 10	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis logrando la agitación por medio de un agitador magnético	30
Figura 11	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No. 2 y un agitador magnético	31
Figura 12	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No. 1	31
Figura 13	Diagrama de ensamblaje de la celda "Vankel"	32
Figura 14	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando la celda "Vankel"	33
Figura 15	Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato 1 y una canastilla de diámetro de poro de 1-5 mm.	33
Figura 16	Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de Flagyl®	40
Figura 17	Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de Flagenase®	40
Figura 18	Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de la suspensión experimental	41
Figura 19	Gráfica de linealidad del sistema analítico	43
Figura 20	Análisis de residuales estandarizado de la linealidad del sistema.	44
Figura 21	Especificidad del método analítico	46
Figura 22	Gráfica de linealidad del método analítico	47
Figura 23	Correlación gráfica de la concentración teórica en función de la concentración experimental	49
Figura 24	Efecto del tipo de filtro sobre la señal analítica	52
Figura 25	Gráfica del % disuelto empleando diferentes sistemas de diálisis	55
Figura 26	Perfiles de disolución obtenidos a partir del cuadro 19	56
Figura 27	Gráfica de la relación de los factores estudiados	58
Figura 28	Análisis de residuales	59

Figura 29	Comparación de tres diferentes lotes de Flagyl® por el método de diálisis y directo	60
Figura 30	Formación de conglomerados de Flagyl® en el seno del medio de disolución simulando los jugos gástricos	61
Figura 31	Comparación de tres diferentes lotes de Flagenase® por el método de diálisis y directo	62
Figura 32	Comparación de tres diferentes lotes de la suspensión experimental por el método de diálisis y directo	63
Figura 33	Comparación de tres lotes diferentes de Flagyl® Flagenase® y Suspensión experimental por el método directo	64
Figura 34	Comparación de tres lotes diferentes de Flagyl® Flagenase® y Suspensión experimental por el método de diálisis	64
Figura 35	Efecto de factores de la formulación y proceso de fabricación de suspensiones sobre la velocidad de disolución.	67
Figura 36	Perfil de viscosidad de Flagyl®	95
Figura 37	Perfil de viscosidad de la suspensión experimental	95

#### V LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Determinaciones fisicoquímicas para el control de calidad de cada uno de los tres lotes de las suspensiones Flagyl®, Flagenase® y experimental	38
Cuadro 2	Estadística descriptiva para los datos experimentales de tamaño de partícula de los tres lotes de Flagyl®, Flagenase® y Suspensión experimental	39
Cuadro 3	Datos experimentales para evaluar la linealidad del sistema analítico	42
Cuadro 4	Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 3	42
Cuadro 5	Análisis de varianza para los datos indicados en el cuadro 3	44
Cuadro 6	Datos experimentales para evaluar la reproducibilidad del sistema	45
Cuadro 7	Análisis de varianza de un factor para los datos presentados en el cuadro 6	45
Cuadro 8	Datos experimentales para evaluar la linealidad del método analítico	47
Cuadro 9	Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 8	48
Cuadro 10	Datos experimentales para evaluar la exactitud del método analítico	48

Cuadro 11	Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 10	49
Cuadro 12	Datos experimentales para evaluar la reproducibilidad del método analítico	50
Cuadro 13	Análisis de varianza para los datos presentados en el cuadro 12	51
Cuadro 14	Datos experimentales de los filtros estudiados a una concentración teórica de 2.5 µg/mL	52
Cuadro 15	Datos experimentales de los filtros estudiados a una concentración teórica de 12.5 µg/mL	52
Cuadro 16	Datos experimentales para el estudio de estabilidad de la muestra	53
Cuadro 17	Análisis de varianza para los datos presentados en el cuadro 16	54
Cuadro 18	Datos experimentales del % disuelto de metronidazol empleando diferentes sistemas de diálisis	54
Cuadro 19	Datos experimentales del % disuelto para el efecto de la posición, tamaño de la bolsa de diálisis y velocidad de agitación (diseño factorial 2 <sup>3</sup> )	56
Cuadro 20	% disuelto a los 120 min	57
Cuadro 21	Estimación de los parámetros	57
Cuadro 22	Análisis de varianza del modelo propuesto	58
Cuadro 23	% Disuelto de tres lotes de Flagyl® por ambos métodos (diálisis y directo)	60
Cuadro 24	% Disuelto de tres lotes de Flagenase® por ambos métodos (diálisis y directo)	61
Cuadro 25	% Disuelto de tres lotes de Susp. Experimental por ambos métodos (diálisis y directo)	63
Cuadro 26	Resumen de MANOVA de la comparación entre tres lotes de tres distintos fabricantes (Flagyl®, Flagenase® y suspensión experimental)	65
Cuadro 27	Datos experimentales del % disuelto de las 16 suspensiones para evaluar el efecto de varios parámetros de la suspensión sobre la velocidad de disolución	66
Cuadro 28	Variables de respuesta (TMD, %ED, t <sub>90</sub> , tamaño de partícula y pendiente de la curva de disolución)	68
Cuadro 29	Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta TMD	68
Cuadro 30	Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta ED%	69
Cuadro 31	Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta t <sub>90</sub>	69
Cuadro 32	Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta tamaño de partícula	70
Cuadro 33	Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta pendiente de la curva de disolución	70

## VI LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Descripción de la metodología y criterio de aceptación para determinar las propiedades fisicoquímicas de suspensiones de benzoilmetronidazol	22
Tabla 2	Factores y niveles para el estudio de diálisis de suspensiones de benzoilmetronidazol.	34
Tabla 3	Experimentos a realizar para un diseño factorial $2^3$	34
Tabla 4	Factores y niveles para el estudio de algunos factores de manufactura y formulación de suspensiones de benzoilmetronidazol que influyen en la velocidad de disolución	35
Tabla 5	Experimentos a realizar para un diseño factorial $2^4$	36

## VII LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1	Cálculo de la constante de velocidad dialítica (K)	10
Ecuación 2	Velocidad de disolución donde el grosor de la capa de difusión permanece constante	16
Ecuación 3	Velocidad de disolución donde el grosor de la capa de difusión es proporcional a la raíz cuadrada del diámetro de la partícula	16
Ecuación 4	Velocidad de disolución donde el grosor de la capa de difusión es proporcional al diámetro de la partícula	16
Ecuación 5	Cálculo de la eficiencia de la disolución (ED%)	17
Ecuación 6	Cálculo de la eficiencia de la disolución (ED%)	17
Ecuación 7	Cálculo del factor de similitud (f)	18
Ecuación 8	Expresión de la prueba estadística lambda ( $\Lambda$ )	20
Ecuación 9	Inverso de lambda ( $\Lambda$ )	20
Ecuación 10	Producto de los eigenvalores de la matriz $W^{-1}B$	20
Ecuación 11	Criterio de Hotelling	21
Ecuación 12	Criterio de Pillai	21
Ecuación 13	Raíz máxima de Roy	21
Ecuación 14	Cálculo del tiempo medio de disolución (TMD)	77
Ecuación 15	Cálculo de la eficiencia de la disolución (ED)	77
Ecuación 16	Método de los trapecios	77
Ecuación 17	Cálculo de la interferencia del filtro	77
Ecuación 18	Ajuste logarítmico de las curvas de disolución	77

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las suspensiones como forma farmacéutica corresponden al estado de desintegración de cápsulas y tabletas y la disolución del principio activo es un requisito para la absorción del fármaco (Abdou, 1989), como es en el caso del albendazol (Jung, 1999), trimetoprin, sulfametoxazol (Ezzedeen, et al., 1990) y Salicilamida (Bates, et al., 1969). Se han realizado numerosos esfuerzos para el desarrollo de metodología aplicada a la evaluación de la disolución de formas farmacéuticas líquidas y semisólidas. Las metodologías desarrolladas hacen uso de los métodos de paletas y canastillas, sin embargo la principal desventaja de estos métodos es que la suspensión no conserva su integridad como forma farmacéutica o bien proponen una metodología propia que ha resultado ser poco práctica y costosa. Otra propuesta ha sido a través de la diálisis, en el proceso de diálisis se conserva la integridad de la forma farmacéutica, sin embargo esta aproximación ha resultado ser poco satisfactoria.

Hoy día no se cuenta con una metodología oficial para la evaluación de la disolución de suspensiones, por lo que se enfocaron nuestros esfuerzos para proponer una metodología para la evaluación de suspensiones de benzoilmetronidazol con la finalidad de poder proporcionar las herramientas necesarias para complementar la evaluación de la calidad de las suspensiones.

El benzoilmetronidazol es un fármaco ampliamente usado como amebicida y tricomonocida y por sus características fisicoquímicas de baja solubilidad es comúnmente administrado en forma de suspensión.

En el presente estudio se diseñaron dos metodologías de disolución, directa y por diálisis. También se estudiaron diversos factores tanto de la metodología de disolución como del procedimiento de fabricación. Asimismo se evaluó el efecto de varios factores de la metodología (velocidad de agitación, tamaño y posición de la bolsa de diálisis) sobre la velocidad de diálisis y el efecto de variables de la fabricación y formulación de suspensiones (tipo de agente suspensor o viscosante, concentración del agente viscosante, velocidad de agitación durante la fabricación de la suspensión y tamaño de partícula del principio activo) sobre la velocidad de disolución empleando el método directo.

Se realizó un estudio de disolución de una suspensión fabricada por nosotros mismos y de suspensiones disponibles en el mercado nacional (Flagyl® y Flagenase®) empleando ambas metodologías propuestas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Establecer una metodología de disolución que permita complementar la evaluación de la calidad de suspensiones de benzoilmetronidazol.

### **2.2 Objetivos particulares**

- Desarrollar y validar la metodología analítica para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.
- Fabricar una suspensión de benzoilmetronidazol que libere al menos el 90% de su contenido.
- Diseñar dos métodos para la disolución de suspensiones, directo y por diálisis.
- Evaluar el efecto de tres variables de la metodología de diálisis (velocidad de agitación, tamaño y posición de la bolsa) sobre la velocidad de diálisis del benzoilmetronidazol.
- Realizar un estudio de disolución de la suspensión experimental y de dos suspensiones disponibles en el mercado nacional (Flagyl® y Flagenase®).
- Evaluar el efecto de algunas variables de la formulación (tamaño de partícula del principio activo, tipo de agente viscosante y viscosidad de la suspensión fabricada) y variables del proceso de fabricación (velocidad de agitación en la fabricación de la suspensión) sobre la velocidad de disolución empleando la metodología de disolución directa.

### 3. JUSTIFICACIÓN.

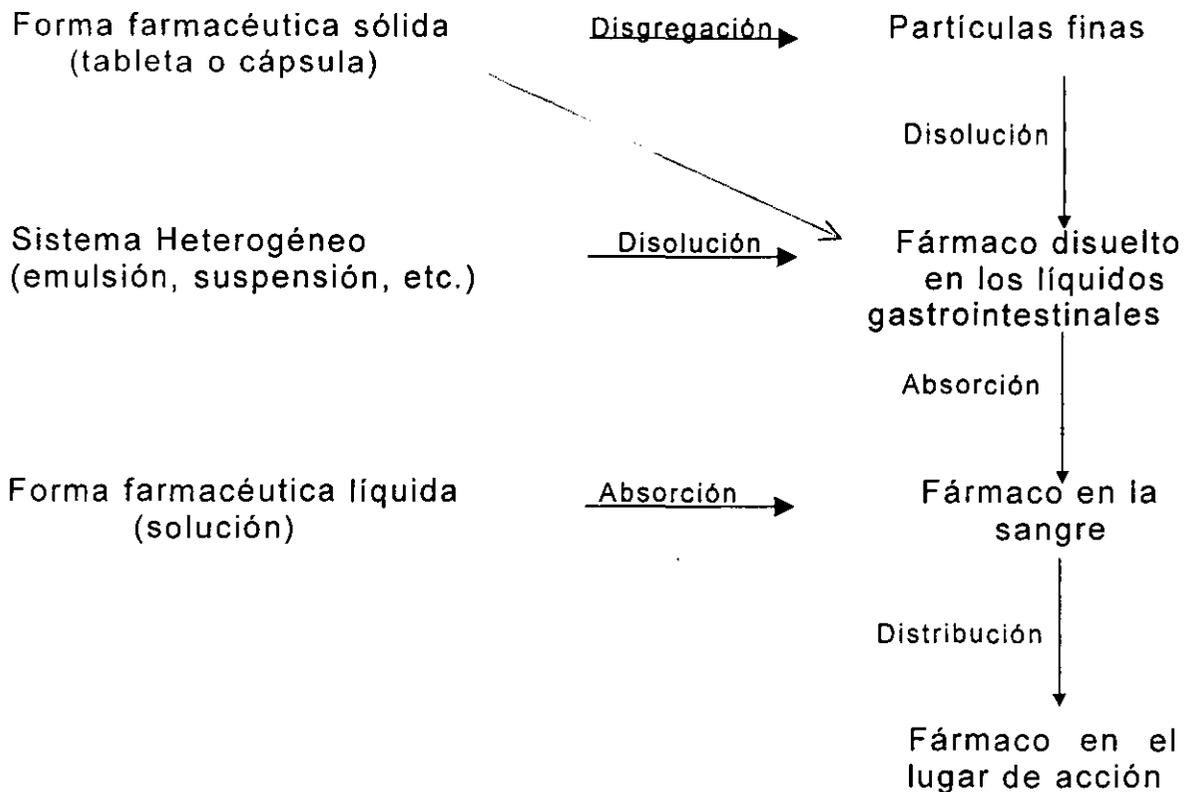
El benzoilmetronidazol es un fármaco ampliamente usado como amebicida y tricomonicida y la Secretaría de Salud reporta en su página electrónica (1998) la mortalidad por enfermedades infecciosas intestinales. En 1980 hubo 29691 defunciones de niños menores de 5 años y en 1997 hubo 3680 defunciones, lo que representa el 8.3 % del total de defunciones en la población infantil de todo el país.

La prueba de disolución es una evaluación rutinaria para el control de calidad de formas farmacéuticas sólidas. Los estudios de disolución se han enfocado en tabletas y cápsulas y no se ha reconocido la importancia de las características de disolución de fármacos administrados en suspensión. Las suspensiones como forma farmacéutica corresponden al estado de desintegración de tabletas y cápsulas y la disolución de las partículas es el paso limitante en el proceso de absorción, tal es el caso de la salicilamida, (Abdou, 1989; Banakar, 1991; Bates *et al.*, 1969; Ezzdeen *et al.*, 1990; Strum *et al.*, 1978).

La cuantificación de fármacos liberados de suspensiones acuosas y no acuosas aún no está bien estudiado, a pesar del gran número de productos en esta presentación. Muchos componentes como surfactantes, coloides protectores y agentes suspensores están generalmente incluidos en las micropartículas cuya influencia genera resultados no discriminativos, erráticos y no reproducibles como por ejemplo: prometazina (Naggar *et al.*, 1986) y diazepam (Levy *et al.*, 1990). El uso de técnicas de diálisis ha ayudado a disminuir en parte algunos de estos problemas como es en el caso del estudio de la liberación de nitrofurantoina (Shah *et al.*, 1976) y ácido acetilsalicílico (Barzegar-Jalali *et al.*, 1978)

Debido a las dificultades en el manejo de suspensiones por métodos diseñados para la disolución de sólidos, pocos investigadores han concentrado sus esfuerzos en los perfiles de disolución de suspensiones (Strum *et al.*, 1978).

En la actualidad no existe una metodología oficial para complementar la calidad de las suspensiones con base en su disolución, por lo que la prueba de disolución debe convertirse en un requisito oficial para estas formas farmacéuticas



**Esquema 1**  
**Proceso farmacocinético de un fármaco**

El esquema anterior muestra claramente que si el proceso de disolución se encuentra bloqueado, la absorción del fármaco no tiene lugar, lo que originará fallas en el efecto terapéutico. De aquí que hoy día en los compendios oficiales y en las normas que regulan el control de calidad de fármacos y medicamentos se conceda una enorme importancia a la cinética de disolución de fármacos con el objeto de obtener datos precisos que puedan ser utilizados para el control de calidad en la industria farmacéutica (Cid, 1981).

Las diferencias observadas en los perfiles de disolución pueden ser causadas por factores que incluyen la suspensión de partículas de diferente tamaño, formación de complejos fármaco-excipientes, formulación, método de manufactura, variables del proceso, método de disolución, diferentes agentes suspensores cambios en la viscosidad del medio de disolución debido al pH entre otros (Skoug, 1996).

La prueba de disolución *in vitro* puede ser una herramienta poderosa en la predicción y aseguramiento de la disponibilidad *in vivo* si se establece una correlación *in vitro-in vivo*. La prueba de disolución *in vitro* es una de las claves para el registro, desarrollo y control de calidad de formas de dosificación oral. Un apropiado diseño de la prueba y de sus especificaciones nos va a ayudar: (Cid, 1981).

- Como una guía para el proceso de desarrollo de la formulación y optimización del mismo.
- A monitorear el desempeño del proceso de manufactura.
- A minimizar el riesgo de inequivalencia de lote a lote.
- A obtener la aprobación de las instancias regulatorias.

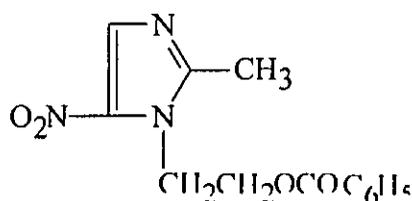
Para lograr todos estos objetivos, la prueba de disolución *in vitro* debe ser predictiva de la biodisponibilidad *in vivo*, por supuesto que esto no siempre es posible debido a que se puede estar empleando un equipo de disolución equivocado, fallas en la elección del medio de disolución, o elección de los parámetros de operación del equipo de disolución, así como también depende de las propiedades físicas y químicas del fármaco, de la distribución del tamaño de partícula, del proceso de fabricación empleado, de las variables de la formulación, entre otros.

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1. Propiedades fisicoquímicas del benzoilmetronidazol

El benzoilmetronidazol [2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il) etil benzoato], tiene un peso molecular de 275.3 UMA. 200 mg de benzoilmetronidazol son equivalentes a 124 mg de metronidazol. El nombre comercial del producto innovador es Flagyl-s®. Posee un p.f. de 98–102 °C, es soluble en ácido acético, CHCl<sub>3</sub>, metanol y benceno, poco soluble en éter, casi insoluble en agua y casi insoluble en agua a pH básico (USP XXIV, 2000).

Tiene una longitud de onda de máxima absorción a 310 nm en metanol, 274 nm en HCl 0.1 N y E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> de 380 (The Pharmaceutical Codex, 1979).



**Figura 1**  
Fórmula molecular del benzoilmetronidazol

### 4.2 Propiedades farmacológicas

El metronidazol es activo contra muy diversos protozoos, parásitos anaerobios y bacterias anaerobias. Es clínicamente eficaz en la tricomoniasis, amibiasis, giardiasis y en diversas infecciones causadas por bacterias anaerobias como especies de Bacteroides, Clostridium y Helicobacter. El metronidazol posee actividad antibacteriana contra todos los cocos anaerobios y bacilos gram negativos anaerobios, incluidas especies de bacteroides y bacilos gram negativos esporógenos anaerobios (Goodman & Gilman, 1990).

#### 4.2.1 Mecanismo de acción

El metronidazol podría considerarse como un profármaco que requiere de una transformación por parte de las bacterias sensibles. Una vez que el metronidazol se ha difundido en el interior de los microorganismos, el grupo nitro acepta electrones de proteínas transportadoras de electrones con potenciales redox negativos suficientemente pequeños, como las flavoproteínas en células de mamíferos y las ferredoxinas o sus equivalentes en protozoos y

bacterias. La actividad antimicrobiana del metronidazol quizá es consecuencia de la formación de productos lábiles químicamente reactivos que se forman durante la reducción tetraelectrónica del grupo nitro hasta la forma hidroxilamina correspondiente. No se conocen las etapas moleculares por las que dichos productos intermedios destruyen a las células, pero tal vez incluyan reacción de macromoléculas celulares con el DNA, proteínas y membranas. El metronidazol reducido genera la pérdida helicoidal del DNA así como la ruptura de los cordones y disminución de la función de dicho ácido (Goodman & Gilman, 1990).

#### **4.2.2 Absorción destino y eliminación.**

Una vez ingerido el compuesto por lo general se absorbe de manera completa y rápida, aproximadamente una hora después de ingerir una sola dosis de 500 mg se obtienen concentraciones plasmáticas de 1 mg/mL. Las dosis repetidas cada seis horas ocasionan moderada acumulación del fármaco. En promedio el 10% del compuesto está ligado a proteínas plasmáticas. Penetra adecuadamente a los líquidos y tejidos corporales que incluyen secreciones vaginales, líquido seminal, saliva y leche materna. El líquido cefalorraquídeo alcanza también cifras terapéuticas.

El hígado es el órgano principal en que se metaboliza, y tal función explica más del 50% de la desaparición del metronidazol a nivel sistémico (Goodman & Gilman, 1990).

#### **4.2.3 Posología**

El régimen terapéutico es de 2 gramos de metronidazol en una sola dosis oral, tanto en varones como en mujeres. En personas que no toleran una sola dosis de dos gramos, se propone tomar 250 mg tres veces al día durante siete días. Cuando se necesitan ciclos repetidos o dosis más altas del fármaco en infecciones recurrentes se recomienda dejar que transcurran intervalos de cuatro a seis semanas entre uno y otro ciclo terapéutico. En infantes se recomienda administrar 125 mg de metronidazol tres veces al día durante siete días (Goodman & Gilman, 1990).

#### **4.2.4 Toxicidad**

Los efectos adversos solo en contadas ocasiones alcanzan intensidad suficiente para interrumpir el uso del fármaco. Los más comunes son cefalea, náuseas, xerostomía, y un regusto metálico, a veces se presentan vómito, diarrea y molestias abdominales. Durante la

terapéutica pueden observarse lengua saburral, glositis y estomatitis, y estas se acompañan de una intensificación repentina de moniliasis. Entre los efectos neurotóxicos que obligan a interrumpir el tratamiento están mareos, vértigo y en infrecuentes ocasiones, encefalopatía, convulsiones, incoordinación y ataxia como efectos neurotóxicos.

El metronidazol debe usarse con precaución a dosis altas y al ser empleado por largo tiempo es carcinógeno en roedores. En bacterias se ha observado que es mutágeno (Goodman & Gilman, 1990).

### 4.3 Características de los métodos de disolución.

Para que un método de disolución sea confiable se deben considerar factores como: velocidad de agitación, medio de disolución, volumen del medio de disolución, deaireación del medio, tipo de filtro, método de muestreo, volumen de la muestra, entre otros (Skoug *et. al.*, 1996).

El aparato debe ser relativamente simple y flexible en diseño y operación para poder ser operado bajo una variedad de condiciones, al mismo tiempo este debe proporcionar resultados reproducibles.

Las velocidades de disolución empleadas *in vitro* bajo condiciones ácidas o básicas se deben de correlacionar bien *in vivo-in vitro*. El aparato debe evitar la presencia de turbulencia, debe permitir el control de variables como la velocidad de agitación, uniformidad, así mismo debe proporcionar facilidad para la introducción de la muestra ya sea cápsulas, tabletas u otra forma farmacéutica. Durante la prueba, el medicamento debe permanecer libre de abrasión mecánica, el contenedor del medio de disolución debe estar cerrado para evitar la evaporación, transparente, mantener la temperatura regulada, capaz de mantener las condiciones sink ya sea al emplear grandes cantidades de disolventes u ofreciendo la posibilidad de sustituir con medio de disolución fresco. La extracción de las muestras debe ser representativa y también ofrecer facilidad de filtración para no entorpecer el análisis cuantitativo (Shah *et. al.*, 1973).

Aunque se han propuesto muchos métodos de no siempre ha posible cumplir con todos los requerimientos antes mencionados.

### 4.4 Disolución de suspensiones

Shah y colaboradores (1976) prepararon suspensiones de nitrofurantoína en agua desionizada y en soluciones de metilcelulosa a tres grados de viscosidad (50, 400 y 4000 cps). Se determinó la constante velocidad de diálisis de la nitrofurantoína empleando como medio de disolución HCl 0.1 N y pH 7.4. La velocidad de disolución

fue investigada por una técnica de diálisis empleando una bolsa de diálisis que proporcionaba una gran superficie, debido a que los métodos convencionales no aportaban resultados apropiados para una determinación precisa del comportamiento de disolución. Las muestras que contuvieron metilcelulosa presentaron una velocidad de disolución menor. Esta disminución en la velocidad puede deberse a que el fármaco forma un complejo con el polímero además de la formación de regiones microscópicas de alta viscosidad alrededor del fármaco no disuelto. Los resultados indicaron que el efecto de la metilcelulosa en el comportamiento de disolución del fármaco a pH 7.4 fue esencialmente el mismo que en el medio de disolución a pH ácido.

Los autores encontraron que la velocidad de diálisis del fármaco está en función de la concentración del fármaco disuelto, del coeficiente de difusión del fármaco y de la superficie de la membrana de diálisis. Por lo tanto con un diseño adecuado de la bolsa de diálisis, la constante de velocidad de diálisis podría servir como un indicador razonable del comportamiento de disolución del fármaco en suspensión (Shah *et. al.*, 1976).

Barzegar & Richards estudiaron el efecto de varios agentes viscosantes (metilcelulosa, polivinilpirrolidona, alginato de sodio, tragacanto en polvo, tragacanto compuesto, carboximetilcelulosa de sodio y goma xantan) para suspensiones de ácido acetil salicílico empleando un matraz provisto de un agitador y el método de diálisis. Cuando se usó el primer método a una velocidad de 20 rpm se observó que entre 6.5 y 8.5 min se liberaba el 50 % del fármaco en todas las formulaciones, incluso en aquellas que tenían una alta viscosidad, sin embargo cuando se usó el método de diálisis se logró discernir entre los diferentes grados de viscosidad de las suspensiones. Se concluyó que la disolución se ve afectada en mayor grado por la polivinilpirrolidona y tragacanto en polvo y los agentes que menos afectan son metilcelulosa y goma xantan. Puntualizan que una de las ventajas del método de diálisis es que dado que las suspensiones son menos cohesivas que las cápsulas y tabletas, consecuentemente la adición de la suspensión a un gran volumen de medio de disolución conduce a una rápida disolución de sus ingredientes (Barzegar-Jalali & Richards, 1978).

Levy & Benita (1990) estudiaron la liberación del diazepam *in vitro* de una emulsión o/w submicronizada empleando una técnica de difusión en bolsa de diálisis y de diálisis inversa. La velocidad de liberación del diazepam en diferentes emulsiones por ambos métodos fue incompleta y lenta en comparación con una solución hidroalcohólica de diazepam empleando la técnica de diálisis. Se concluye que el método de diálisis no es adecuado para evaluar la disolución de un fármaco en una matriz coloidal, por lo que resulta más adecuado

poner el medicamento en el sitio de disolución para mantener las condiciones sink ya que por la técnica de diálisis técnicamente es difícil de lograrlas. Mediante el método de diálisis inversa se establece que la liberación de diazepam de emulsiones micronizadas es más rápida que la permeación de la membrana, por lo que es el paso limitante de la cinética del proceso. La aparición del principio activo fuera de la membrana de diálisis depende de factores experimentales como interacciones fármaco-excipientes, ósmosis y formación de micelas, entre otros que son difíciles de mantener constantes (Levy *et. al.*, 1990).

Naggar y colaboradores (1986) evaluaron la interacción *in vitro* entre la prometazina y algunos antiácidos comercialmente disponibles por medio de la técnica de diálisis. Se empleó una bolsa de celofán la cual se fijó a la canastilla de un disolutor Erweka, el medio interno consistió de 10 mL de HCl 0.1 N y agua destilada. Se trabajó a 50 rpm, 37 °C y el medio externo fue 1000 mL de agua destilada. La velocidad de diálisis fue evaluada en términos de la constante de velocidad dialítica. El cálculo de la constante de velocidad (K) se realizó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\ln[V_0A_i - (V_0 + V_i)A_0] = \left[ V_0 + \left( \frac{V_i}{V_i V_0} \right) \right] Kt + \ln(V_0 + A_i) \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$V_0$  = Volumen exterior

$A_0$  = Cantidad de fármaco en el compartimento exterior (dializado)

$A_i$  = Cantidad de fármaco en el compartimento interior

$V_i$  = Volumen interior

$K$  = Constante de equilibrio de diálisis

$t$  = Tiempo (min)

La proporción del volumen dentro/fuera de la bolsa de diálisis fue de 11/1000 para mantener las condiciones sink. Las formulaciones comerciales de antiácidos causaron una significativa disminución en la velocidad de diálisis del fármaco especialmente cuando el disolvente en el compartimento interior era HCl. Lo anterior debido a que el pH puede modificar las propiedades fisicoquímicas tanto del fármaco como de los agentes antiácidos o bien el principio activo puede ser adsorbido a la superficie de los ingredientes antiácidos. De hecho no se detectó fármaco fuera de la bolsa en algunas suspensiones debido a que los antiácidos pueden incrementar la viscosidad del medio, modificando el coeficiente de difusión.

La velocidad de diálisis está en función de la concentración del principio activo en solución, coeficiente de difusión y área superficial de la bolsa de diálisis. El autor considera que se puede hacer una

mejor discriminación entre diferentes sistemas empleando el método de diálisis, debido a que la disolución ocurre primero en un pequeño volumen de líquido, y el fármaco disuelto es entonces transportado a través de la membrana. Mientras que en los métodos de disolución convencionales, ocurre una dispersión de las partículas y la subsecuente disolución del fármaco tiene lugar en un gran volumen de disolvente (Naggar *et. al.*, 1986).

Cárdenas y colaboradores (1994) trataron de establecer las condiciones apropiadas para determinar los perfiles de disolución de acuerdo a las guías generales de pruebas de disolución. Se adaptó el método paletas para disolución de tabletas de metronidazol propuesto por la Farmacopea Mexicana. Se estudiaron 2 lotes de 3 marcas de suspensiones comerciales de benzoilmtronidazol. Se utilizó agua destilada y ácido clorhídrico como medio de disolución a 100 y 75 rpm. Cuando se empleó HCl 0.1 N y 75 rpm se obtuvieron porcentajes de disolución del 25 al 100 % mostrando diferencias para los seis productos. Cuando se empleó agua destilada y 100 rpm se obtuvieron del 72 al 99 % a los 60 minutos, mostrando diferencias para los seis productos. Se empleó la técnica de ANOVA comparando la eficiencia de la disolución y no se encontró diferencia entre marcas pero si entre lotes, en contraste empleando el porcentaje disuelto se encontró diferencia entre productos pero no entre lotes. Se encontró diferencia significativa entre productos cuando se empleó como medio de disolución agua tanto para la eficiencia de la disolución como para el porcentaje disuelto, por lo que el agua aumenta la velocidad de disolución de las suspensiones estudiadas (Cárdenas *et. al.*, 1994).

Bates y colaboradores (1974) estudiaron la velocidad de disolución de tabletas y suspensiones que contenían nitrofurantoína microcristalina y cápsulas con nitrofurantoína macrocristalina a pH gástrico e intestinal. La velocidad de disolución para la suspensión y la cápsula fue mayor a pH 7.2 en contraste para la tableta se observó una velocidad dos veces mayor a pH 1.1, lo cual es congruente con las características de solubilidad dependientes del pH de la nitrofurantoína. Además se observó que el pH recomendado por la USP XVIII (7.2) fue incapaz de discernir entre las diferencias de velocidad a diferentes tamaños de partícula e incidencias de efectos secundarios (náuseas y emesis) de las tres formas farmacéuticas evaluadas, nitrofurantoína microcristalina de tabletas y suspensiones y la nitrofurantoína macrocristalina de las cápsulas.

Estudios anteriores demostraron en pacientes intolerantes a la nitrofurantoína que los efectos secundarios indeseables disminuían con la administración de nitrofurantoína macrocristalina. Se ha reportado una correlación entre las velocidades de disolución de las tabletas y las cápsulas de nitrofurantoína con los efectos secundarios a pH gástrico por lo que se sugiere que las especificaciones de la

USP XVIII sean modificadas. Se requiere que el 60 % del principio activo se disuelva en no menos de una hora para evitar la presencia de efectos colaterales (Bates, et, al., 1974).

Strum y colaboradores (1978) realizaron el estudio comparativo de biodisponibilidad y de disolución empleando dos diferentes marcas de suspensiones de sulfametizol para obtener una correlación *in vivo-in vitro*. Las pruebas de disolución *in vitro* se realizaron empleando el método de paletas y el método de canastilla con filtro estacionario, se midió también la distribución del tamaño de partículas.

La comparación de los dos métodos de disolución aporta resultados muy diferentes dependiendo del método empleado.

Tiempo (min)	Método de disolución	Suspensión A (4.90 ± 1.50 μm)	Suspensión B (8.69 ± 1.37 μm)	Evaluación estadística
15	paletas	41.67 ± 10.72	16.92 ± 4.64	p < 0.05
30	paletas	75.68 ± 16.07	43.29 ± 11.27	p < 0.05
15	canastilla	72.38 ± 4.27	54.39 ± 6.69	p < 0.05
30	canastilla	92.11 ± 3.05	76.57 ± 7.39	p < 0.05

La suspensión A tuvo una cantidad disuelta significativamente mayor por ambos métodos a los 15 y 30 minutos y un porcentaje de partículas de menor tamaño. Se administró 1 gramo de la suspensión a 12 diferentes sujetos, se observó diferencia significativa en los valores de concentración obtenidos en suero para los parámetros de  $C_{max}$  y  $t_{max}$  a los 0.5 y 0.75 horas. Una comparación de los resultados *in vitro* e *in vivo* definitivamente mostraron una correlación (Strum et. al., 1978).

Bates y colaboradores (1969) analizaron la existencia de la correlación entre la velocidad de disolución *in vitro* y la velocidad de absorción *in vivo* en humanos para tabletas y suspensiones de salicilamida.

Los resultados de este estudio demostraron que la absorción de un fármaco es dependiente de la disolución y que la velocidad de disolución *in vitro* se correlaciona bien con la velocidad de absorción. La velocidad de disolución de las muestras analizadas fue en el siguiente orden: suspensión comercial > tableta comercial > tableta experimental.

Se obtuvo una cinética de disolución de primer orden. El tiempo de vida media de disolución en HCl 0.1 N fue de 16, 31 y 240 min para la suspensión, la tableta y la tableta experimental respectivamente. Se obtuvo una correlación *in vivo* - *in vitro* con  $r = 0.99$  (Bates et. al, 1969).

Ezzedeen y colaboradores (1990) estudiaron las características de disolución *in vivo* y de absorción *in vitro* e *in vivo* del trimetoprim (TMP) y sulfametoxazol (SMZ) en cuatro suspensiones comercialmente disponibles. Los estudios de disolución se realizaron empleando el método de paletas a pH 2 y pH 7.4. Los resultados obtenidos en este estudio indican que a pH 2 solo el 50 % del TMP y SMZ se disuelve luego de dos horas, por lo que bajo estas condiciones se está cerca del punto de saturación. Ambos fármacos siguieron una cinética de disolución de primer orden con un coeficiente de correlación entre 0.938 a 0.999. Para ambos fármacos a pH 7.4 se observó una rápida y mejor disolución, aunque se presentó una mayor variación entre los productos analizados.

Los resultados obtenidos de absorción *in vitro* empleando ileon de rata para el SMZ y TMP fueron similares para todos los productos, sin embargo solamente el 20% del fármaco fue absorbido después de 5 horas. Se demostró que la disolución es el paso limitante para la absorción *in vitro* con un tiempo de retardo de aproximadamente 2 horas.

En el estudio *in vivo* realizado en suero de conejo, la velocidad y la cantidad de fármaco absorbido fueron altas, pero no fue posible establecer una correlación *in vitro-in vivo* porque las cantidades absorbidas *in vitro* fueron bajas. (Ezzedeen *et. al.*, 1990).

Sjöqvist y colaboradores (1993) realizaron dos estudios para investigar la biodisponibilidad de una suspensión de remoxiprida en humanos. En el primero se empleó una cápsula como referencia y en el segundo estudio una solución. La biodisponibilidad fue la misma cuando se compara la suspensión, la solución y la cápsula, sin embargo la velocidad de absorción se ve retardada. El  $T_{max}$  fue de 3.0 horas para la suspensión 1 hora para la solución y 1.6 horas para la cápsula.

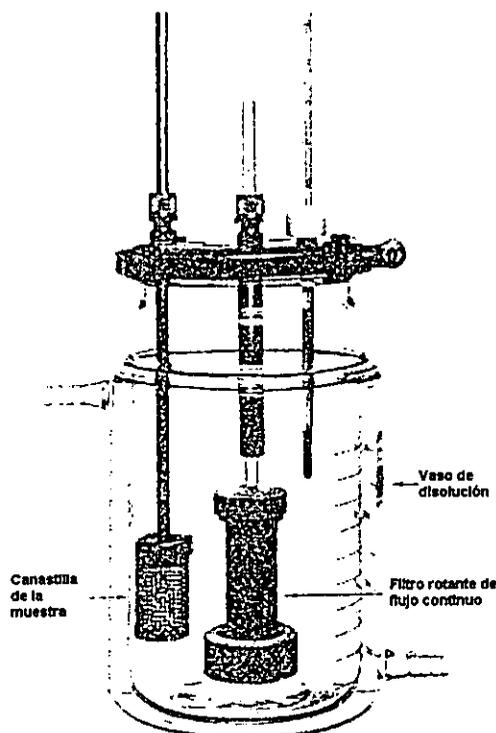
La disolución *in vitro* se realizó empleando el método de paletas de la USP en 500 mL de medio de disolución a pH 1.2 y en agua, de estos estudios se concluye que la velocidad de disolución de las cápsulas (50 rpm) fue mayor que la velocidad de la suspensión (150 rpm) (Sjöqvist *et. al.*, 1993)

Shiu y colaboradores (1993) modifican el aparato bio-dis para la determinación general de perfiles de disolución de suspensiones orales. El tubo de vidrio es sustituido por una canastilla con un diseño especial de tamaño de poro de 1 a 5 micras. El aparato fue usado para determinar la liberación de carbamazepina, indometacina y primidona en suspensión Este nuevo diseño simplifica la metodología de disolución de suspensiones haciéndolo más sencillo para su aplicación en general (Shiu *et. al.*, 1993).

Mathur y colaboradores (1983) realizaron un estudio de *correlación in vivo-in vitro* de siete suspensiones de trisulfapirimidina comercialmente disponibles. En el estudio de disolución emplearon el método de paletas y como medio 900 mL de solución de HCl  $2.2 \times 10^{-4}$  N, pH 3.4, 25 rpm y 37 °C. Se observó una gran diferencia entre la cantidad de fármaco disuelto para las siete suspensiones a los 15 y 30 min.

Se encontró que cuando se usa el método espectrofotométrico para analizar las muestras en lugar del método cromatográfico se observa una buena correlación con los resultados obtenidos en humano (Mathur *et. al.*, 1983).

Shah y colaboradores (1973) diseñaron un sistema para realizar pruebas de disolución de suspensiones. Los componentes básicos del aparato son una canastilla estacionaria, un filtro rotante de flujo continuo, agitador magnético externo y el contenedor del medio de disolución cerrado. El filtro rotante proporciona diferentes velocidades de agitación y también filtra *in situ* la muestra que va a ser analizada, la muestra puede ser extraída a través de un tubo que se encuentra directamente conectado al filtro (Shah *et. al.*, 1973).



**Figura 2**  
Aparato de disolución diseñado por Shah (1973).

Marty & Hersey diseñaron un sistema para la evaluación de la liberación *in vitro* de preparaciones líquidas de feneticilina para tres productos comerciales, El esquema del sistema de diálisis es el siguiente:

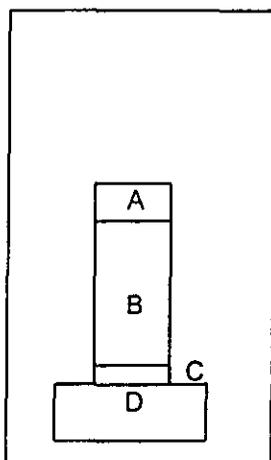


Figura 3

Aparato de disolución diseñado por Marty (1975).

A es la tapa superior del saco de diálisis, B es el saco de diálisis, C es un soporte cilíndrico de plástico y D es la base.

La agitación fuera del saco de diálisis se logró a través de una propela y dentro del saco por medio de un agitador magnético (Marty & Hersey, 1975).

Quiu y colaboradores (1993) evaluaron la disolución *in vitro* de oxazolidina epinefrina de alto punto de fusión (HMP) y de bajo punto de fusión (LMP) en un vehículo no acuoso y su biodisponibilidad relativa en ojo de conejo. Estudios previos habían reportado diferencia en la velocidad de disolución y reactividad química del HMP y del LMP, estas diferencias fueron atribuidas a imperfecciones en la forma del cristal, lo cual tiene un fuerte impacto en la manufactura farmacéutica.

El equipo de disolución, consistió en un matraz Erlenmeyer provisto de una barra magnética cuya velocidad de agitación está regulada por un agitador magnético. Se empleó un volumen del medio de disolución de 240 mL, pH de 7.4 y una velocidad de agitación de 120 rpm. El promedio de la velocidad de disolución fue de  $0.126 (\pm 0.011, n= 3)$  mg/min para HMP y  $0.130 (\pm 0.007, n= 3)$  mg/min para LMP, basándose en un modelo de orden cero.

El análisis estadístico de los datos de biodisponibilidad indica que ambas suspensiones se absorben igual, además de que los resultados se correlacionan bien con los datos obtenidos *in vitro* (Quiu *et. al.*, 1993).

Davis y colaboradores (1971) realizaron estudios *in vitro* para demostrar que la saliva humana inhibe el paso de efedrina a través de una membrana de diálisis, mientras que el paso del pentobarbital no se ve afectado. La unión de la efedrina a la mucina, compuesto mayoritario de la saliva, puede ser la causa de la disminución observada. Se observó que la unión de la efedrina a la saliva es independiente del pH. Estos estudios con efedrina sugieren que los constituyentes de las secreciones salivares podrían afectar la liberación de otros fármacos con grupos amino (Davis *et. al.*, 1971).

#### 4.5 Efecto del tamaño de partícula en la velocidad de disolución

Varios modelos han sido propuestos para el estudio de disolución de suspensiones, la mayoría de estos modelos son modificaciones de los tres modelos descritos en la tabla siguiente (Banakar, 1991).

Modelo	Ecuación	
I	$\frac{da}{dt} = \frac{-2DC_s}{l\rho}$	Ecuación 2
II	$\frac{da}{dt} = \frac{-2DC_s}{ka^{1/2}\rho}$	Ecuación 3
III	$\frac{da}{dt} = \frac{-2DC_s}{a\rho}$	Ecuación 4

Donde:

a = Tamaño de partícula (cm).

t = Tiempo (s).

D = Coeficiente de difusión (cm<sup>2</sup>/s).

C<sub>s</sub> = Solubilidad del fármaco (g/cm<sup>3</sup>).

l = Grosor de la capa de difusión (cm).

ρ = Densidad (g/cm<sup>3</sup>).

De acuerdo con las ecuaciones anteriores la velocidad de disolución de un fármaco es dependiente del coeficiente de difusión del soluto, solubilidad y densidad del sólido suspendido. En los modelos II y III la velocidad de disolución se aproxima a infinito cuando el tamaño de partícula tiende a cero, es decir cerca de la disolución total. Para un fármaco de baja solubilidad en medio acuoso, el tamaño de partícula y como resultado el área superficial tienen un efecto significativo

sobre la velocidad de disolución durante el tiempo en el cual ocurre la absorción gastrointestinal (Hintz & Jonhson, 1989). Estos modelos sugeridos son apropiados para sistemas de partículas monodispersas, sin embargo las suspensiones farmacéuticas contienen partículas de varios tamaños.

Hintz & Jonhson emplearon simulación computacional para evaluar el efecto del tamaño de partícula, los resultados se correlacionaron bien con datos experimentales. Se emplearon tres lotes de cápsulas cuya única diferencia era el tamaño de partícula. Se observaron diferencias entre diferentes tamaños de partícula a los 240 min, se observó 67.5, 88.8 y 99.2 por ciento disuelto en orden decreciente de tamaño de partícula (Hintz & Jonhson, 1989).

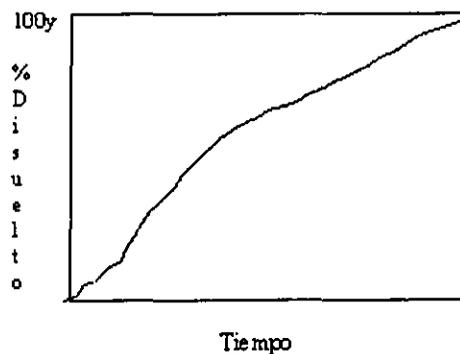
#### 4.6 Métodos de comparación de perfiles de disolución.

##### 4.6.1 Eficiencia de la disolución

Es el porcentaje del área de un rectángulo descrito por el 100% disuelto y el tiempo. De este modo es posible comparar diferentes formulaciones a condición de que sea realizada la toma de la muestra a los mismos tiempos.

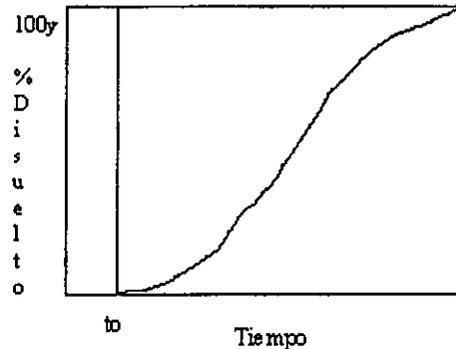
$$ED\% = \frac{\int_0^t y dt}{y_{100} t} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

$$ED\% = \frac{\text{área sombreada}}{\text{área rectángulo } y_{100} t} * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$



**Figura 4**  
Eficiencia de la disolución para tabletas

Al comparar las cápsulas donde existe generalmente un tiempo de latencia ( $t_0$ ), pueden emplearse dos criterios, uno que incluya ese tiempo y otro que no lo incluya. Se toman entonces como puntos de referencia los rectángulos de  $[y_{100} - 0 \rightarrow t]$  o  $[y_{100} - t_0 \rightarrow t']$  (Khan & Rhodes, 1975).



**Figura 5**

Eficiencia de la disolución para cápsulas, donde se puede observar el tiempo de latencia.

#### 4.6.2 Factor de similitud

El factor de similitud se puede usar cuando el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual a 20% para el primer tiempo de muestreo y menor a igual al 10% para los tiempos subsecuentes.

$$f = 50 \log [ (1 + 1/n \sum (R_t - P_t)^2)^{-0.5} * 100 ] \quad \text{Ecuación 7}$$

$n$  = 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

Un factor de similitud entre 50 y 100 indica perfiles de disolución similares (Moore & Flanner, 1996; Chow & Ki, 1997).

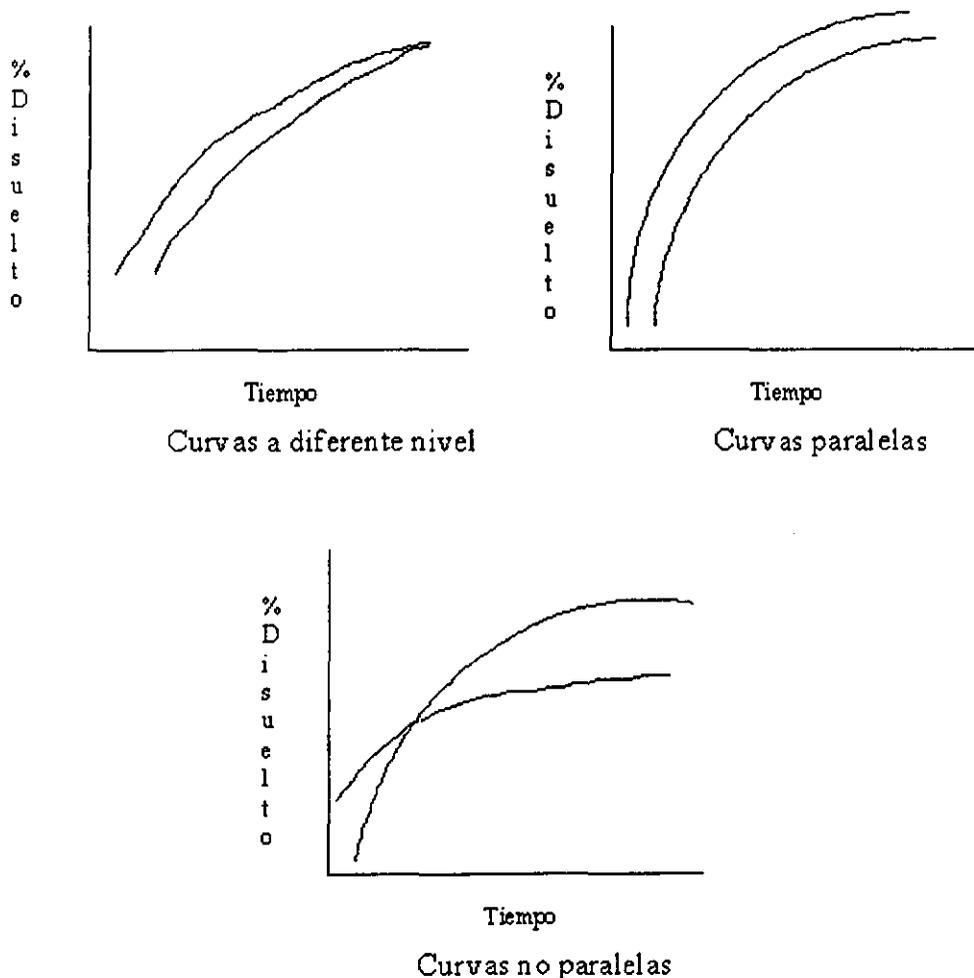
#### 4.6.3 Métodos independientes

Los modelos independientes comúnmente usados son el análisis de regresión lineal, análisis de varianza (ANOVA), análisis de covarianza (ANCOVA), y el análisis de gráficos de amplitud. Estos métodos no son apropiados debido a la naturaleza del perfil de disolución, por ejemplo, el método de regresión lineal no es válido debido a que la cantidad disuelta no es independiente del tiempo, además este puede ser no útil si solamente pocos puntos están disponibles y/o la dependencia en el tiempo puede no ser modelado linealmente. El

método de ANCOVA tiene las mismas desventajas del análisis de regresión lineal y de ANOVA (Chow & Ki, 1997).

En el método de ANOVA de manera similar, la cantidad disuelta está correlacionada con el tiempo, lo cual viola el supuesto del modelo de que las mediciones deben ser independientes.

Mauger propone perder grados de libertad si se considera el tiempo como una fuente de variación, lo cual no resulta de interés, además presenta la desventaja de que solo se puede evaluar las diferencias entre grupos de lotes o fabricantes pero no dentro de los fabricantes. Los perfiles son evaluados en cuanto a diferencias de nivel y forma o paralelismo (Mauger, 1986).



**Figura 6**  
Perfiles de disolución mostrando las diferencias de nivel y forma o paralelismo

El método de mediciones repetidas considera el error de covarianza para cuantificar la relación entre las observaciones (mediciones repetidas). Bajo este modelo los parámetros pueden ser calculados empleando el método de mínimos cuadrados. Por lo tanto este método también puede ser usado para comparar la velocidad de disolución entre productos farmacéuticos a un tiempo dado, detectar el efecto dentro del tratamiento y comparar los cambios de velocidad media de un tiempo a otro (Cárdenas *et. al.*, 1994; Chow & Ki, 1997).

Cuando uno o más grupos requieren de ser evaluados, el procedimiento comúnmente utilizado es el análisis de varianza multivariado de una sola vía (MANOVA). El procedimiento de MANOVA fue desarrollado por Wilks (1932) con base en el principio de razón de probabilidad. De manera general el principio de razón de probabilidad proporciona varias propiedades óptimas para muestras de tamaño razonable y es conveniente para pruebas de hipótesis formuladas en términos de parámetros multivariados normales. De manera particular el atractivo del principio de razón de probabilidad es que produce pruebas estadísticas que se reducen a las ya conocidas pruebas de F y de t. El principio de razón de probabilidad conduce a una prueba estadística llamada lambda ( $\Lambda$ ).

$$\Lambda = \frac{|W|}{|B+W|} = \frac{|W|}{|T|} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

$|W|$  = Determinante de la suma de cuadrados dentro de los grupos

$|B+W|$  = Determinante de la suma de cuadrados dentro de los grupos más la suma de cuadrados entre los grupos.

Actualmente los paquetes de estadística calculan el valor de lambda ( $\Lambda$ ) de manera rutinaria a través de la relación que existe entre el determinante y los eigenvalores de una matriz. Lambda puede ser reescrita como sigue:

$$\Lambda = \frac{|B+W|}{|W|} = |W^{-1}(B+W)| = |W^{-1}B + 1| \quad \text{Ecuación 9}$$

Para cualquier matriz  $\Lambda + 1$  existen  $\lambda + 1$  eigenvalores, se sabe que el producto de los eigenvalores de una matriz siempre es igual al determinante de la matriz es decir que  $\Pi(\lambda + 1) = |\Lambda + 1|$ . Basados en esta información el valor de lambda puede ser calculado como el producto de los eigenvalores de la matriz  $W^{-1}B$

$$\frac{1}{\Lambda} = \Pi(\lambda_i + 1) \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde  $\lambda_1$  es el eigenvalor diferente de cero de la matriz  $W^{-1}B$ .

La razón de probabilidad ( $\Lambda$ ) es el criterio más antiguo y más usado para comparar grupos, aunque existen algunas otras alternativas como son el criterio de Hotelling, el criterio de Pillai y la raíz máxima de Roy. Los criterios se definen como sigue:

Criterio de Hotelling  $T = \sum \lambda_i$  **Ecuación 11**

Criterio de Pillai  $V = \sum \frac{\lambda_i}{1 + \lambda_i}$  **Ecuación 12**

Raíz máxima de Roy  $\Theta = \frac{\lambda_{max}}{1 + \lambda_{max}}$  **Ecuación 13**

Es importante destacar que los criterios de Pillai y Hotelling están en función de la sumatoria de los eigenvalores de  $W^{-1}B$ , mientras que el criterio de Roy emplea el valor máximo del eigenvalor.

Aunque están disponibles las tablas de  $T$ ,  $V$  y  $\theta$  para evaluar la significancia, estas no son ampliamente usadas. Varios autores han explicado que estos valores pueden ser sustituidos empleando la distribución de  $F$  (Marcoulides & Hershberger, 1997).

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Fabricación de la suspensión experimental de benzoilmetronidazol

Formulación:	cada 250 mL
Benzoilmetronidazol	10.0 g
Sacarosa (azúcar granulada)	125 g
Sacarina sódica USP	0.75 g
Carboximetilcelulosa de mediana viscosidad	0.75 g
hidroxipropilmetilcelulosa	0.1 g
Metil parabeno	1.25g
Propil parabeno	0.075 g
Agua destilada cbp	250 mL

#### Proceso de Fabricación

En un vaso de precipitados de 400 mL se vertió 100 mL de agua destilada. Se calentó el agua hasta una temperatura aproximada de 50-55 °C.

Se adicionó poco a poco el metil parabeno manteniendo una agitación fuerte y constante con una barra magnética hasta disolución total, posteriormente se adicionó el propil parabeno manteniendo la agitación hasta incorporarlo completamente.

Se retiró del calentamiento la solución anterior y se disolvió en ella adicionando poco a poco la hidroxipropilmetilcelulosa, se mantuvo la agitación fuerte cuidando siempre de formar una capa muy delgada para evitar la formación de grumos. Posteriormente se adicionó de la misma manera la carboximetilcelulosa hasta completa incorporación.

Se adicionó a la mezcla obtenida en el paso anterior las siguientes sustancias en el orden mencionado (agregando una a la vez poco a poco y con agitación constante): la sacarosa, la sacarina y el benzoilmetronidazol.

Después de la incorporación de los componentes se utilizó un agitador ULTRA TURRAX, se continuo agitando hasta dispersión total durante 10 min manteniendo una velocidad moderada. Se llevó a volumen de 250 mL con agua destilada.

### 5.2 Propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de benzoilmetronidazol

Tabla 1 Descripción de la metodología y criterio de aceptación para determinar las propiedades fisicoquímicas de suspensiones de benzoilmetronidazol.

Determinación	Procedimiento	Criterio de aceptación
Descripción y resuspendibilidad	La suspensión se vertió en una probeta de 100 mL y se observaron sus propiedades organolépticas. Se dejó reposar durante 24 horas y se observó la resuspendibilidad.	La suspensión debe resuspenderse. (FNEUM, 2000).

pH	El pH se midió de acuerdo al MGA 0701 (FNEUM, 2000) en un potenciómetro Corning 7 previamente calibrado.	4.5-7.0 (FNEUM, 2000)
Vol. de sedimentación	Se realizó por duplicado. En una probeta de vidrio de 100 mL se colocó la suspensión, se dejó reposar durante 24 horas y posteriormente se midió el volumen que ocupaba el sedimento.	No se especifica.
Densidad relativa	Se realizó por duplicado en un picnómetro de 25.182 mL a 25 °C. El picnómetro se llenó hasta la marca de aforo con la suspensión. Al peso del picnómetro + muestra se le restó el peso del picnómetro vacío y la diferencia se divide entre el volumen del picnómetro. Se obtuvo el promedio de las dos replicas.	No se especifica.
Valoración	Se realizó de acuerdo al MGA 0361 (FNEUM, 2000) <b>Referencia:</b> Se pesó una cantidad de benzoilmetronidazol de pureza conocida equivalente a 12.5 mg de metronidazol. Se pasó a un matraz volumétrico de 100 mL, se disolvió y llevó a volumen con metanol, se mezcló. Se transfirió una alícuota de 5 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 50 mL, se llevó al aforo con metanol y se mezcló. Esta solución contenía 12.5 µg/mL de metronidazol. <b>Muestra:</b> Se transfirió una alícuota de la muestra previamente agitada, equivalente a 125 mg de metronidazol a un matraz volumétrico de 100 mL, que contenía 70 mL de metanol y se mantuvo en agitación mecánica durante 15 min, se llevó a volumen con metanol y se agitó. Se transfirió un volumen de la solución anterior a un tubo de centrifuga y se centrifugó a 1500 rpm durante 10 min. Se pasó una alícuota del líquido sobrenadante a un matraz volumétrico de 10 mL, se llevó a volumen con metanol y se mezcló. Se transfirió una alícuota de 5 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 50 mL, se llevó a volumen y se mezcló. <b>Procedimiento:</b> Se determinó la absorbancia de la preparación de referencia y de la muestra a una longitud de onda de 310 nm y empleando metanol como blanco. Se calculó la cantidad de metronidazol en el volumen de muestra tomado.	90.0-110.0% (FNEUM; 2000)
Determinación del tamaño de partícula del benzoilmetronidazol en suspensión	Se empleo el método microscópico. Se colocó en un portaobjetos una pequeña muestra de suspensión y se extiende con el cubreobjetos. Se observó con el objetivo de 40X empleando un microscopio óptico de la marca Zeiss. Se contaron 100 partículas con un micrómetro ocular siguiendo una trayectoria de Z.	No se especifica

### **5.3 Evaluación de los parámetros de calidad del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.**

El método analítico empleado para cuantificar el benzoilmetronidazol en el medio de disolución fue por espectrofotometría a una longitud de onda de 294 nm. Las características de calidad que se evaluaron para el método y el sistema fueron: linealidad, repetibilidad, reproducibilidad y para el método se incluyó además de las ya mencionadas especificidad y exactitud.

**Preparación de la solución de trabajo:** Se pesó en una balanza analítica, previamente calibrada, una cantidad equivalente a 12.5 mg de metronidazol (equivalente en peso a 20 mg de benzoilmetronidazol) se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionó aproximadamente 60 mL de solución de HCl 0.1 N y se adicionó con una pipeta automática de 1 mL, 0.8 mL de placebo de la suspensión experimental. Se colocó el matraz en un sonicador durante 5 minutos y se llevó a volumen con solución de HCl 0.1 N. Esta solución contenía una concentración de 125 µg/mL de metronidazol.

**Preparación de las soluciones estándar:** A partir de la solución de trabajo se tomaron alícuotas de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL se transfirió a matraces volumétricos de 50 mL, se llevó a volumen con solución de HCl 0.1N. Estas soluciones contenían una concentración de 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 25 µg /mL de metronidazol. Se obtuvo la absorbancia de las soluciones estándar a una longitud de onda de 294 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1601 previamente calibrado.

La validación del sistema analítico se realizó de manera similar a la descrita en los párrafos anteriores, solo que para el sistema no se adicionó placebo de la suspensión experimental.

#### **5.3.1 Especificidad del método**

Para la evaluación de la especificidad se obtuvieron espectrogramas en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1601 previamente calibrado) en el intervalo de longitud de onda de 340 a 280 nm. Se empleó un estándar secundario de benzoilmetronidazol que fue proporcionado por los laboratorios Pronaquim lote 08. Se prepararon las soluciones de placebo de la suspensión experimental, del estándar de benzoilmetronidazol, de la suspensión experimental, del Flagyl® y del Flagenase® a la concentración de 12.5 µg/mL de metronidazol en HCl 0.1 N (ver inciso 5.3). Se demostró especificidad para la suspensión experimental a partir de su placebo y del estándar. Se demostró especificidad para Flagyl® y Flagenase® al comparar el espectrograma de ambas formulaciones con la respuesta analítica de la suspensión experimental y el estándar a 294 nm que es la longitud de onda donde no se obtiene respuesta para el placebo.

### 5.3.2 Linearidad del método

A partir de la solución de trabajo se prepararon 5 curvas de calibración a 5 niveles de concentración de metronidazol (ver inciso 5.3). El rango de concentraciones de metronidazol fue de 5, 7.5, 10, 12.5 y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en HCL 0.1N (ver inciso 5.3). Para determinar la linearidad se graficó la absorbancia en función de la concentración de metronidazol. Se calculó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), pendiente ( $m$ ) e intercepto ( $b$ ), también se realizaron pruebas de hipótesis para los coeficientes.

### 5.3.3 Exactitud del método

Se prepararon cinco curvas estándar adicionadas de placebo a tres niveles de concentración: 1.2, 24.9 y 62.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de metronidazol en HCl 0.1 N, ese mismo día se preparó una curva estándar de acuerdo a las especificaciones descritas en la linearidad del sistema. Se determinó la cantidad recuperada y se gráfico esta última en función de la cantidad teórica. Se determinó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), la pendiente ( $m$ ) y el intercepto ( $b$ ).

### 5.3.4 Repetibilidad del método

A partir de la solución de trabajo se prepararon cinco curvas de calibración a los siguientes niveles de concentración: 5, 7.5, 10, 12.5 y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de metronidazol en HCL 0.1N (ver inciso 5.3) y se determinó para cada nivel de concentración la desviación estándar relativa.

### 5.3.5 Reproducibilidad del método

Se prepararon de manera independiente once replicas de la solución de trabajo (ver inciso 5.3), a partir de las soluciones de trabajo un analista preparó seis replicas de una solución estándar que contienen una concentración al 100 % especificado en el marbete (12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Un segundo analista preparó cinco réplicas de la solución estándar mismo nivel de concentración y bajo las mismas condiciones de trabajo. Para determinar la reproducibilidad se realizó un análisis de varianza de un solo factor con un  $\alpha=0.05$ .

### 5.3.6 Linearidad del sistema

Para determinar la linearidad se empleó un estándar secundario de benzoilmetronidazol proporcionado por los laboratorios Pronaquim, lote 08. Se realizaron 6 curvas de calibración a 6 niveles de concentración de metronidazol. El rango de concentraciones de metronidazol fue de 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en HCl 0.1 N (ver inciso 5.3). Para determinar la linearidad se graficó la

absorbancia para cada nivel de concentración en función de la concentración de metronidazol. Se calculó el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente (m) e intercepto (b), también se realizaron pruebas de hipótesis par also coeficientes y el análisis de residuales. En el caso de la linealidad del sistema no se adicionó placebo de la suspensión experimental a las soluciones estándar.

### **5.3.7 Repetibilidad del sistema**

Se prepararon de manera independiente por un mismo analista bajo las mismas condiciones de trabajo seis curvas de calibración. El rango de concentraciones de metronidazol fue: 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 25  $\mu\text{g/mL}$  en HCl 0.1 N (ver inciso 5.3). Se determinó para cada nivel de concentración la desviación estándar relativa. En el caso de la repetibilidad del sistema no se adicionó placebo de la suspensión experimental a las soluciones estándar.

### **5.3.8 Reproducibilidad del sistema**

Se prepararon de manera independiente por un analista seis réplicas de una solución estándar que contienen una concentración al 100 % especificado en el marbete (12.5  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol en HCl 0.1 N, ver inciso 5.3) y seis réplicas por un segundo analista a la misma concentración y bajo las mismas condiciones de trabajo. Para determinar la reproducibilidad se realizó un análisis de varianza de un solo factor con un  $\alpha=0.05$ . En el caso de la repetibilidad del sistema no se adicionó placebo de la suspensión experimental a las soluciones estándar.

## **5.4 Evaluación de los métodos de disolución**

### **5.4.1 Evaluación del tipo de filtro**

Para investigar el efecto del tipo de filtro se realizaron seis réplicas a dos niveles de concentración: 2.5  $\mu\text{g/mL}$  y 12.5  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol en HCl 0.1 N. Se filtró una alícuota a través de papel filtro Watman No 42 de diámetro de poro de 0.25  $\mu\text{m}$  y a través de filtro de teflón de diámetro de poro de 10  $\mu\text{m}$ . Posteriormente se obtuvo la absorbancia a 294 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1601 previamente calibrado de las dos muestras filtradas y de una tercera muestra tomada sin filtrar. Se obtuvo la concentración por interpolación en una curva de calibración preparada el mismo día como se describe en la linealidad del método. Se calculó el % de retención para cada filtro.

### **5.4.2 Estabilidad de la muestra.**

Se analizaron cinco soluciones estándar adicionadas de placebo que contenían la

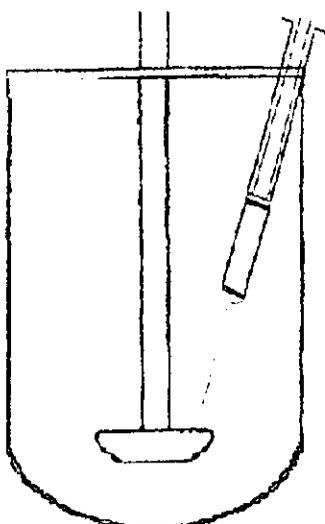
concentración de 12.5  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol en HCl 0.1N. Se midió la absorbancia al tiempo cero, una hora, dos horas y diecisiete horas a temperatura ambiente y se compararon los resultados obtenidos de las muestras al tiempo cero con los demás tiempos analizados ( $F, 3, 16, \alpha=0.05$ ).

### **5.5 Método de disolución directo**

Los perfiles de disolución se llevaron a cabo en un disolutor Vankel 700 previamente calibrado, se empleó el aparato II (paletas) a una temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C y velocidad de agitación de  $75 \pm 2$  rpm. Estas condiciones se determinaron con base en los estudios realizados anteriormente en el laboratorio 113 de Biofarmacia de la Facultad de Química de la UNAM.

Se utilizó como medio de disolución 900 mL de HCl 0.1 N desgasificado un día anterior. Se pesó en una balanza analítica una cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol (aproximadamente 5 mL de suspensión) que se depositó en el fondo del vaso a través de una jeringa provista de aguja de 10 cm de largo. Se lavó el sistema una vez con 5 mL del medio de disolución teniendo cuidado de depositarlo por las paredes del vaso. Se retiraron muestras de 5 mL a los 5, 15, 30, 60, 90, 105 y 120 min, recuperándose el medio de disolución. Las muestras fueron filtradas a través de un filtro de teflón de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.

Se realizó una dilución 1/25 mL y se determinó la absorbancia a 294.0 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1601 previamente calibrado.



**Figura 7**

**Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método directo.**

## 5.6 Pruebas de diálisis

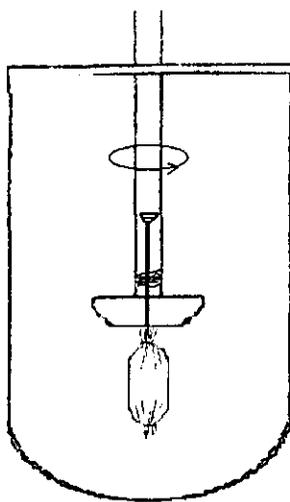
### 5.6.1 Método de diálisis

Los tubos de diálisis se adquirieron del proveedor Thomas Scientific, se empleó tubo de celulosa de 7cm de largo con un tamaño de poro de 12000 a 14000 D. Los tubos de diálisis se hidrataron durante 24 horas en agua destilada (según las recomendaciones del fabricante). Los extremos se cerraron con hilo de la marca Timón 100% de nylon y se depositó una cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol de la suspensión experimental.

Los perfiles de disolución se llevaron a cabo en un disolutor Vankel 700 previamente calibrado. Se empleó como medio de disolución HCl 0.1 N desgasificado un día anterior. Se tomaron muestras de 5 mL a los 5, 15, 30, 60, 90, 105 y 120 min recuperándose el medio de disolución. Las muestras fueron filtradas a través de un filtro de teflón de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. Se obtuvieron las absorbancias a 294.0 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1601 previamente calibrado.

#### 5.6.1.1 Paletas

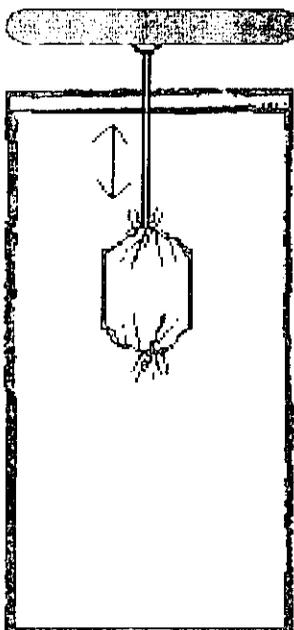
Esta prueba se llevó a cabo en el aparato No. II de la USP, se empleó 900 mL de HCl 0.1 N,  $75 \pm 2$  rpm y  $37 \pm 0.5$  °C. Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol y se depositó en la bolsa de diálisis. La bolsa se fijó a una aguja de acero inoxidable que posteriormente se sujetó al centro de la paleta con Parafilm®.



**Figura 8**  
Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No. 2.

### 5.6.1.2 BIO-DIS

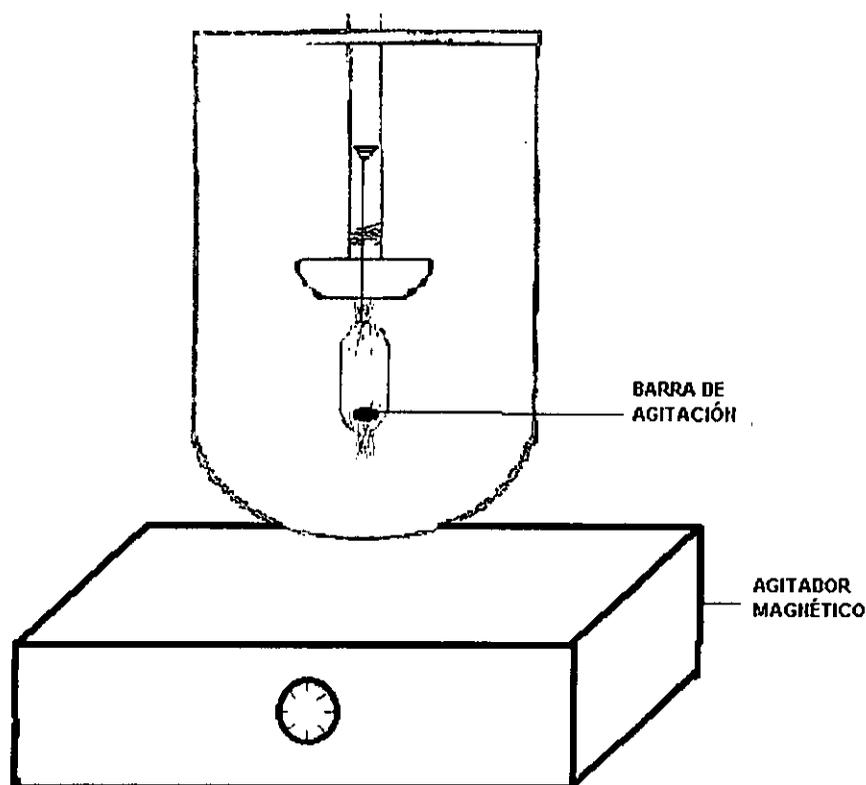
Esta prueba se llevo a cabo en el aparato No III, se empleó 250 mL de HCL 0.1 N, Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 50 mg de metronidazol y se depositó en la bolsa de diálisis. La bolsa se fijó al centro del vaso. Los primeros 60 min se realizaron a 5 elevaciones/min, los siguientes 60 minutos a 10 elevaciones/min y los últimos 60 minutos a 20 elevaciones/min.



**Figura 9**  
Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis empleando el BIO-DIS.

### 5.6.1.3 Agitador magnético

Se empleo el aparato II y 900 mL de HCl 0.1 N. Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol y se deposito en la bolsa de diálisis. Se introdujo en la bolsa de diálisis una barra magnética, posteriormente la bolsa se fijo al centro del vaso. La agitación dentro de la bolsa de diálisis se logró a través de un agitador magnético.



**Figura 10**  
**Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis logrando la agitación por medio de un agitador magnético.**

#### **5.6.1.4 Paletas + agitador magnético**

Se empleó el aparato II, 900 mL de HCl 0.1 N,  $75 \pm 2$  rpm y  $37 \pm 0.5$  °C. Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol que se depositó en la bolsa de diálisis, se introdujo una barra magnética dentro de la bolsa de diálisis para lograr agitación dentro de ésta por medio de un agitador magnético. Se sujetó la bolsa a la tapa del vaso a través de una aguja de 8 cm de largo de tal manera que quedara a un costado de la paleta.

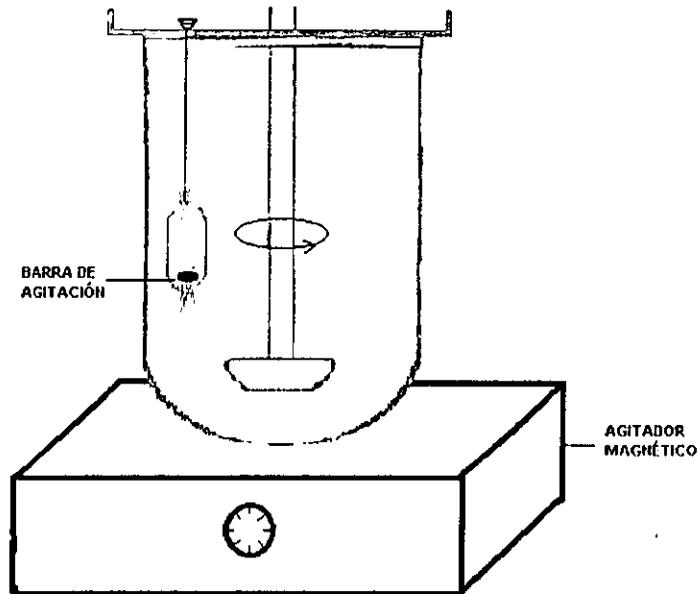


Figura 11

Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No 2 y un agitador magnético.

#### 5.6.1.5 Canastillas

Se empleo 900 mL de HCl 0.1 N,  $75 \pm 2$  rpm y  $37 \pm 0.5$  °C Se pesó la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol que se depósito en la bolsa de diálisis y se sujetó al vástago del aparato No. 1.

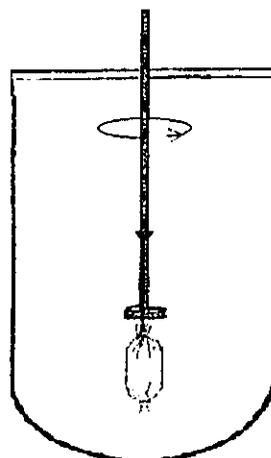


Figura 12

Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando el aparato No 1.

### 5.6.1.6 Celda "Vankel"

Para realizar esta prueba se utilizó The Vankel Enhancer Cell. Esta celda se emplea para evaluar la liberación del principio activo de suspensiones y emulsiones. Se empleó el aparato No. 2, 900 mL de HCl 0.1 N,  $75 \pm 2$  rpm y  $37 \pm 0.5$  °C. Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol, y se depositó en el interior de la celda. Se colocó la membrana de diálisis como se indica en la figura 13. La celda se colocó en el fondo del vaso y la paleta se situó a 1 cm de la celda.

1. Alineador
2. Sujetador de la membrana
3. Rosca
4. Membrana de diálisis
5. Cuerpo de la celda
6. Anillo de seguridad
7. Ajustador del volumen
8. Base de la celda

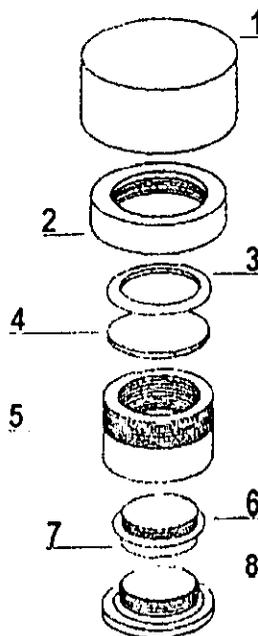
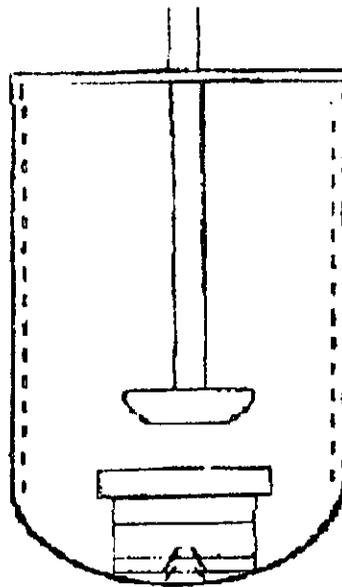


Figura 13  
Diagrama de ensamblaje de la celda "Vankel"

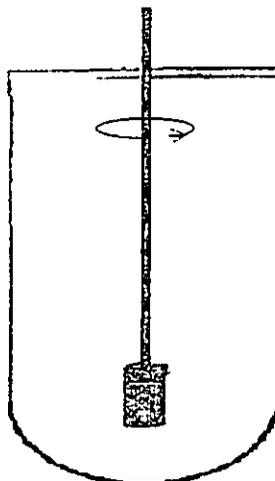


**Figura 14**

Sistema empleado para realizar la prueba de disolución por el método de diálisis utilizando la celda "Vankel"

#### 5.6.1.7 Canastilla de diámetro de poro de 1-5 mm

Para realizar esta prueba se utilizó el aparato No. 1 y la canastilla empleada posee un diámetro de poro de 1-5 mm. Las condiciones de estudio fueron 900 mL de HCl 0.1 N,  $75 \pm 2$  rpm y  $37 \pm 0.5$  °C. Se pesó en una jeringa la cantidad equivalente a 125 mg de metronidazol y se depositó en el interior de la canastilla.



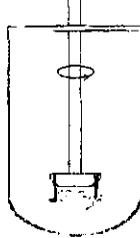
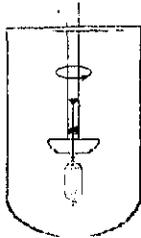
**Figura 15**

Sistema empleado para realizar la prueba de disolución empleando el aparato No 1 y una canastilla de diámetro de poro de 1-5 mm.

### 5.7 Estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis

Se realizó un diseño factorial  $2^3$  (tres factores y dos niveles), la variable de respuesta medida fue el % disuelto a los 120 minutos y se empleó la suspensión experimental. Los factores y niveles que se consideraron fueron los siguientes:

Tabla 2 Factores y niveles para el estudio de diálisis de suspensiones de benzoilmetronidazol.

Factores	Nivel bajo (-)	Nivel alto (+)
A= Velocidad de agitación	50 rpm	100 rpm
B= Posición de la bolsa de diálisis	Horizontal 	Vertical 
C= Tamaño de la bolsa de diálisis	7 cm	10 cm

Las condiciones a las cuales se llevó a cabo el estudio fueron empleando el aparato No 2 (ver figura 7), a las condiciones de  $37^{\circ}\text{C}$  y 900 mL de HCl 0.1 N. La tabla de experimentos se presenta a continuación:

A continuación se presenta la tabla de experimentos y la aleatorización que se debe realizar para llevar a cabo un diseño de experimentos factorial  $2^3$

Tabla 3 Experimentos a realizar para un diseño factorial  $2^3$

Exp.	Aleatorización	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	2	-	-	-	+	+	+	-
2	4	+	-	-	-	-	+	+
3	5	-	+	-	-	+	-	+
4	8	+	+	-	+	-	-	-
5	6	-	-	+	+	-	-	+
6	7	+	-	+	-	+	-	-
7	1	-	+	+	-	-	+	-
8	3	+	+	+	+	+	+	+

**5.8 Efecto de varios parámetros de la suspensión sobre la velocidad de disolución empleando el método directo.**

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto del agente viscosante o suspensor, de la viscosidad de la suspensión, del tamaño de partícula del benzoilmetronidazol y de la velocidad de agitación durante la fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución del benzoilmetronidazol.

Los dos agentes suspensores evaluados fueron carboximetilcelulosa y acacia. Se caracterizó por su tamaño de partícula a varios proveedores de benzoilmetronidazol y de los cuales se seleccionaron dos diferentes proveedores. El tamaño de partícula fue determinado por microscopía como se describe en el apartado 5.2 (Determinaciones fisicoquímicas). Los proveedores de benzoilmetronidazol seleccionados fueron Pronaquim lote 980703 para el nivel inferior y Farmaquim lote 08 para el nivel superior.

La suspensión del fármaco en la matriz se logró a través de un Ultraturrax para el límite superior se eligió una velocidad de 100 rpm y para el límite inferior se eligió un parrilla de agitación provista de una barra magnética a una velocidad de 10 rpm. Ambas condiciones durante el mismo tiempo (10 minutos).

Con este propósito se realizó un diseño factorial  $2^4$  (cuatro factores y dos niveles). A continuación se presenta los factores y niveles seleccionados.

**Tabla 4 Factores y niveles para el estudio de los algunos factores de manufactura y formulación de suspensiones de benzoilmetronidazol que influyen en la velocidad de disolución.**

Factores	Nivel bajo	Nivel alto
A= Carboximetilcelulosa	0.1 g/100 mL	0.5 g/100 mL
B= Acacia	0.1 g/100 mL	0.5 g/100 mL
C= Tamaño de partícula	11 $\mu$ m	18 $\mu$ m
D= Velocidad de agitación	10 rpm	100 rpm

Las variables de respuesta medidas fueron: la pendiente de la curva de disolución, el tiempo medio de disolución, el tamaño de partícula, la eficiencia de la disolución (%),  $t_{90}$ , y la pendiente de la curva de disolución.

En la tabla 15 se presenta la tabla de experimentos y la aleatorización que se debe realizar para llevar a cabo un diseño de experimentos factorial  $2^4$ .

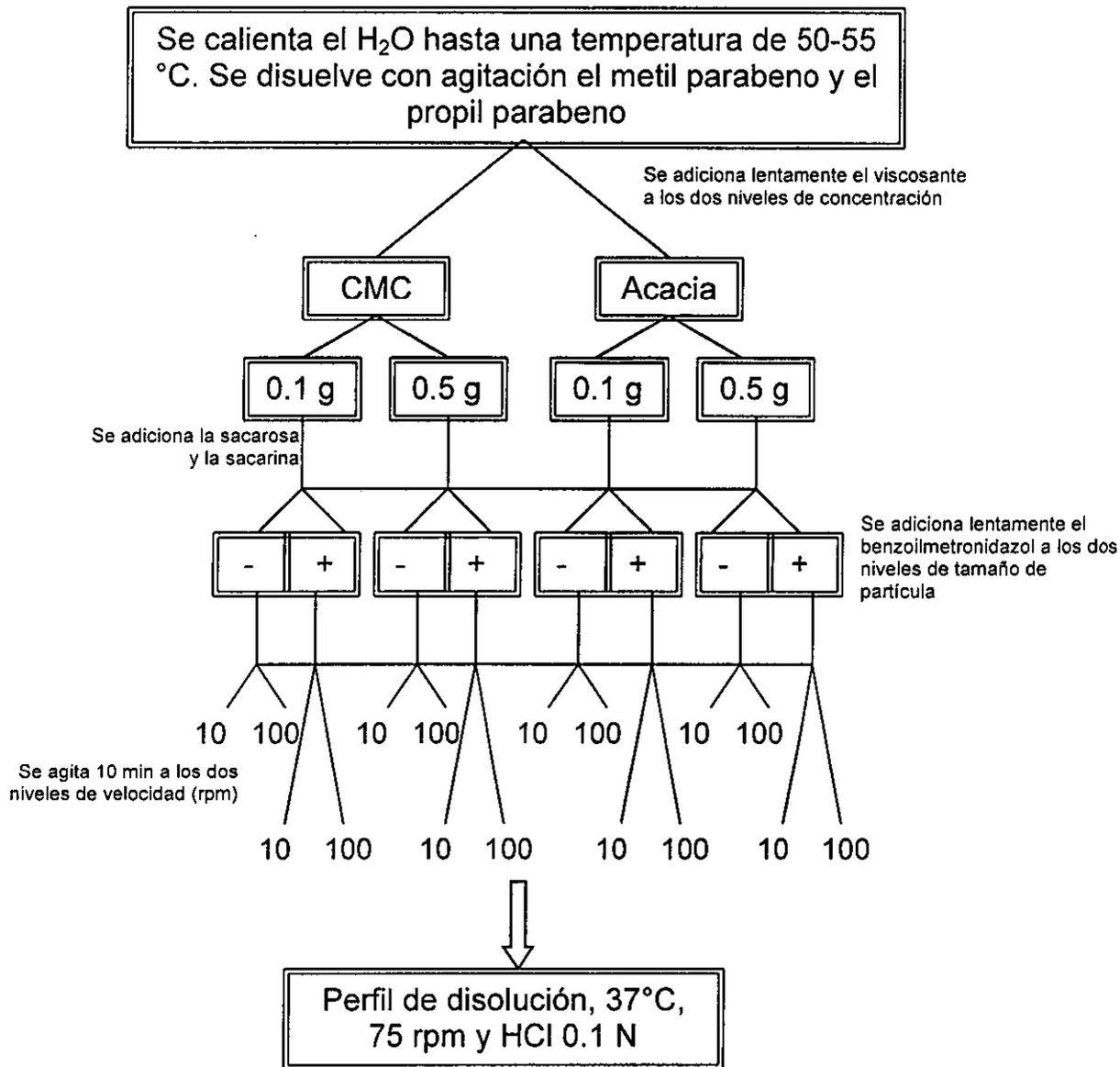
Tabla 5 Experimentos a realizar para un diseño factorial 2<sup>4</sup>

Aleat.	Nº EXP.	A	B	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD	ABC	ABD	ACD	BCD	ABCD
5	1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
8	2	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
10	3	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
16	4	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
2	5	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-
9	6	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
1	7	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+
3	8	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+
14	9	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
11	10	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
15	11	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
4	12	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
6	13	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
12	14	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
7	15	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
13	16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**5.8.1 Fabricación de las suspensiones de benzoilmetronidazol empleadas en el estudio del efecto de varios parámetros de la formulación y fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución.**

La formulación de la suspensión y el procedimiento para la fabricación de la suspensión experimental es como se indica en la sección 5.1. La estrategia que se siguió para realizar la variación de los factores y niveles indicados anteriormente se describe en el esquema 2.

Los perfiles de disolución de las suspensiones se llevaron a cabo empleando el aparato No 2 por el método directo en un disolutor Vankel VK-700 previamente calibrado, 37 ± 0.5 °C, 900 mL de HCl 0.1 N y 75 rpm (ver figura 7).



Esquema 2

Diagrama de flujo para la fabricación de las suspensiones evaluadas en el estudio del efecto de varios parámetros de la formulación y fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Propiedades Físicoquímicas de las suspensiones de benzoilmetronidazol

Antes de llevar a cabo un estudio de disolución de cualquier medicamento se debe realizar la evaluación de los requerimientos mínimos de calidad que deben cumplir. En el cuadro 1 se presentan los resultados de las determinaciones físicoquímicas realizadas a las nueve suspensiones objeto de estudio de disolución.

**Cuadro 1 Determinaciones físicoquímicas para el control de calidad de cada uno de los tres lotes de las suspensiones Flagyl®, Flagenase® y experimental.**

	Suspensión Experimental			Flagyl®			Flagenase®		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Descripción y resuspendibilidad	Suspensión amarillo claro, con partículas visiblemente suspendidas que al sedimentar se resuspenden fácilmente.			Suspensión amarillo claro con olor y sabor a limón, se observan partículas visiblemente suspendidas.			Suspensión con color, sabor y olor a naranja, presenta partículas visiblemente suspendidas que al sedimentar se resuspenden con facilidad		Suspensión amarillo canario con olor y sabor a limón. Se observan partículas visiblemente suspendidas que al sedimentar se resuspenden con facilidad.
PH	6.5	6.5	6.5	6.4	6.4	6.4	6.8	6.3	6.3
Vol. de sedimentación	7.5 %	10 %	10 %	0 %	0 %	0 %	70 %	80 %	60 %
Densidad relativa	1.21 g/mL	1.20 g/mL	1.19 g/mL	1.24 g/mL	1.24 g/mL	1.25 g/mL	1.20 g/mL	1.20g/mL	1.20 g/mL
Valoración	98.3%	104.8 %	101.0 %	92.2 %	104.0 %	101.0 %	102.2 %	103.0 %	100.0 %

En cuanto al control de calidad de las suspensiones se observa que todos los lotes de todas las suspensiones cumplen con los requerimientos indicados en la FNEUM (2000) de descripción, resuspendibilidad, valoración y pH.

Existen parámetros cuya especificación no se considera en la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos (2000), estos requerimientos poseen una especificación interna para cada fabricante y son el volumen de sedimentación y densidad relativa. Se observó repetibilidad en estas características para los lotes de Flagyl® y la suspensión experimental, pero no así para el lote 1 de Flagenase® cuya descripción fue diferente a los otros dos lotes.

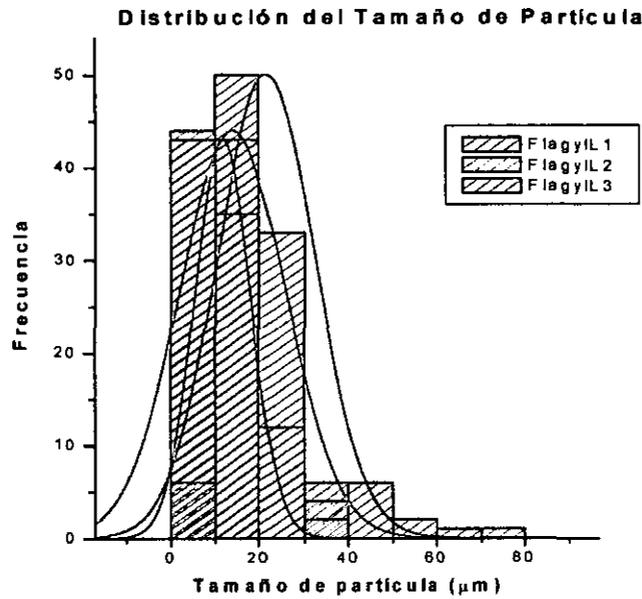
### **6.2 Determinación del tamaño de partícula de las suspensiones de benzoilmetronidazol**

En la Industria Farmacéutica no se considera el tamaño de partícula del benzoilmetronidazol en suspensión como una prueba de control de calidad, sin embargo se determinó el tamaño para observar la consistencia en tres diferentes lotes realizados por un mismo fabricante y para comparar entre diferentes fabricantes. En el cuadro 2 se indican los resultados del análisis de estadística descriptiva de los datos obtenidos a partir de la medición del diámetro de 100 partículas empleando el método microscópico.

**Cuadro 2 Estadística descriptiva para los datos experimentales de tamaño de partícula de los tres lotes de Flagyl®, Flagenase® y Suspensión Experimental.**

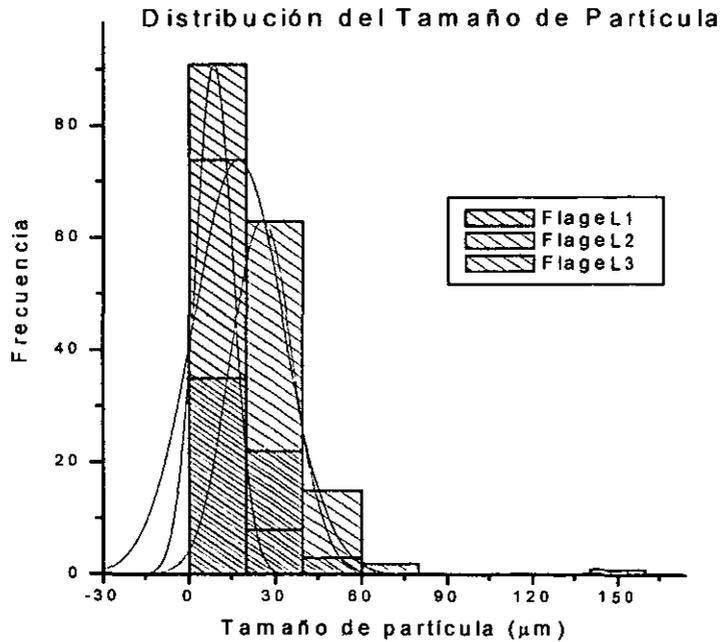
	Flagyl L1	Flagyl L2	Flagyl L3	Flage L1	Flage L2	Flage L3	Exp L1	Exp L2	Exp L3
Media ( $\mu\text{m}$ )	21.4	13.9	11.7	8.7	25.4	15.8	8.5	12.9	16.8
Mediana ( $\mu\text{m}$ )	18.5	10	10	7	25	14	7	10	14
Moda ( $\mu\text{m}$ )	18	8	5	3	30	10	3	9	13
Desviación estándar ( $\mu\text{m}$ )	10.9	11.9	6.31	6.6	11.0	8.7	6.0	9.3	11.4

De los datos obtenidos de tamaño de partícula por el método microscópico se realizaron las Figuras de la distribución del tamaño de partícula para cada fabricante. Los histogramas y la curva de distribución normal se presentan en las figuras 16, 17 y 18.



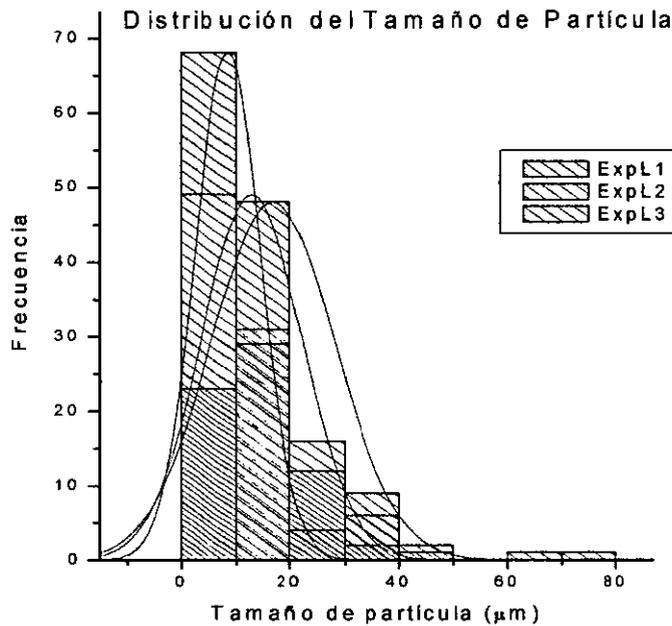
**Figura 16**  
**Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de Flagyl®.**

El lote 1 de Flagyl® posee un tamaño de partícula mayor ( $X = 21.4 \mu\text{m}$ ), en comparación con el lote 2 y 3 ( $13.9$  y  $11.7 \mu\text{m}$  respectivamente), estos datos se presentan en el cuadro 2 y también se pueden observar gráficamente en la figura 16, donde el lote 1 de Flagyl está en color rojo, los histogramas para los lotes 2 y 3 prácticamente se traslapan.



**Figura 17**  
**Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de Flagenase®.**

En el cuadro 2 se puede observar que el lote dos de Flagenase® posee un tamaño de partícula mayor ( $X = 25.4 \mu\text{m}$ ), en comparación con el lote uno y tres que exhiben una distribución similar, la moda se encuentra en tres y en diez para el lote uno y tres respectivamente. También se puede observar en la figura 17, que la curva de distribución del lote dos de Flagenase®, en color verde, se encuentra más desplazada hacia la derecha.



**Figura 18**  
**Distribución del tamaño de partícula de tres lotes de la suspensión experimental.**

Del cuadro 2 se observa que el lote 3 fue el que posee un diámetro de partícula mayor. También se observó que el lote uno y el lote dos son quienes exhibe un tamaño de partícula menor ( $X = 8.5$  y  $X = 12.9$  respectivamente) asimismo en la figura 18 se observan discretas diferencias en la distribución del tamaño de partícula para los dos lotes antes mencionados.

Por último, al comparar los nueve lotes de las tres suspensiones se obtiene que la suspensión experimental es quien posee un menor tamaño de partícula y no existe una gran diferencia entre Flagyl® y Flagenase®.

**6.3. Evaluación de los parámetros de calidad del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.**

**6.3.1 Validación del sistema analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.**

**6.3.1.1 Linearidad del sistema analítico**

La linealidad del sistema se determinó construyendo una curva de calibración a seis diferentes niveles de concentración. Los resultados obtenidos para el ensayo de linealidad del sistema se presentan en el cuadro 3.

**Cuadro 3**  
**Datos experimentales para evaluar la linealidad del sistema analítico**

Con. (µg/ml)	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	Absorb. ± DS	DER
2.4	0.0642	0.0642	0.0630	0.0651	0.0631	0.0665	0.0644 ± 0.0013	2.039
4.8	0.1298	0.1312	0.1357	0.1357	0.1263	0.1307	0.1316 ± 0.0036	2.759
7.2	0.1968	0.2000	0.1931	0.2035	0.1953	0.1968	0.1976 ± 0.0037	1.858
9.7	0.2587	0.2639	0.2589	0.2717	0.2599	0.2682	0.2636 ± 0.0054	2.054
12.1	0.3245	0.3287	0.3253	0.3337	0.3181	0.3274	0.3263 ± 0.0052	1.581
24.1	0.6404	0.6420	0.6426	0.6636	0.6278	0.6621	0.6464 ± 0.0138	2.141

Los resultados se encuentran expresados en términos de absorbancia

El ajuste de los resultados experimentales se realizó mediante un análisis de regresión lineal simple empleando el paquete de análisis estadístico SAS System for Windows 6.11, SAS Institute Inc.

Se encontró evidencia estadística de que el dato (0.6278), podía considerarse como un error experimental. La evidencia encontrada fue que se calculó un valor de significancia menor a 0.05 (0.02339), por lo que puede ser descartado.

El resumen de la regresión lineal excluyendo el dato experimental se presenta en el cuadro 4 y la relación grafica entre las variables se observa en la figura 19.

**Cuadro 4**  
**Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 3**

Coeficiente de correlación (r)						0.9991	
Coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> )						0.9991	
	g.l.	Estimado	Error típico	t	Probabilidad	Intervalo de confianza (95%)	
Intercepto	1	0.0017	0.0017	1.052	0.3006	-0.0009 -0.0067	
Pendiente	1	0.0269	0.0001	191.4	0.000	0.02643-0.0270	

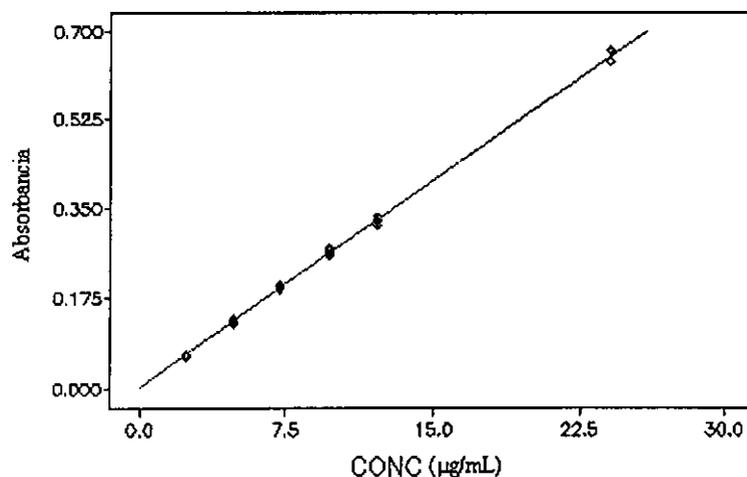
$$H_0: \beta_i = 0$$

$$H_a: \beta_i \neq 0$$

De la información presentada en el cuadro 4 se desprende que existe suficiente evidencia estadística para aseverar que el valor de la absorbancia depende de la concentración del analito al observarse un valor en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.9991, lo que indica que 99.9% de la variación de la respuesta se encuentra explicada por una relación lineal con la variable X. Aunado a esto, se obtuvo que el valor de probabilidad para el intercepto es mayor a 0.05 (0.3006) por lo que la hipótesis nula se acepta y  $\beta_0$  estadísticamente es igual a cero. Para el caso de la pendiente el valor de la probabilidad es menor a 0.05 así que, el valor de la pendiente es diferente de cero. Así como, en la figura 19 se observa un comportamiento lineal entre las variables.

Modelo propuesto:  $\mu = \beta_1 X + \varepsilon$

Modelo encontrado:  $Abs. = 0.0269 * X + \varepsilon$



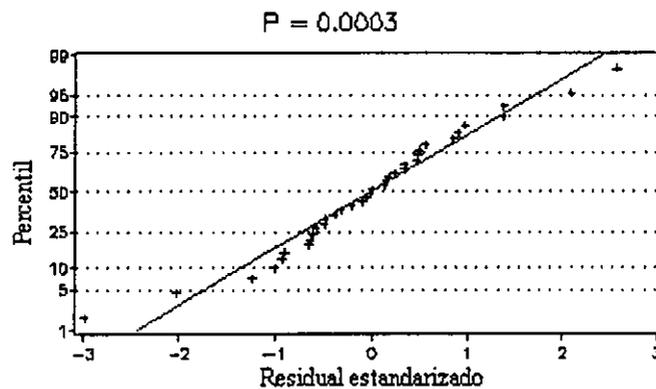
**Figura 19**  
**Gráfica de linearidad del sistema analítico.**

Debido a que se encontró que se violaba el supuesto de que la variación no se mantenía constante para todas las observaciones, se realizó un análisis de residuales, la gráfica de normalización de los residuales se representa en la figura 20, con el fin de determinar si el error entre el valor estimado y el valor experimental sigue un comportamiento aleatorio. Además se realizó un análisis de varianza (cuadro 5) para determinar si el modelo encontrado describe la relación lineal entre las variables y si puede utilizarse con fines de predicción.

**Cuadro 5**  
Análisis de varianza para los datos indicados en el cuadro 3

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Probabilidad
Modelo	6	1.270	0.212	8135	0.0000
Error	29	0.0008	26E-6		
Total	35	1.271			

El valor obtenido de probabilidad es menor de 0.05, por lo que la variación de la respuesta se encuentra descrita por el modelo propuesto.



**Figura 20**  
Análisis de residuales estandarizado de la linealidad del sistema

En la figura 20 se observa un comportamiento no aleatorio de los residuos. Se realizó la prueba de Xi-cuadrada para determinar si la variación se mantenía constante y se calculó un valor de probabilidad de 0.0003 para los valores predichos por el modelo propuesto por lo que se concluye que la varianza no se mantiene constante.

Los análisis empleados para determinar la linealidad del sistema fueron: el coeficiente de determinación, pruebas de hipótesis de los coeficientes, análisis de varianza de la regresión y análisis de residuales. Para los anteriores criterios en todos los casos se obtuvieron resultados concluyentes para aseverar que el sistema analítico es lineal.

### 6.3.1.2 Repetibilidad del sistema analítico

La repetibilidad del sistema se demostró realizando seis réplicas por un mismo analista para seis niveles de concentración de metronidazol, posteriormente se calculó la desviación estándar relativa (DER) para estimar la repetibilidad del sistema analítico. Los

datos experimentales empleados para evaluar la repetibilidad fueron obtenidos del mismo ensayo que se realizó para evaluar la linealidad del sistema, los cuales están indicados en el cuadro 3.

Se determinó que el sistema es repetible al observar un DER menor al 3.0 % en cada punto de la curva de calibración.

**6.3.1.3 Reproducibilidad del sistema analítico**

La reproducibilidad del sistema se demostró realizando 6 réplicas por dos diferentes analistas de la concentración indicada al 100% disuelto. En el cuadro 6 se presentan los resultados de la reproducibilidad del sistema evaluada en dos analistas a un mismo nivel de concentración.

**Cuadro 6**  
**Datos experimentales para evaluar la reproducibilidad del sistema analítico**

Analista 1	Analista 2
0.3245	0.3433
0.3287	0.3478
0.3253	0.3557
0.3337	0.3130
0.3181	0.3246
0.3274	0.3376

Los resultados se encuentran expresados en términos de absorbancia.

Con los resultados indicados en el cuadro 6 se realizó un análisis de varianza, cuyo resultado se encuentra en el cuadro 7.

**Cuadro 7**  
**Análisis de varianza de un factor para los datos presentados en el cuadro 6**

Factores	Suma de cuadrados	g.l.	Prom. de cuadrados	F	Probabilidad	F crítica
Entre analistas	0.00034	1	0.00034	2.51	0.14377	4.96
Dentro de analistas	0.00137	10	0.00014			
Total	0.00171	11				

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

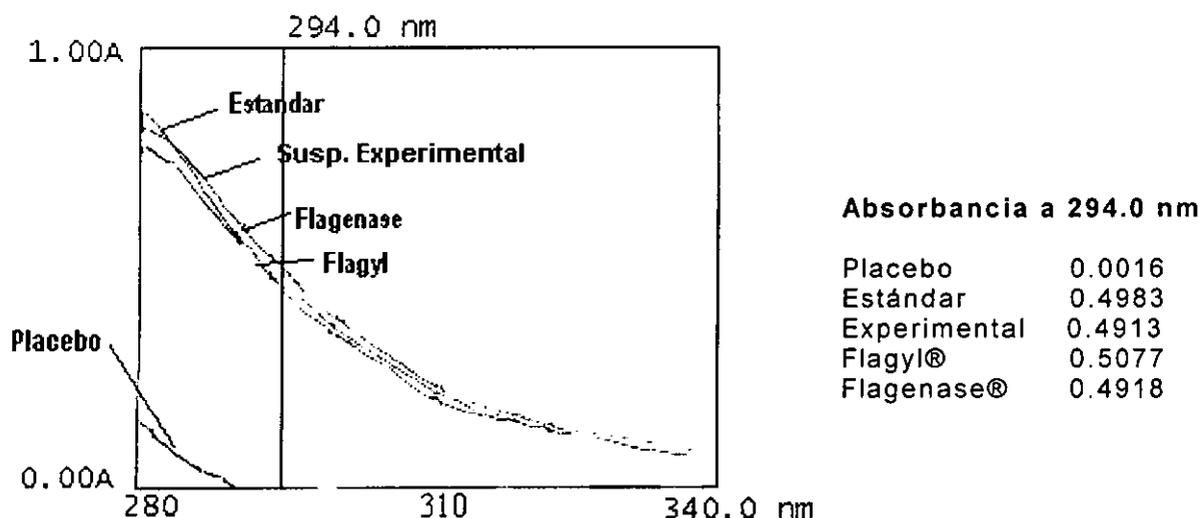
$(F_{1,11, \alpha=0.05})$ .

Se obtuvo que  $F < F$  crítica,  $(2.51 < 4.96)$  por lo que  $H_0$  se acepta y estadísticamente no hay diferencia entre analistas, como consecuencia el sistema analítico es reproducible.

**6.3.2 Validación del método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución.**

**6.3.2.1 Especificidad del método analítico**

Con el fin de determinar la especificidad del método de análisis se realizó la obtención de espectros de absorción del placebo de la suspensión experimental, del estándar, de la suspensión experimental, de flagyl® y de flagenase®. Los espectrogramas obtenidos se muestran en la figura 21.



**Figura 21**  
**Especificidad del método analítico**

(Condiciones de análisis: Espectrofotómetro Shimadzu UV-1601; Intervalo: 340 a 280 nm; Disolvente: HCl 0.1 N; Concentración: 12.5 µg/mL).

La figura 21 muestra que el placebo de la suspensión experimental no absorbe a 294.0 nm (absorbancia de 0.0016), por lo que ésta fue la longitud de onda elegida para la cuantificación del metronidazol en el medio de disolución (HCl 0.1 N). De lo anterior se deriva que el método analítico es específico para la suspensión experimental.

Considerando que no se contaba con el placebo de las suspensiones comerciales se generó el espectrograma de éstas y de una solución estándar preparadas bajo las mismas condiciones. La absorbancia a 294.0 nm es prácticamente la misma para la solución estándar, las suspensiones comerciales y la suspensión experimental, las cuales cumplen con el contenido de principio activo, por lo cual la concentración es aproximadamente la misma. De lo anterior se deriva que el método analítico es específico para las suspensiones comerciales.

**6.3.2.2 Linearidad del método analítico**

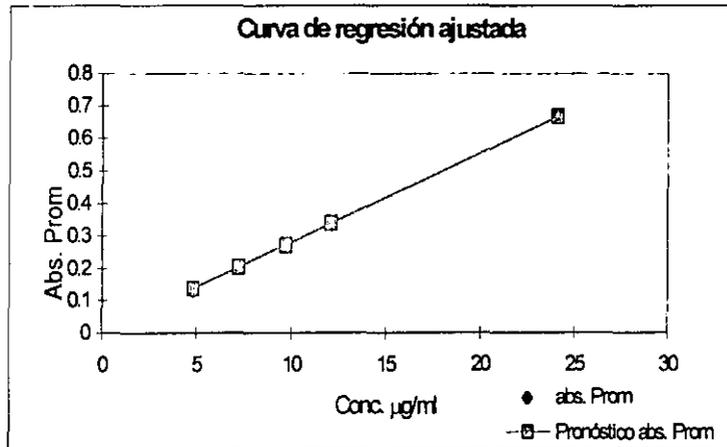
La linealidad del sistema se determinó construyendo cinco replicas de una curva de calibración a cinco diferentes niveles de concentración. Los resultados obtenidos para el ensayo de linealidad del sistema se presentan en el cuadro 8.

**Cuadro 8**  
**Datos experimentales para evaluar la linealidad del método analítico**

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	R1	R2	R3	R4	R5	Absorb. $\pm$ DS	DER
4.8	0.1316	0.1371	0.1378	0.1359	0.1364	0.1358 $\pm$ 0.0024	1.8
7.2	0.2070	0.2018	0.2076	0.2097	0.2034	0.2059 $\pm$ 0.0032	1.6
9.7	0.2767	0.2688	0.2795	0.2697	0.2703	0.2730 $\pm$ 0.0048	1.8
12.1	0.3396	0.3326	0.3394	0.3337	0.3369	0.3364 $\pm$ 0.0032	1.0
24.1	0.6724	0.6531	0.6790	0.6702	0.6672	0.6684 $\pm$ 0.0096	1.4

Los resultados se presentan en términos de absorbancia

A partir de los datos anteriores se realizó la gráfica de correlación entre absorbancia promedio y la concentración, la cual se presenta en la figura 22.



**Figura 22**  
**Gráfica de linealidad del método analítico.**

Gráficamente se observó un comportamiento lineal y de igual manera que en la determinación de linealidad para el sistema analítico el ajuste de los resultados experimentales se realizó mediante un análisis de regresión lineal simple, empleando el paquete Microsoft Excel 97. Las estadísticas de la regresión obtenidas del análisis son las siguientes:

**Cuadro 9**

**Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 8**

Coeficiente de correlación (r)				0.99996	
Coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> )				0.99993	
	Coeficientes	Error típico	t	Probabilidad	Intervalo de confianza (95%)
Intercepto	0.0054	0.0018	3.0	0.0593977	-0.0004-0.0112
Pendiente	0.0275	0.0001	201.4	0.0000002	0.0270-0.0279

H<sub>0</sub>: β<sub>i</sub> = 0

H<sub>a</sub>: β<sub>i</sub> ≠ 0

De la información en el cuadro 9 se determinó un comportamiento lineal al ser el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 0.9999, lo que indica que el 99.9% de la variación de la respuesta se encuentra explicada por una relación lineal con la variable independiente. Las pruebas de hipótesis para la pendiente y el intercepto indican que el valor de probabilidad para el intercepto es mayor a 0.05 (0.05939) por lo que la hipótesis nula se acepta y β<sub>0</sub> estadísticamente es igual a cero. Para el caso de la pendiente el valor de la probabilidad es menor a 0.05 (2E-07) por lo cual β<sub>1</sub> es diferente de cero.

Modelo encontrado:  $\mu = \beta_1 X + \varepsilon$

Modelo propuesto: Abs. = 0.0275\*X + ε

Los análisis empleados para determinar la linealidad del método analítico fueron: correlación gráfica entre las variables, el coeficiente de determinación y las prueba de hipótesis de los coeficientes. Para los anteriores criterios se obtuvieron en todos los casos resultados concluyentes para aseverar que el sistema analítico es lineal.

### 6.3.2.3 Exactitud del método analítico

Para evaluar la exactitud del método analítico se realizaron cinco replicas de una curva de calibración adicionadas de placebo de la suspensión experimental para tres niveles de concentración. Se calculo el % de recobro cuyos resultados se presentan en el siguiente cuadro:

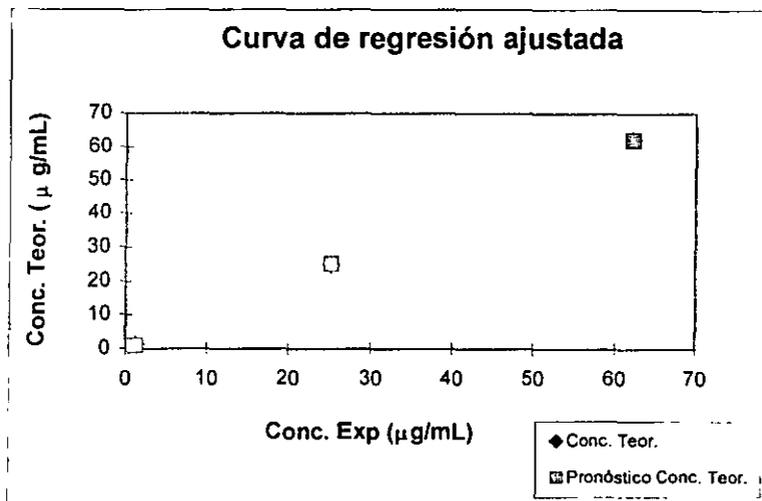
**Cuadro 10**

**Datos experimentales para evaluar la exactitud del método analítico**

Concentración Teórica	% Recuperado	DER
1.2 µg/mL	101.5 ± 2.7	2.7
24.9 µg/mL	101.7 ± 3.9	3.9
62.2 µg/mL	99.9 ± 1.7	1.7

Cada valor representa el promedio de cinco replicas ± desviación estándar para cada concentración.

A partir de los datos indicados en el cuadro 10 se realizó la gráfica de correlación (figura 23) entre la concentración teórica y la concentración recuperada.



**Figura 23**  
Correlación gráfica de concentración teórica en función de la concentración experimental

Asimismo se realizó un ajuste de los datos experimentales mediante un análisis de regresión lineal simple, empleando el paquete Microsoft Excel 97. Las estadísticas de la regresión obtenidas del análisis de regresión lineal se indican en el cuadro 11.

**Cuadro 11**  
Estadísticas de la regresión lineal para los datos presentados en el cuadro 10

Coeficiente de correlación (r)				1.0000	
Coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> )				0.9999	
	Coeficientes	Error típico	t	Probabilidad	Intervalo de confianza (95%)
Intercepto	-0.1911	0.3257	-0.59	0.6622	-4.3290-3.9469
Pendiente	1.0018	0.0084	119.2	0.0053	0.8550-1.1086

$H_0: \beta_i = 0$

$H_a: \beta_i \neq 0$

Del análisis estadístico se observa que existe correlación entre la cantidad teórica y la cantidad recuperada al calcularse un valor de coeficiente de determinación de 0.9999. Esta correlación también se puede observar en la Figura 23. En el caso de la pendiente, se obtuvo un valor de probabilidad inferior a 0.05 (0.0053), por lo que la

hipótesis nula se rechaza, es decir, que la pendiente es diferente de cero. El valor del intercepto es estadísticamente igual a cero al obtenerse un valor de probabilidad mayor a 0.05 (0.6622), por lo que la hipótesis nula se acepta. Aunado a esto, para cada nivel de concentración se obtuvo un recobro entre 98-102%. De lo anterior se deriva que el método analítico es exacto.

#### **6.3.2.4 Repetibilidad del método analítico**

La repetibilidad del método propuesto se determinó mediante la realización de cinco réplicas de una curva de calibración de cinco niveles de concentración. Se calculó la DER para estimar la repetibilidad del método. Los datos experimentales empleados para evaluar la repetibilidad fueron obtenidos a partir del mismo ensayo que se realizó para evaluar la linealidad del método y cuyos resultados están indicados en el cuadro 8.

Se determinó que el método es repetible al observar una DER menor al 3.0% en cada punto de la curva de calibración.

#### **6.3.2.5 Reproducibilidad del método analítico**

Para determinar la reproducibilidad del método analítico se realizaron 5 réplicas por un analista y 6 réplicas por un segundo analista a un mismo nivel de concentración y bajo mismas condiciones de trabajo. Los resultados se presentan el cuadro 12

**Cuadro 12**  
**Datos experimentales para evaluar la reproducibilidad del método analítico.**

Analista 1	Analista 2
0.3286	0.3242
0.3326	0.3274
0.3394	0.3365
0.3337	0.3285
0.3369	0.3251
	0.3297

Los resultados se encuentran expresados en términos de absorbancia.

A partir de los resultados indicados en el cuadro 12 se realizó un análisis de varianza de un solo factor para determinar si los resultados obtenidos por dos diferentes analistas bajo las mismas condiciones de trabajo presentan diferencia estadísticamente significativa. Los resultados del análisis de varianza se presentan el cuadro 13.

**Cuadro 13**

**Análisis de varianza para los datos presentados en el cuadro 12**

Fuente de Variación.	Suma de cuadrados	g.l.	Prom. de cuadrados	F	Probabilidad	F crítica
Entre analistas	8.8E-05	1	8.77819E-05	4.8	0.0565	5.1174
Dentro de los analistas	1.7E-04	9	1.83517E-05			
Total	0.000253	10				

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$  ( $F_{1,10, \alpha=0.05}$ ).

Se obtuvo que  $F < F$  crítica, ( $4.81 < 5.11$ ) por lo que  $H_0$  se acepta y estadísticamente no hay diferencia entre analistas, como consecuencia el método analítico es reproducible.

#### 6.4 Evaluación del tipo de filtro

Existen diferentes parámetros que se deben de considerar para el diseño de una prueba de disolución:

Medio de disolución, desgaseificación del medio, aparato, velocidad de agitación, volumen del medio de disolución, temperatura, método de muestreo, filtro, método de detección, método de cuantificación, área superficial de la membrana, cantidad del F disuelto, entre otros. Estos parámetros necesitan ser determinados para que el método sea confiable. Con esta idea en mente se evaluó la interferencia del filtro y la estabilidad de la muestra.

Se evaluó la interferencia de dos diferentes filtros, el de papel y el de teflón, a partir de dos ensayos. El primero se realizó probando una concentración teórica de 2.5  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol, lo anterior con el fin de determinar si para concentraciones pequeñas, el analito se adsorbía al filtro. El segundo ensayo se realizó a una concentración experimental de 12.5  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol con la intención de evaluar la interferencia del filtro cuando se ha disuelto el 100%.

Se realizaron 5 réplicas de cada concentración y se calculó el % de retención. Posteriormente se estimó el intervalo de confianza para cada filtro empleando el valor de la prueba de t para medias de dos muestras emparejadas y de esta manera determinar si existe diferencia entre la muestra sin filtrar y la muestra filtrada.

La manera calcular el % de retención de cada filtro se explica en el Apéndice 1.

Los resultados obtenidos se presentan en los cuadros 14 y 15 y en la figura 24 se representa el efecto del tipo de filtro sobre la absorbancia.

Cuadro 14

Datos experimentales de los filtros estudiados a una concentración teórica de 2.5 µg/mL

Sin filtrar	Filtro de teflón	Incremento (%)	Filtro de papel	Incremento (%)
2.63	2.74	4.2	3.34	27.1
2.63	2.68	2.0	3.42	30.0
2.66	2.61	- 1.8*	3.22	21.2
2.76	2.57	- 6.8*	3.36	22.0
2.73	2.65	- 2.6*	3.42	25.5

\*Los números negativos indican que se observó un decremento en la concentración, la manera de realización del cálculo se explica en el Apéndice I.

Los resultados se encuentran expresados en términos de concentración (µg/mL)

Cuadro 15

Datos experimentales de los filtros estudiados a una concentración teórica de 12.5 µg/mL

Sin filtrar	Filtro de teflón	Incremento (%)	Filtro de papel	Incremento (%)
12.10	11.84	-2.1*	12.77	5.5
13.00	12.71	-2.2*	14.04	7.9
12.54	12.30	-1.9*	12.88	2.6
12.63	12.46	-1.4*	12.98	2.7
12.47	12.30	-1.4*	12.73	2.0

\*Los números negativos indican que se observó un decremento en la concentración.

Los resultados se encuentran expresados en términos de concentración (µg/mL)

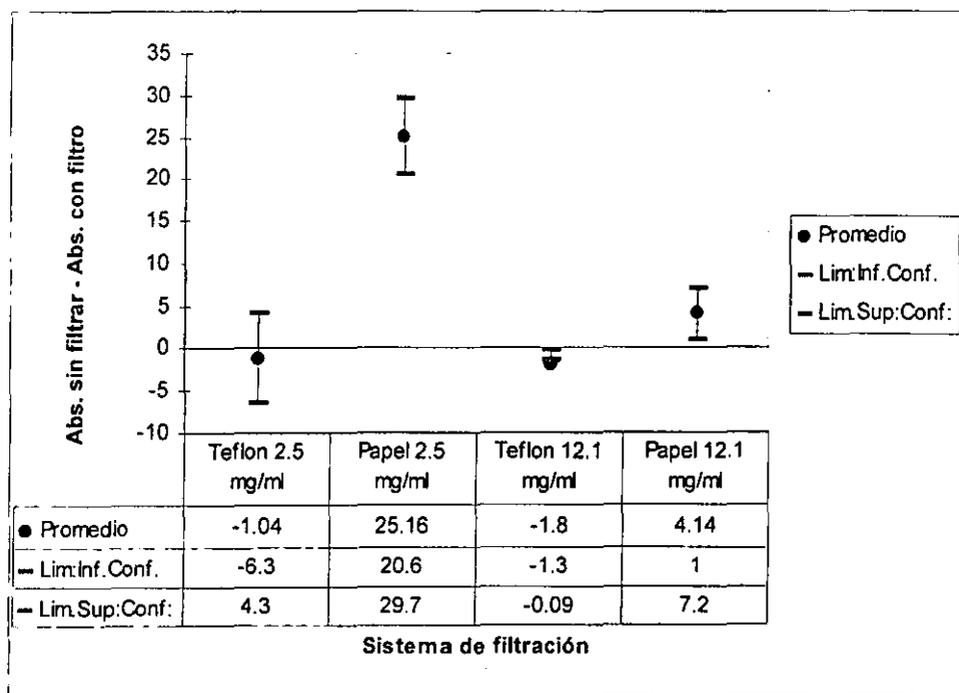


Figura 24  
Efecto del tipo de filtro sobre la señal analítica

El intervalo de confianza para el filtro de teflón es: de 4.3 a -6.3 %. Dado que el intervalo de confianza incluye al cero se concluye que el % de incremento estadísticamente es igual a cero, por lo que no existe diferencia entre las muestras sin filtrar y las muestras filtradas a través de teflón.

El intervalo de confianza para el filtro de papel es de 29.7 a 20.6 %. Dado que el intervalo de confianza no incluye al cero se concluye que el % de incremento estadísticamente es diferente de cero y este tipo de filtro no sería apropiado.

El intervalo de confianza para el filtro de teflón es de -1.3 a -0.09 %. El intervalo de confianza no incluye al cero, por lo que el % de incremento es significativo.

Intervalo de confianza para el filtro de papel es de 7.2 a 1.0 %. Dado que el intervalo de confianza no incluye al cero se concluye que el % de incremento estadísticamente es diferente de cero y el filtro de papel aumenta la cuantificación del principio activo.

De los resultados anteriores se concluye que el filtro más adecuado es el de teflón, considerando que para la concentración teórica de 12.5 µg/mL el intervalo de confianza está cercano al cero.

### **6.5 Estabilidad de la muestra**

Para determinar si la muestra era estable se realizaron 5 réplicas de una solución estándar adicionada de placebo de la suspensión experimental, se obtuvo la absorbancia a través de diferentes tiempos considerando como referencia la respuesta obtenida al tiempo cero. En el cuadro 16 se presentan los resultados obtenidos.

**Cuadro 16**  
**Datos experimentales del estudio de estabilidad de la muestra**

Tiempo = 0 horas	Tiempo =1 hora	Tiempo =2 horas	Tiempo=17 horas
12.10	12.23	12.11	12.20
13.00	13.23	12.98	13.12
12.54	12.71	12.59	12.65
12.63	12.94	12.74	12.86
12.47	12.59	12.46	12.59

Los resultados se encuentran expresados en términos de concentración en µg/mL

Para determinar si la muestra era estable se realizó un análisis de varianza de un solo factor, considerando como fuente de variación el tiempo y de esta manera concluir acerca de si existe diferencia entre los diferentes tiempos. Los resultados obtenidos del análisis de varianza se presenta en el cuadro 17.

**Cuadro 17**

**Análisis de varianza para los datos presentados en el cuadro 16**

Fte. de error	Suma de cuadrados	g.l	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	F crítica
Entre horas	0.1223	3	0.0407	0.349	0.790	3.238
Dentro de las horas	1.86772	16	0.1167			
Total	1.99002	19				

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

$F_{3,16, \alpha=0.05}$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$

Se obtuvo que  $F < F$  crítica, por lo que la hipótesis nula ( $H_0$ ) se acepta y estadísticamente no existe diferencia significativa entre los diferentes tiempos analizados y en consecuencia la muestra es estable durante 17 horas.

### 6.6 Método de diálisis

Debido a que no se contaba con un sistema de diálisis propuesto con anterioridad, procedimos a diseñar varios sistemas de diálisis con el fin de encontrar aquel sistema que permitiera la liberación de la mayor cantidad de principio activo. Todos los ensayos fueron realizados empleando la suspensión experimental (la representación gráfica de todos los sistemas se puede observar en las figuras 8-15). En el cuadro 18 se presentan los resultados experimentales y en la figura 25 se observan gráficamente los resultados obtenidos.

**Cuadro 18**

**Datos experimentales del % disuelto de metronidazol empleando diferentes sistemas de diálisis.**

Tiempo (min)	Paletas	Bio-dis	Canastilla (1-5 mm)	Paletas + ag. magnética	Canastillas	Celda de Vankel	Ag. magnética
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	1.6	2.5	2.0	0.6	1.4	1.7	0.7
15	4.4	6.7	3.78	2.7	3.4	1.7	2.9
30	8.3	10.0	6.26	6.2	6.9	1.0	5.0
60	15.4	11.0	6.37	12.5	8.3	1.0	9.4
90	23.7	14.3	9.34	18.9	9.4	2.8	13.0
105	25.3	16.6	14.6	22.1	11.7	0.5	14.7
120	26.4	16.9	16.5	25.0	15.1	0.5	16.4

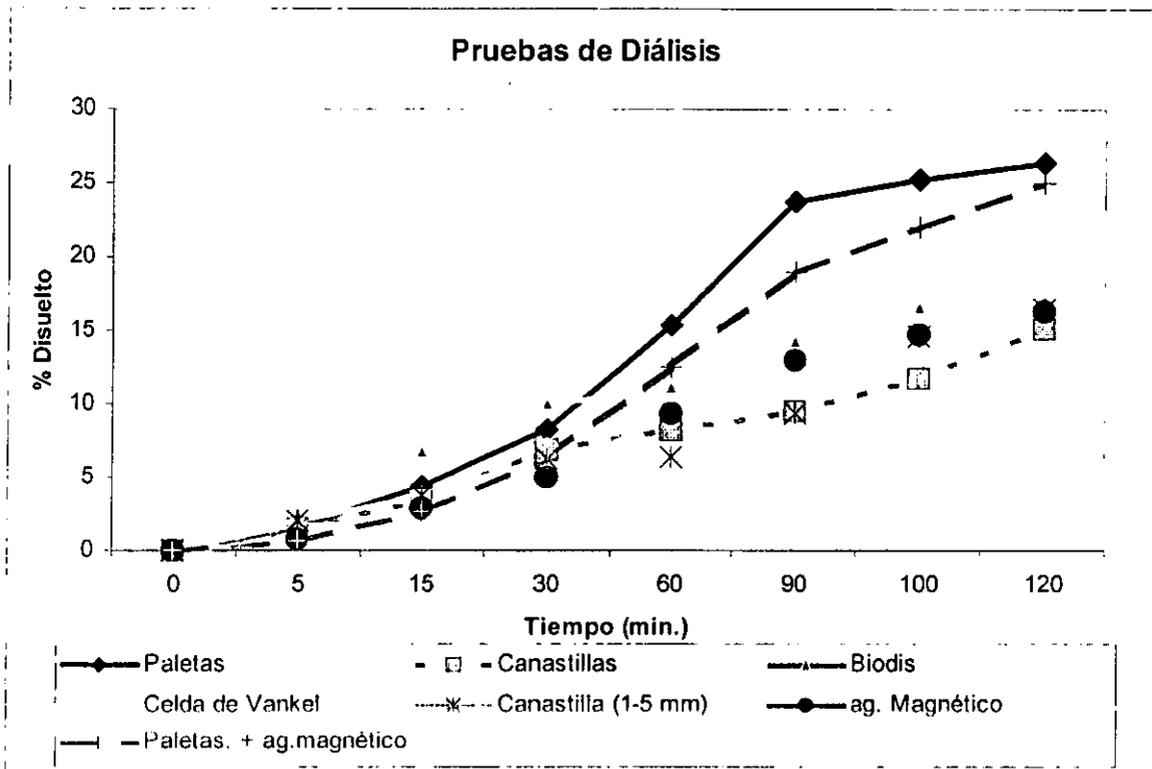


Figura 25

Gráfica del % disuelto empleando diferentes sistemas de diálisis.

De las pruebas de diálisis realizadas se observó que el sistema que libera una mayor cantidad de principio activo es el método de paletas, por lo que este sistema se eligió para posteriormente realizar un estudio comparativo de disolución de tres lotes de la suspensión experimental, Flagyl® y Flagenase®. El sistema que liberó la menor cantidad fue empleando la celda de Vankel y esto se debe a que la superficie de la membrana que se encuentra en contacto con el medio de disolución es muy pequeña

### 6.7 Estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis.

Una vez que se logró determinar que el método de paletas (ver figura 8) era el sistema que presentaba mejor liberación del principio activo, se procedió a encontrar los factores que exhiben una mayor influencia sobre la velocidad de diálisis y así tratar de optimizar dichos factores. Con esta idea en mente se realizó un análisis de experimentos factorial  $2^3$ , en el que se consideraron como factores la posición, el tamaño de la bolsa de diálisis y la velocidad de agitación.

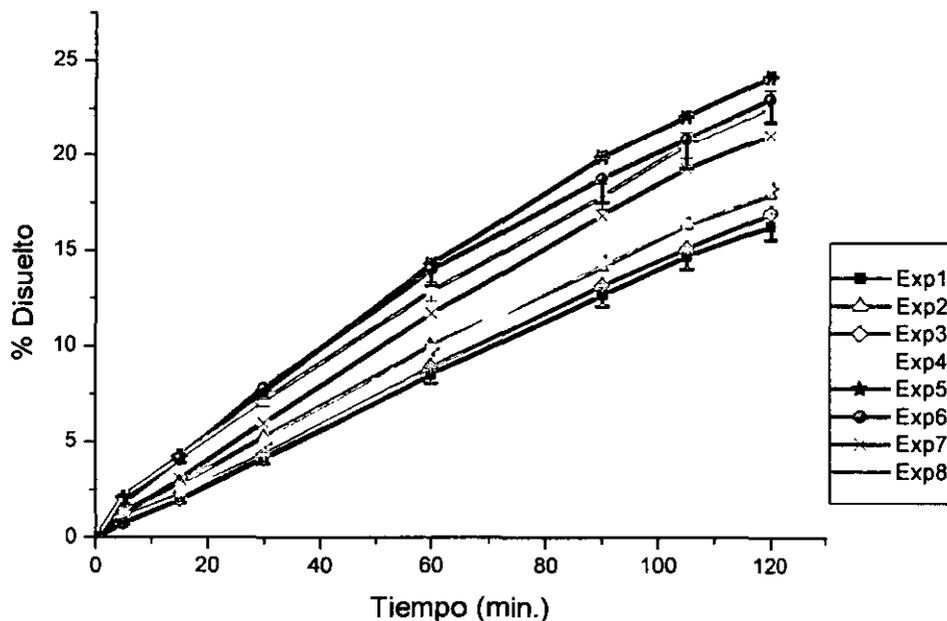
En el cuadro 19 se presentan los resultados obtenidos

**Cuadro 19**

**Datos experimentales del % disuelto para el efecto de la posición, tamaño de la bolsa de diálisis y velocidad de agitación (diseño factorial 2<sup>3</sup>)**

Tiempo (min)	Exp 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6	Exp. 7	Exp. 8
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	0.7	1.4	1.2	1.3	2.2	1.8	1.2	2.2
15	1.2	2.8	2.3	2.4	4.3	4.1	3.0	4.2
30	4.1	5.2	4.3	4.9	7.7	7.8	5.9	7.2
60	8.5	10.1	6.2	9.8	14.5	13.9	11.7	12.8
90	12.7	14.1	13.2	14.4	20.3	18.7	16.9	17.8
105	14.7	16.3	15.1	16.4	22.4	20.8	19.2	20.5
120	16.2	17.8	16.9	18.2	24.5	22.9	21.0	22.6

En la figura 26 se pueden observar los perfiles de disolución obtenidos a partir de los resultados presentados en el cuadro 19.



**Figura 26**  
**Perfiles de disolución obtenidos a partir del cuadro 19**

La variable de respuesta mediada fue el porcentaje disuelto a los 120 minutos obtenido a partir de los resultados presentados en el cuadro 19.

En el siguiente cuadro se presentan los resultados obtenidos.

**Cuadro 20**  
**% Disuelto a los 120 minutos**

	% Disuelto a los 120 minutos
Experimento 1	16.2
Experimento 2	17.8
Experimento 3	16.9
Experimento 4	18.2
Experimento 5	24.5
Experimento 6	22.9
Experimento 7	21.0
Experimento 8	22.6

Se realizó un análisis estadístico empleando el paquete de análisis estadístico SAS System for Windows 6.11, SAS Institute Inc. En este análisis no se excluyó observación alguna y se realizó un análisis de regresión múltiple y ANDEVA, los factores considerados fueron velocidad, tamaño y posición de la bolsa de diálisis. Para más detalles acerca del procedimiento para la elección del modelo más adecuado, consultar el apéndice II. Se realizó la estimación de los parámetros cuyo resultado se presenta en el cuadro 21.

**Cuadro 21**  
**Estimación de los parámetros**

	g.l.	Estimado	Error estándar	t	Probabilidad
Intercepto	1	19.89	0.245	81.28	0.0000
Velocidad	1	0.301	0.346	0.869	0.3962
Posición	1				
Tamaño	1	3.044	0.346	8.795	0.0000
Vel.*Tam	1	-0.214	0.245	-0.875	0.03930
Vel*(Pos=1)	1	0.400	0.489	0.817	0.4245
Vel*(Pos=-1)	0	0			
Pos*(Tam=1)	1	-0.918	0.489	-1.876	0.0769
Pos*(Tam=-1)	0	0			

$H_0: \beta_i = 0$

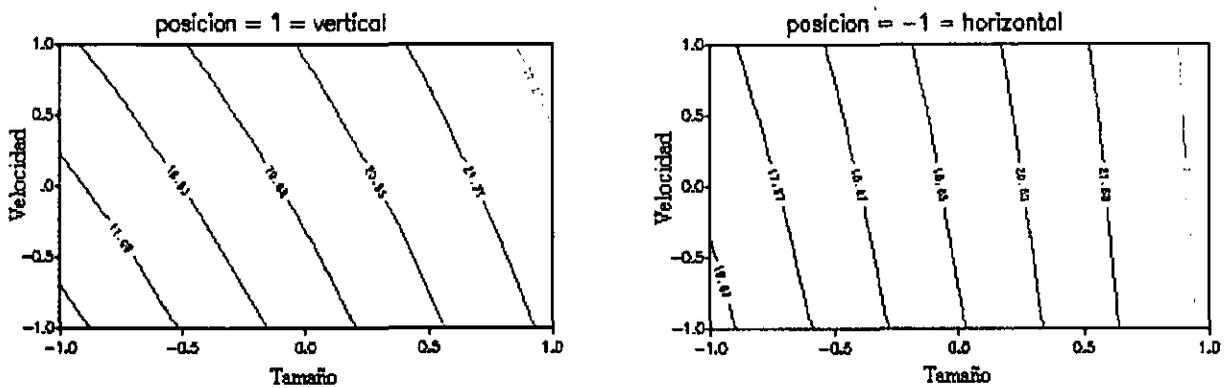
$H_a: \beta_i \neq 0$

De este análisis se deriva que los factores que tienen un efecto significativamente mayor sobre el % disuelto a los 120 min es el tamaño.

El modelo es: %dis a los 120 min = 19.89 + 0.301\*velocidad + 3.044\*tamaño -0.214\*velo\*tamaño + 0.400\*velocidad\*(posicion='1') - 0.918\*tamaño \*(posicion='1').

Para determinar cuales serían las condiciones a las cuales se libera la mayor cantidad de principio activo, se observa la figura 27 y se obtiene que se debería trabajar a la velocidad de 75 rpm, colocando la bolsa en posición horizontal, con el mayor tamaño de bolsa. Al respecto se debe destacar que, cumplir esta última condición no sería posible debido a que el diseño del sistema implicaba que la bolsa estuviera sumergida en 900 mL de medio de disolución, al emplear un tamaño de bolsa mayor, ésta quedaría fuera de la capacidad del vaso.

Para realizar el estudio de disolución que se describe en el inciso 6.8 se van a tomar en cuenta las condiciones encontradas en este apartado.



**Figura 27**  
**Gráfica de la relación de los factores estudiados**

En el cuadro 22 se presentan los resultados del análisis estadístico y el análisis de varianza del modelo propuesto.

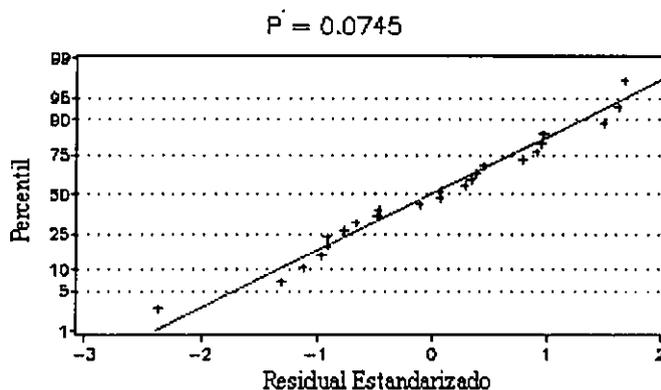
**Cuadro 22**  
**Análisis de varianza del modelo propuesto**

$R^2$	0.8702				
$R^2$ ajustada	0.8342				
Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Probabilidad
Modelo	5	173.5	34.70	24.14	0.0000
Error	18	25.87	1.437		
Total	23	199.4			

A partir del análisis estadístico se determinó que existe suficiente evidencia estadística de que las variables en el modelo están relacionados con el valor esperado del % disuelto a los 120 minutos. Se observó que el 87 % de la variación de la variable de respuesta es atribuible a la variación de las predicciones obtenidas a partir del modelo propuesto, asimismo se determinó que el modelo es significativo al observar un valor de probabilidad menor de 0.05, lo

que significa que la variación de la respuesta se encuentra descrita por el modelo propuesto.

Con el fin de saber si el error asociado a la predicción sigue un comportamiento aleatorio, es decir que la variabilidad es la misma para cada observación se realizó un análisis de residuales, cuya representación gráfica está en la figura 28.



**Figura 28**  
**Análisis de residuales**

Para determinar si la variabilidad para todas las observaciones es la misma se realizó la prueba de Xi- cuadrada y se observó un valor de probabilidad de 0.0745, este dato es mayor de 0.05, por lo que la hipótesis nula se acepta es decir, que la varianza se mantiene constante.

### **6.8 Estudio comparativo de tres lotes de Flagyl®, Flagenase® y suspensión experimental empleando método de diálisis y el método directo.**

El benzoilmetronidazol es un fármaco de escasa solubilidad, razón por la cual es comúnmente administrado en forma de suspensión oral. Con el propósito de complementar la evaluación de la calidad de suspensiones de benzoilmetronidazol comercialmente disponibles, se realizó un estudio de disolución de tres lotes de dos suspensiones comerciales y la suspensión experimental cuyos parámetros de control de calidad especificados en la FNEUM fueron satisfactorios. La evaluación se llevó a cabo empleando el método de disolución directo y el método de diálisis que mayor liberación de principio activo presenta y aplicando las condiciones óptimas detectadas en el inciso 6.7.

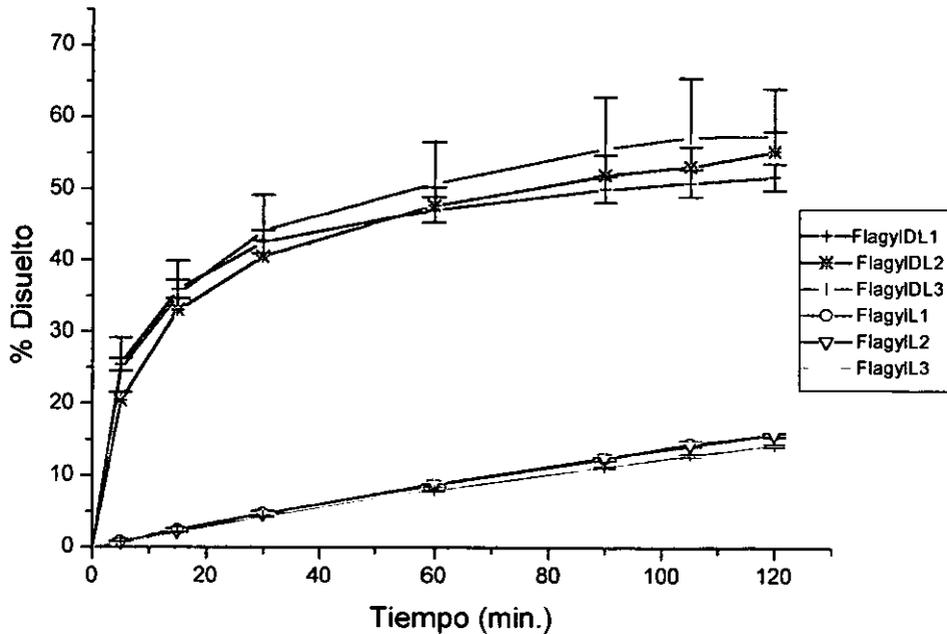
En el cuadro 23 se presentan los resultados experimentales obtenidos para Flagyl®.

**Cuadro 23**

**% disuelto de tres lotes de Flagyl® por ambos métodos (diálisis y directo)**

Tiempo (min)	Método Directo (% disuelto)			Método de diálisis (% disuelto)		
	FlagylDL1	FlagylDL2	FlagylDL3	Flagyl L1	Flagyl L2	Flagyl L3
5	25.4	20.4	24.7	1.0	0.75	0.8
15	35.9	53.0	35.2	2.9	2.6	2.2
30	42.5	40.4	44.6	5.8	5.2	4.7
60	47.0	47.6	50.7	10.5	11.0	4.8
90	49.9	51.9	55.5	14.9	16.8	14.6
105	50.8	53.0	57.1	16.9	19.2	16.5
120	51.6	55.2	57.3	18.8	21.3	18.4

En la figura 29 se presentan los perfiles de disolución obtenidos a partir de los datos presentados en el cuadro 23.



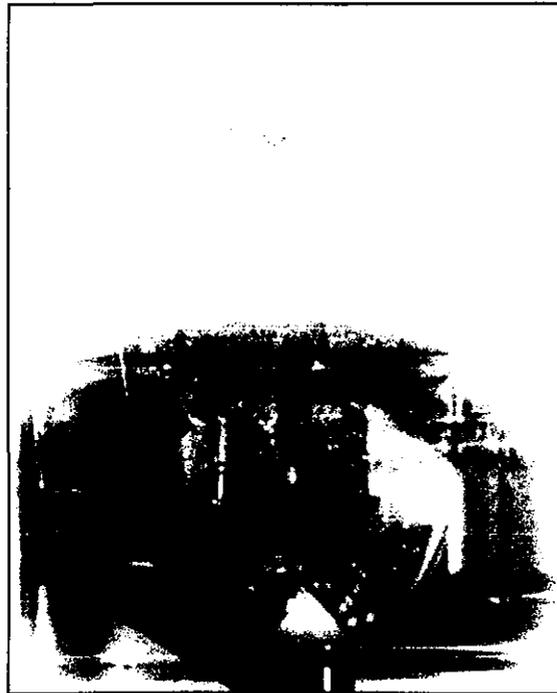
**Figura 29**

**Comparación de tres diferentes lotes de Flagyl® por el método de diálisis y el método directo.**

En los lotes estudiados de Flagyl® por el método directo se observó que no existe una disolución total del benzoilmetronidazol en el medio de disolución (entre 45-60% disuelto). La razón es que la suspensión forma conglomerados en el seno del medio de disolución, lo cual impide la liberación del medio (figura 30). La anterior situación puede resultar grave para la liberación del principio activo en el tracto gastrointestinal, si se piensa que en primera instancia la

forma farmacéutica tiene contacto con los fluidos gástricos que poseen un pH ácido. Para el método de diálisis se observan diferencias notables en cuanto a nivel, una menor liberación del benzoilmetronidazol, pero se observa consistencia en la forma de los perfiles para los tres lotes.

En la figura 30 se ilustra formación de conglomerados de Flagyl® en el medio de disolución e inclusive se forma un botón en el fondo del vaso.



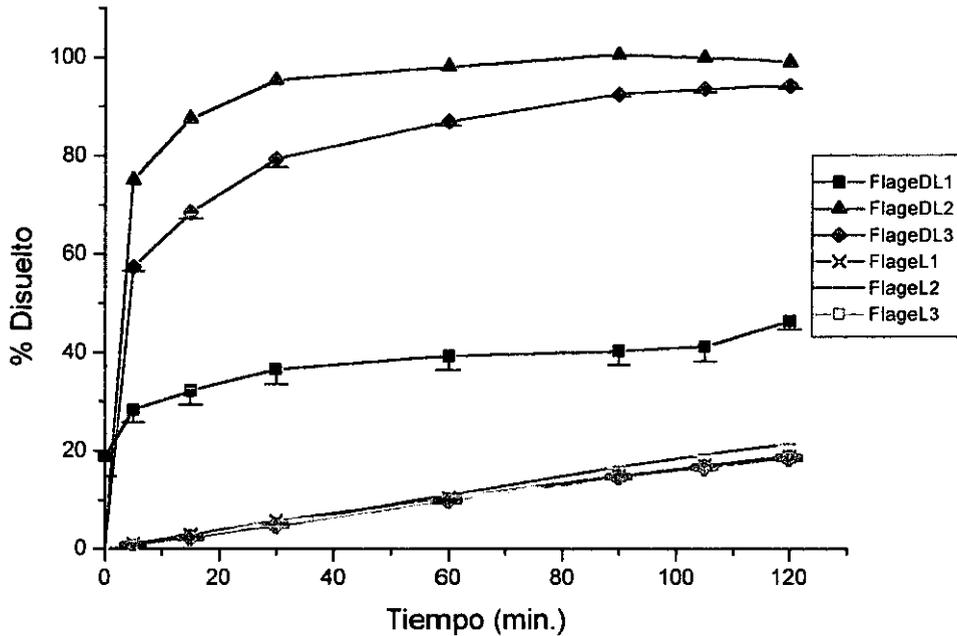
**Figura 30**  
**Formación de conglomerados de Flagyl® en el seno del medio de disolución simulando los jugos gástricos**

En el cuadro 24 se presentan los resultados experimentales obtenidos para Flagenase®.

**Cuadro 24**  
**% Disuelto de 3 lotes de Flagenase® por ambos métodos (diálisis y directo)**

Tiempo (min)	Metodo Directo (% disuelto)			Método de diálisis (% disuelto)		
	FlageDL1	FlageDL2	FlageDL3	Flage L1	Flage L2	Flage L3
5	22.6	75.0	57.4	1.0	0.7	0.8
15	28.3	87.6	68.8	2.9	2.6	2.2
30	32.2	95.3	79.7	5.8	5.2	4.7
60	36.6	98.1	86.9	10.5	11.0	9.8
90	39.3	100.5	92.5	14.9	16.8	14.6
105	40.3	99.9	93.6	16.9	19.3	16.5
120	41.	99.0	99.3	18.8	21.3	18.4

En la figura 31 se presentan los perfiles de disolución obtenidos a partir de los datos presentados en el cuadro 24.



**Figura 31**  
**Comparación de tres diferentes lotes de Flagenase por el método de diálisis y el método directo.**

Se observó diferencias en cuanto a nivel entre los diferentes lotes de Flagenase®. El lote número 1 exhibe apenas un 40 % de disolución cuando se realizó el perfil por el método directo. Cabe señalar que este lote cumple con todas las especificaciones fisicoquímicas pero cabe destacar que su descripción física fue diferente para este lote. Los lotes 2 y 3 liberan el 100% del principio activo.

Se observó variación entre lotes en cuanto al comportamiento de los perfiles de disolución por el método directo. El método de diálisis no es capaz de discernir entre los tres diferentes lotes.

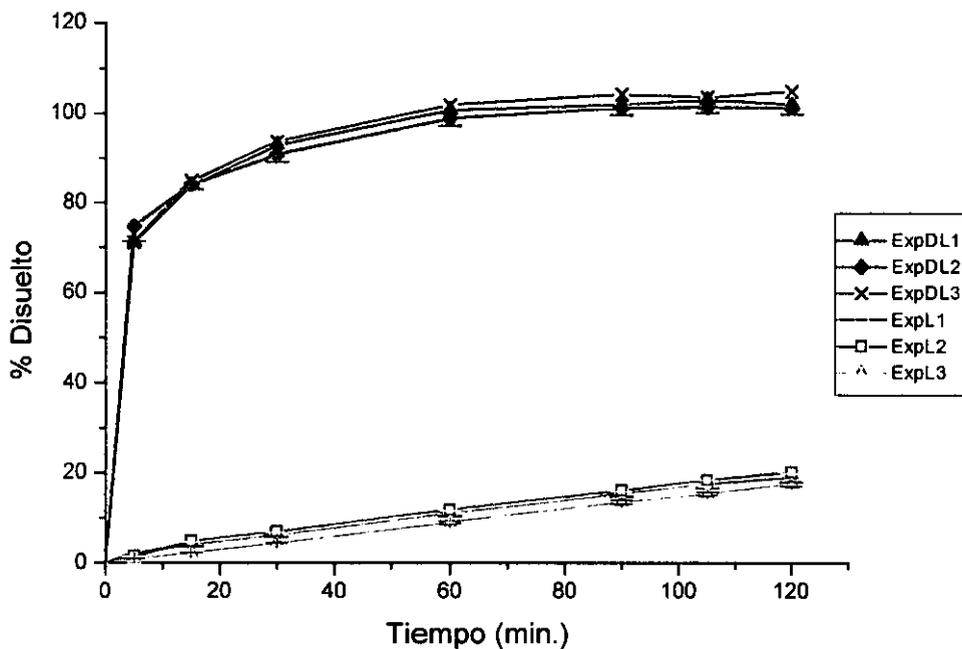
En el cuadro 25 se presentan los resultados experimentales obtenidos para la suspensión experimental.

**Cuadro 25**

**% Disuelto de tres lotes de Susp. Experimental por ambos métodos (diálisis y directo)**

Tiempo (min)	Metodo Directo (% disuelto)			Método de diálisis (% disuelto)		
	ExpDL1	ExpDL2	ExpDL3	Exp DL1	Exp DL2	Exp DL3
5	71.2	74.7	71.1	2.3	1.6	0.9
15	83.9	84.1	84.9	4.2	4.8	2.3
30	92.4	90.8	93.7	6.3	6.9	4.4
60	100.6	98.8	101.8	11.1	11.8	8.9
90	101.8	101.2	104.2	15.5	16.1	13.6
105	102.9	101.3	103.4	17.5	18.5	15.3
120	101.8	101.2	104.7	18.9	20.1	17.5

En la figura 32 se presentan los perfiles de disolución obtenidos a partir de los datos presentados en el cuadro 25.



**Figura 32**

**Comparación de tres diferentes lotes de la suspensión experimental por el método de diálisis y el método directo**

Al evaluar la suspensión experimental se observó consistencia dentro de los lotes y entre ambos métodos. De las tres suspensiones evaluadas la suspensión experimental fue la que presentó una disolución del 100%.

En las figuras 33 y 34 se ilustra la comparación entre los tres fabricantes para cada método empleado.

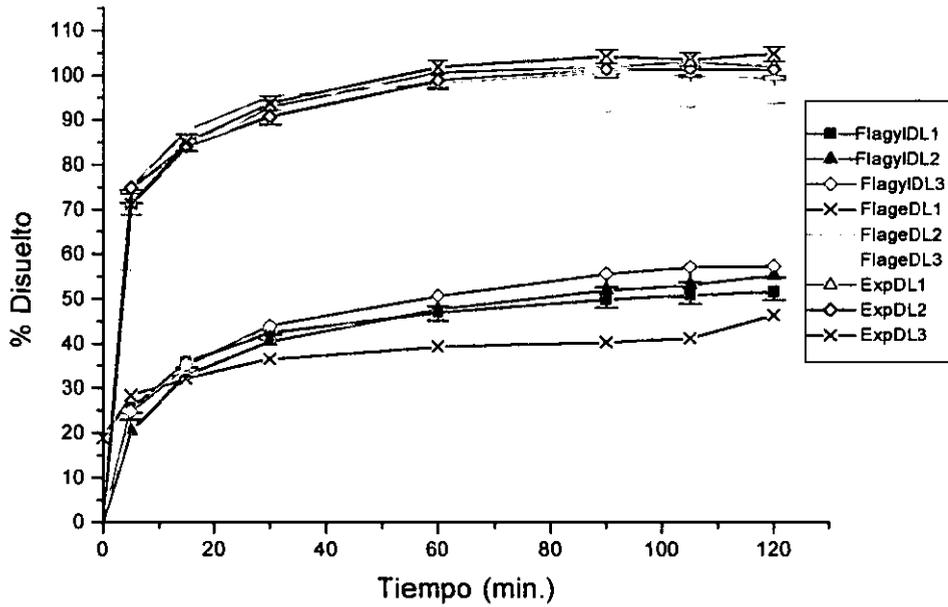


Figura 33

Comparación de tres lotes diferentes de Flagyl®, Flagenase® y Suspensión experimental por el método directo

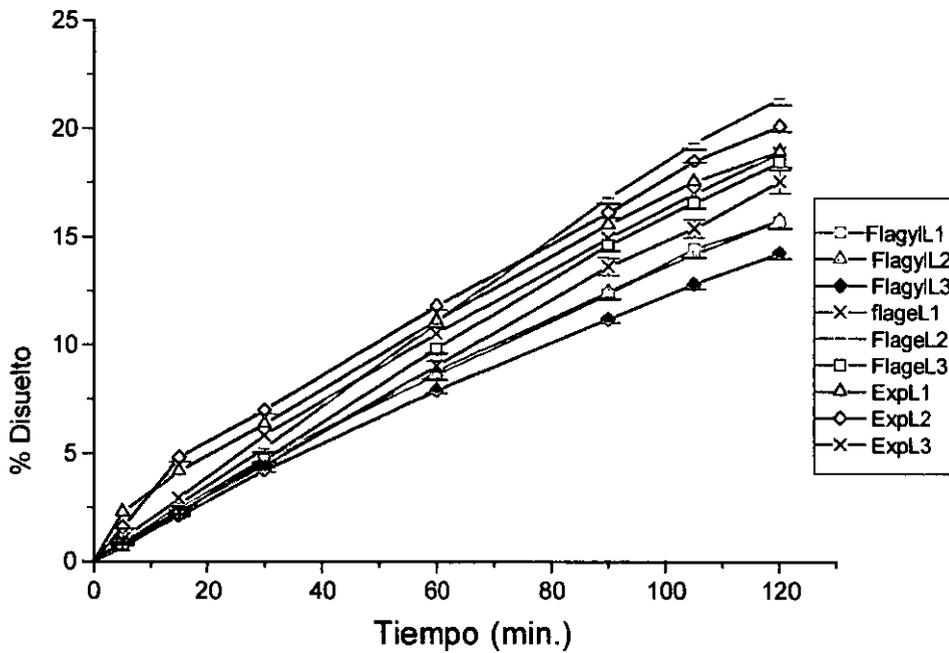


Figura 34

Comparación de tres lotes diferentes de Flagyl®, Flagenase® y Suspensión experimental por el método de diálisis

A partir de los datos experimentales presentados en los cuadros 23, 24 y 25 se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA). Dicho análisis se llevó a cabo en el paquete de análisis estadístico Statistica 99 edition, by statsoft Inc.

En el cuadro 26 se presentan los resultados resumidos para evaluar la significancia de los factores fabricante y lote por ambos métodos propuestos (directo y por diálisis). Para obtener más detalles acerca de los datos obtenidos a partir del software Statistica revisar el Apéndice III.

**Cuadro 26**

**Resumen de MANOVA de la comparación entre tres lotes de tres distintos fabricantes (Flagyl® Flagenase® y suspensión experimental)**

Factor	Método directo	Método de diálisis
Fabricante	0.0000	0.3787
Lote	0.0000	0.0007

Los resultados se encuentran expresados en términos de probabilidad

$$H_0: \mu_i = 0$$

$$H_a: \mu_i \neq 0 \quad (F_{2,12, \alpha=0.05}).$$

En síntesis se puede decir que en las figuras 33 y 34 se observa que la suspensión experimental es la que presenta una mayor velocidad de disolución, posteriormente Flagenase® a excepción del lote 1, el cual presentó una disolución del principio activo del 41%. Flagyl® fue la marca que menor por ciento de disolución exhibió.

Estadísticamente empleando el método directo se observa diferencia significativa entre lotes y entre fabricantes. Empleando el método de diálisis se observó diferencia significativa entre lotes pero no entre fabricantes.

Al comparar el método de diálisis con el método directo, en el método de diálisis, la disolución ocurre en una pequeña cantidad de volumen de líquido y una vez disuelto el fármaco atraviesa la membrana, mientras que en el método directo la disolución ocurre en un gran volumen.

## **6.9 Estudio del efecto de variables de la formulación y proceso de fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución.**

### **6.9.1 Diseño de experimentos**

Con la finalidad de conocer el efecto de algunas variables de la formulación (tamaño de partícula del principio activo, tipo de agente

viscosante y viscosidad de la suspensión fabricada) y variables del proceso de fabricación (velocidad de agitación en la fabricación de la suspensión) sobre la velocidad de disolución empleando la metodología de disolución directa, se llevó a cabo un diseño de experimentos factorial  $2^4$  (dos niveles y cuatro factores), lo cual implica la realización de 16 experimentos.

A continuación se presentan, en el cuadro 27, los resultados experimentales obtenidos a partir de haber realizado el perfil de disolución de las 16 suspensiones.

**Cuadro 27**

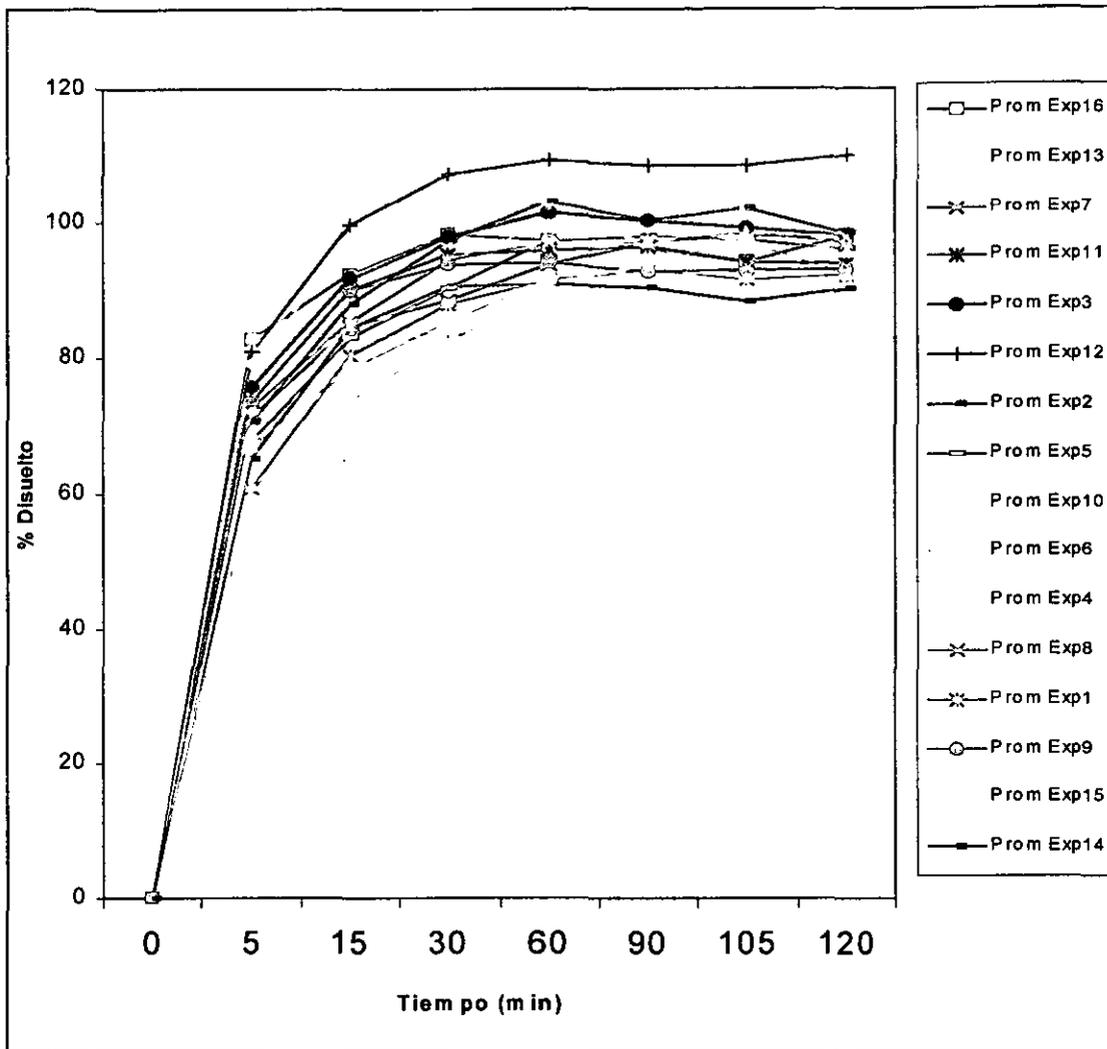
**Datos experimentales del % disuelto de las 16 suspensiones para evaluar el efecto de varios parámetros de la suspensión sobre la velocidad de disolución.**

Tiempo (min)	Exp1	Exp2	Exp3	Exp4	Exp5	Exp6	Exp7	Exp8
5	60.8 ± 3.6	65.1 ± 1.6	75.8 ± 3.4	69.4 ± 1.2	67.8 ± 4.1	66.9 ± 1.3	71.2 ± 2.8	72.6 ± 2.0
15	80.5 ± 5.1	84.4 ± 2.9	92.0 ± 2.8	85.2 ± 0.7	82.9 ± 2.8	78.3 ± 1.9	84.9 ± 1.7	85.4 ± 1.6
30	88.0 ± 4.0	90.8 ± 1.4	97.9 ± 2.9	94.5 ± 1.6	90.3 ± 3.3	85.3 ± 1.0	88.7 ± 1.8	94.4 ± 1.3
60	91.5 ± 4.4	91.0 ± 1.2	101.5 ± 4.2	99.6 ± 2.2	97.4 ± 3.8	91.4 ± 1.6	93.9 ± 1.8	97.1 ± 0.6
90	92.9 ± 5.6	90.4 ± 1.5	100.4 ± 4.2	97.3 ± 2.0	98.0 ± 4.3	94.1 ± 1.4	97.1 ± 1.8	97.2 ± 1.3
105	91.5 ± 5.0	88.4 ± 0.7	99.3 ± 3.2	98.5 ± 2.6	97.3 ± 3.6	97.1 ± 1.0	98.4 ± 2.8	97.9 ± 1.3
120	92.1 ± 5.1	90.1 ± 1.6	98.1 ± 3.7	95.6 ± 3.4	95.9 ± 3.8	92.2 ± 1.0	97.2 ± 2.8	97.6 ± 1.0

Tiempo (min)	Exp9	Exp10	Exp11	Exp12	Exp13	Exp14	Exp15	Exp16
5	73.7 ± 6.8	79.2 ± 2.8	73.7 ± 2.9	80.8 ± 1.2	81.8 ± 1.6	70.8 ± 2.5	60.8 ± 2.8	82.6 ± 2.0
15	90.2 ± 5.8	96.9 ± 6.0	90.2 ± 3.6	99.9 ± 1.9	95.1 ± 3.6	88.1 ± 2.6	73.6 ± 2.9	92.3 ± 1.9
30	93.8 ± 6.9	101.5 ± 2.7	95.4 ± 4.5	107.4 ± 3.3	97.7 ± 2.4	97.4 ± 3.9	82.8 ± 2.9	98.2 ± 2.6
60	94.3 ± 5.9	103.1 ± 2.2	96.0 ± 4.1	109.5 ± 3.7	96.8 ± 1.4	103.2 ± 2.3	88.9 ± 3.0	97.4 ± 1.5
90	92.9 ± 7.1	104.2 ± 1.2	96.6 ± 4.1	108.5 ± 3.1	96.2 ± 1.6	100.4 ± 3.2	89.0 ± 4.1	96.3 ± 1.1
105	92.9 ± 5.8	102.2 ± 1.5	94.3 ± 4.3	108.7 ± 3.5	92.2 ± 3.2	102.1 ± 3.8	83.7 ± 4.0	94.1 ± 1.5
120	92.9 ± 5.0	102.2 ± 1.5	93.8 ± 4.2	110.1 ± 2.3	94.8 ± 1.9	98.2 ± 4.2	84.3 ± 4.3	97.9 ± 2.0

Cada valor representa el promedio del % disuelto ± desviación estándar.

A partir de los datos presentados en el cuadro 27 se trazó el perfil de disolución para las 16 suspensiones, el cual se presenta en la figura 35.



**Figura 35**  
**Efecto de factores de la formulación y proceso de fabricación de suspensiones sobre la velocidad de disolución**

A partir de los resultados presentados en el cuadro 27, se calcularon las siguientes variables de respuesta calculadas: TMD, ED%, t90, tamaño de partícula y la pendiente de la curva de disolución. La manera calcular el TMD, ED% y la pendiente de la curva de disolución se explica en el Apéndice I. En el cuadro 28 se presentan los resultados obtenidos.

**Cuadro 28**

Variables de respuesta TMD, %ED, t<sub>90</sub>, tamaño de partícula y pendiente de la curva de disolución calculados a partir del cuadro 27

Exp.	TMD (min)	ED (%)	t <sub>90</sub> (min)	Tam. de partícula (µm)	Pendiente
Exp. 1	12.5	84.2	26	10.8	41.608
Exp. 2	8.5	85.3	30	8.7	39.257
Exp. 3	9.1	94.1	14	7.6	42.794
Exp. 4	9.9	90.7	22	5.2	43.128
Exp. 5	12.9	88.5	30	6.9	43.269
Exp. 6	14.0	83.9	45	8.5	41.773
Exp. 7	13.1	87.4	30	6.6	42.548
Exp. 8	10.2	90.0	21	5.8	42.621
Exp. 9	6.7	89.0	15	7.4	39.38
Exp. 10	9.5	97.1	12	7.8	43.984
Exp. 11	8.9	90.6	15	5.8	40.476
Exp. 12	8.8	102.0	10	5.7	47.595
Exp. 13	6.0	92.7	10	5.9	38.579
Exp. 14	9.8	93.6	15	5.6	42.794
Exp. 15	12.9	80.5	50	6.3	38.134
Exp. 16	6.1	92.7	5	5.9	39.695

Se realizó un análisis estadístico empleando el paquete de análisis estadístico Statistica 99 edition, by statsoft Inc. Se estimó para cada variable de respuesta (TMD, ED%, t<sub>90</sub>, tamaño de partícula y pendiente de la curva de disolución) el efecto que posee cada factor, el coeficiente de regresión para cada factor y mediante un análisis de varianza se conoció la probabilidad de la significancia de los factores principales y sus interacciones. Los resultados se presentan en el cuadro 29, 30, 31, 32 y 33. Para obtener más detalles acerca del análisis estadístico para cada variable de respuesta consultar el Apéndice IV.

**Cuadro 29**

Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta TMD

Factor	Efecto (Intervalo de confianza, t <sub>5,α=0.05</sub> )	Coefficiente de regresión (Intervalo de confianza, t <sub>5,α=0.05</sub> )	Probabilidad (F <sub>5,15,α=0.05</sub> )
Media	9.9312 (8.2677-11.5997)	9.9312 (8.2677-11.5997)	0.0000
A: Caboxi	-0.6625 (-3.9994-2.6744)	-0.3312 (-1.99-1.3373)	0.6315
B: Acacia	-0.1125 (-3.4494-3.2244)	-0.0562 (-1.7247-1.6122)	0.9343
C: Tam. Part.	1.3875 (-1.9494-4.7244)	0.6937 (-0.9747-2.3622)	0.3340
D: Velocidad	-2.6865 (-6.0244-0.6494)	-1.3437 (-3.0122-0.3247)	0.0932
AB	-1.5875 (-4.9244-1.7494)	-0.7937 (-2.4622-0.8747)	0.2758
AC	-0.5375 (-3.8744-2.7994)	-0.2687 (-1.9372-1.3997)	0.6959
AD	0.5875 (-2.7494-3.9246)	0.2937 (-1.3747-1.9622)	0.6698
BC	0.0125 (-3.3246-3.3494)	0.0062 (-1.6623-1.6747)	0.9926
BD	1.2875 (-2.0494-4.6244)	0.6437 (-1.0247-2.3122)	0.3668
CD	-1.1625 (-4.4994-2.1744)	-0.5812 (-2.2497-1.0872)	0.4115

Del cuadro 29 se desprende que el factor que posee un mayor efecto sobre el TMD es la velocidad y el factor de menos importancia fue la acacia. Ningún factor resultó ser estadísticamente significativo, al observarse valores de probabilidad mayores de 0.05 para todos los casos.

**Cuadro 30**  
Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta ED%

Factor	Efecto (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Coefficiente de regresión (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Probabilidad ( $F_{5,15,\alpha=0.05}$ )
Media	90.1437 (88.2773-92.0101)	90.1437 (88.2763-92.0101)	0.0000
A:Carboxi	3.5375 (-0.1953-7.2703)	1.7687 (-0.0976-3.6351)	0.5893
B:Acacia	1.7125 (-2.0203-5.4453)	0.8562 (-1.0101-2.7226)	0.2913
C:Tam.Part.	-2.9625 (-6.6953-0.7703)	-1.4812 (-3.3476-0.3851)	0.0968
D:Velocidad	4.2625 (0.5297-7.9953)	2.1312 (0.2648-3.9976)	0.3243
AB	2.1625 (-1.5703-5.8953)	1.0812 (-0.7851-2.9476)	0.1966
AC	-0.7625 (-4.4953-2.9703)	-0.3812 (-2.2476-1.4851)	0.6219
AD	4.6125 (0.8797-8.3453)	2.3062 (0.4398-4.1726)	0.0246
BC	-3.7375 (-7.4703-0.0047)	-1.8687 (-3.7351--0.0023)	0.0498
BD	-3.3625 (-7.0953-0.3703)	-1.6812 (-3.5476-0.1851)	0.0684
CD	-1.8375 (-5.5703-1.8953)	-0.9187 (-2.7851-0.9476)	0.2614

Del cuadro 30 se desprende que los factores que tienen un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la ED% fueron la velocidad y la interacción carboximetilcelulosa\*velocidad. El factor que menos influyó fue la acacia. Así mismo se obtuvo un valor de  $R^2$  de 0.9024, o que indica una buena aproximación si se deseara obtener un modelo predictivo.

**Cuadro 31**  
Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta t90

Factor	Efecto (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Coefficiente de regresión (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Probabilidad ( $F_{5,15,\alpha=0.05}$ )
Media	21.8750 (14.9939-28.7561)	21.8750 (14.9939-28.7561)	0.0000
A:Carboxi	-3.7500 (-17.5122-10.0122)	-1.8750 (-8.7561-5.0061)	0.5148
B:Acacia	-2.0000 (-15.7622-11.7622)	-1.0000 (-7.8811-5.8811)	0.7240
C:Tam.Part.	7.7500 (-6.0122-21.5122)	3.8750 (-3.0061-10.7561)	0.2073
D:Velocidad	-10.7500 (-24.5122-3.0122)	-5.3750 (-12.2561-1.5061)	0.1009
AB	-9.0000 (-22.7622-4.7622)	-4.5000 (-11.3811-2.3811)	0.1535
AC	-4.7500 (-18.5122-9.0122)	-2.3750 (-9.2561-4.5061)	0.4155
AD	-8.2500 (-22.0122-5.5122)	-4.1250 (-11.0061-2.7561)	0.1839
BC	3.5000 (-10.2622-17.2622)	1.7500 (-5.1311-8.6311)	0.5421
BD	9.0000 (-4.7622-22.7622)	4.5000 (-2.3811-11.3811)	0.1535
CD	-0.7500 (-14.5122-13.0122)	-0.3750 (-7.2561-6.5061)	0.8940

Del cuadro 31 se desprende que ningún efecto resultó ser significativo por lo que el t90 sería una variable de respuesta inadecuada para explicar el comportamiento de los factores estudiados. Esto se deriva posiblemente a que el t90 como su nombre lo indica solo considera un punto a lo largo de la curva de disolución, lo cual no proporciona la suficiente información acerca del perfil.

**Cuadro 32**  
Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta tamaño de partícula

Factor	Efecto (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Coefficiente de regresión (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Probabilidad ( $F_{5,15,\alpha=0.05}$ )
Media	6.9062 (6.3795-7.4329)	6.9062 (6.3795-7.4329)	0.0000
A: Caboxi	-0.5125 (-1.5658-0.5408)	-0.2562 (-0.7829-0.2704)	0.2663
B: Acacia	-1.5875 (-2.6408-0.5341)	-0.7937 (-1.3204-0.2670)	0.0117
C: Tam. Part.	-0.9375 (-1.9908-0.1158)	-0.4687 (-0.9954-0.0579)	0.0708
D: Velocidad	-1.2125 (-2.2658-0.1591)	-0.6062 (-1.1329-0.0795)	0.0315
AB	-0.4125 (-1.4658-0.6408)	-0.2062 (-0.7329-0.3204)	0.3602
AC	0.5375 (-0.5158-1.5908)	0.2687 (-0.2579-0.7954)	0.2466
AD	0.4125 (-0.6408-1.4658)	0.2062 (-0.3204-0.7329)	0.3602
BC	1.0125 (-0.0408-2.0658)	0.5062 (-0.0204-1.0329)	0.0564
BD	0.8375 (-0.2158-1.8908)	0.4187 (-0.1079-0.9454)	0.0963
CD	0.1875 (-0.8658-1.2408)	0.0937 (-0.4329-0.6204)	0.6664

Del cuadro 32 se desprende que los factores significativos sobre el tamaño de partícula fueron la acacia y la velocidad. El valor de  $r^2$  fue de 0.8996, por lo que se podría emplear este modelo con fines de predicción y explicación.

**Cuadro 33**  
Resumen del análisis estadístico para la variable de respuesta pendiente de la curva de disolución

Factor	Efecto (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Coefficiente de regresión (Intervalo de confianza, $t_{5,\alpha=0.05}$ )	Probabilidad ( $F_{5,15,\alpha=0.05}$ )
Media	41.7291 (40.9141-42.5442)	41.7291 (40.9141-42.5442)	0.0000
A: Caboxi	1.7523 (0.1222-3.3824)	0.8761 (0.0611-1.6912)	0.0396
B: Acacia	0.7983 (-0.8317-2.4284)	0.3991 (-0.4158-1.2142)	0.2636
C: Tam. Part.	-1.0961 (-2.7262-0.5339)	-0.5480 (-1.3631-0.2669)	0.1444
D: Velocidad	-0.8001 (-2.4302-0.8299)	-0.4000 (-1.2151-0.4149)	0.2626
AB	0.5103 (-1.1197-2.1404)	0.2551 (-0.5598-1.0702)	0.4574
AC	-0.6731 (-2.3032-0.9569)	-0.3365 (-1.1516-0.4784)	0.3370
AD	2.6213 (0.9912-4.2514)	1.3106 (0.4956-2.1257)	0.0090
BC	-1.6436 (-3.2737--0.0135)	-0.8218 (-1.6368--0.0067)	0.0487
BD	-0.5066 (-2.1367-1.1234)	-0.2533 (-1.0683-0.5617)	0.4605
CD	-1.9611 (-3.5912-0.3310)	-0.9805 (-1.7956--0.1655)	0.0270

Del cuadro 33 se desprende que los factores estadísticamente significativos fueron la carboximetilcelulosa, las interacciones carboximetilcelulosa\*velocidad, acacia\*tamaño de partícula, tamaño de partícula\*velocidad. De nueva cuenta en este análisis como en el de la variable de respuesta ED% se puede detectar la influencia que se presenta entre el agente viscosante y la velocidad de agitación de la suspensión durante la fabricación de la misma.

El efecto de la velocidad de agitación de la suspensión, durante la fabricación, refleja que la viscosidad puede ser una variable que tiene una influencia importante sobre la velocidad de disolución, ya que se sabe que las suspensiones estudiadas presentan características reológicas de fluido pseudoplástico, que significa que a mayor velocidad de cizalla disminuye la viscosidad.

También para la variable de respuesta ED% se observó que los factores carboximetilcelulosa y la interacción velocidad\*carboximetilcelulosa es estadísticamente significativo por lo que se podría decir que una disminución en la viscosidad de la suspensión aumentaría la velocidad de disolución.

Se obtuvo un valor de  $r^2=0.9084$  por lo que este modelo puede ser empleado con fines predictivos y explicativos. Esta variable de respuesta es la que mejor representa el comportamiento de los factores estudiados.

En el apéndice V se ilustra el comportamiento de Flagyl® y la suspensión experimental como fluido pseudoplástico.

En síntesis las variables de respuesta que describen mejor el comportamiento de los factores son la ED%, el tamaño de partícula y la pendiente de la curva de disolución. Los factores que exhibieron un mayor efecto sobre las variables de respuesta estudiadas son la velocidad, la carboximetilcelulosa, la interacción velocidad\*carboximetilcelulosa, la acacia, y la interacción tamaño de partícula\*velocidad. El factor que menor efecto implicó en las variables de respuesta fue la acacia.

## 7 CONCLUSIONES

Se logró desarrollar y validar un método analítico para cuantificar benzoilmetronidazol en el medio de disolución, siendo específico, lineal, repetible y reproducible en el intervalo de trabajo. Este método fue rápido y económico.

Se fabricó una suspensión con buenas características de disolución, al observar una liberación de al menos el 90%.

El procedimiento más adecuado para realizar la diálisis de la suspensión fue utilizando paletas.

El factor que tiene la mayor influencia sobre la velocidad de diálisis del benzoilmetronidazol es el tamaño de la bolsa de diálisis. La disolución ocurre en una pequeña cantidad de volumen de líquido y una vez disuelto el fármaco atraviesa la membrana, mientras que en el método directo la disolución ocurre en un gran volumen de disolvente, por lo que el efecto del agente viscosante es probable que se vea disminuido cuando se compara su efecto con una situación *in vivo*.

Las determinaciones fisicoquímicas realizadas a las suspensiones evaluadas resultaron estar dentro de especificaciones, sin embargo no fueron suficientes para emitir un dictamen en cuanto a la calidad de las suspensiones ya que se observaron diferencias en cuanto a la velocidad de disolución entre lotes y formulaciones. Estas diferencias se debieron a interacción de los excipientes con el medio de disolución. Lo anterior se observó con los tres lotes de Flagyl® y con uno de Flagenase® y no se observó con la suspensión experimental.

La suspensión que tiene una velocidad de disolución mayor es Flagenase lote 2, seguida de la suspensión experimental y por último es Flagyl®. De lo anterior se concluye que las determinaciones farmacopeicas para suspensiones no son concluyentes en cuanto a la calidad de las suspensiones por lo que se debe complementar con la prueba de disolución.

Solo el método directo fue capaz de discernir entre diferentes lotes y diferentes fabricantes por lo que resultó ser el más adecuado para realizar el perfil de disolución de suspensiones de benzoilmetronidazol.

Se sugiere realizar un estudio *in-vivo/in-vitro* para confirmar si este método de disolución permite evaluar las diferencias de biodisponibilidad *in-vivo*.

En cuanto al estudio del efecto de variables de la formulación y proceso de fabricación de la suspensión sobre la velocidad de disolución las variables de respuesta que describen mejor el comportamiento de los factores son la ED%, el tamaño de partícula y

la pendiente de la curva de disolución. Los factores que exhibieron un mayor efecto sobre las variables de respuesta estudiadas son la velocidad, la carboximetilcelulosa, la interacción velocidad\* carboximetilcelulosa, la acacia, y la interacción tamaño de partícula\*velocidad. El factor que menor efecto implicó en las variables de respuesta fue la acacia.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

1. Abdou Hamed, Dissolution, bioavailability and bioequivalence, Mack Publishing Co, pp. 173-189, USA, 1989.
2. Banakar, Test dissolution, Edit. Marcel Dekker INC, 1991, pp. 285-289.
3. Barzegar-Jalali M. and Richards J., The effect of suspending agents on the release of aspirin from aqueous suspensions *in vitro*, Int J Pharm. 1979, 2: 195-201.
4. Barzegar-Jalali M. and Richards J., Kinetics of drug dissolution and dialysis from suspensions dosage form, Int. J. Pharm . 1979, 4, 171-174.
5. Bates, T. R., Young J. M., Wu C. and Rosenberg H. A. pH-dependence dissolutions rate of nitrofurantoin from comercial suspensions, tablets and capsules., J. Pharm Sci., 1974, 63(4), 643-645.
6. Bates, T. R., Lambert D. and Johns W., Correlation between the rate of dissolution and absorption of salicylamide from tablets and suspensions dosage forms, J Pharm Sci., 1969, 58(Dec), 1468-1470.
7. Cárdenas R.H., Cortés A.A., Argotte R.R., Luna M.P. and Domínguez R.A., Investigation of dissolution profiles from suspensions containing benzoilmetronidazole using a statistical model with repeated measurements., Drg Dev. Ind Pharm. 1994, 20(6), 1063-1073.
8. Chen J. and Tsong Y., Multiple-time-point dissolution specifications for a sampling acceptance plan, J Biopharm Stat., 1997, 7(2), 259-270.
9. Chow S., and Ki F. Y., Statistical comparison between dissolution profiles of drug products, J Biopharm Stat., 1997, 7(2), 241-258.
10. Cid Cárcamo E., Cinética de disolución de medicamentos, Secretaría General de los Estados Americanos, Chile, 1981, pp. 1-5.
11. Davis R., Hartman C. and Fincher J., Dialysis of ephedrine and pentobarbital from whole human saliva and simulated saliva, J Pharm Sci, 1971, 60, 429-431.
12. Ezzedeen F. W., Majeed S., Shihab F., Mahmoud M., Robinson Y., Tahseen Y., and Stohs S., *In vitro* and *in vivo* evaluation of four cotrimoxazole oral suspensions, Int J Pharm., 1993, 10(11), 1627-1631.
13. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 7<sup>a</sup> ed. (2000) Tomo II, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, pp. 1462-1463.
14. Goodman & Gilman, The Pharmacological basis of therapeutic, 8 ed., Edit. Pergamon Press, 1990, pp1058-1060.

15. Hintz, R. J., and Johnson K., The effect of particle size distribution on dissolution rate and oral absorption. *Int J. of Pharm* 1990, 51: 9-17
16. Jung Cook H. Tesis: Aspectos biofarmacéuticos del albendazol, UNAM, 1999.
17. Khan K.A. et al The concept of dissolution efficiency. *J Pharm. Pharmac.* 1975 27: 48-49.
18. Levy M. Y. and Benita, S, Drug release from submicronized o/w emulsion: a new *in vitro* kinetic evaluation model, *Int J Pharm.*, 1990, 66, 29-37.
19. Marcoulides G., Hershberger S., *Multivariate statistical methods: a first course*, Lawrence Erlbaum Associates Publishers, pp 39-55, Mahwah, New Jersey, 1997.
20. Mathur L., Colaizzi J., Jaffe J., Poust R. And Shah V., *In vivo-in vitro* correlations for trisulfapyrimidine suspensions, *J Pharm Sci.*, 1983, 72(9), 1071-1072.
21. Marty J and Hersey J., Apparatus for measuring *in vitro* availability of liquid oral preparations, *J Pharm Pharmac.*, 1975, 27, 437-438.
22. Mauger, W.J., Chilko D. and Howard S., On the analysis of dissolution data. *Drug Dev Ind. Pharm* 1986, 12(7): 969-992.
23. Mauger J. And Howard S., Model systems for dissolution of finely divided (multisized) drug powders., *J Pharm Sci.*, 1976, 65(7), 1042-1045.
24. Moore J. and Flanner H., Mathematical comparison of dissolution profiles, *Pharm Tech.* 1996 june: 64-74.
25. Naggar, V., Boraie N. and Shams-Eldeen M. A., *In vitro* of promethazine-HCl in the presence of some commercial antacids, *Int J Pharm.*, 1986, 28, 239-247.
26. The Pharmaceutical Codex, 11<sup>a</sup> ed. Edit. The Pharmaceutical Press, 1979, pp. 567.
27. Qiu Y., Guillory K. and Schoenwald R., Formulation, *In vitro* dissolution, and ocular bioavailability of high and low melting phenylephrine oxazolines, 1993, *Pharm Res*, 10(11), 1627-1631.
28. Shah A., Peot C. and Ochs J., Design and evaluation of a rotating filter-stationary basket *in vitro* dissolution test apparatus I: fixed fluid volume system, *J Pharm Sci.*, 1973 62(4), pp. 671-677.
29. Shah, N. and Sheth B., Effect of polymers on dissolution from drug suspensions, *J Pharm Sci.*, 1976, 65(11), 1619-1623.
30. Shiu, G, Wang J., Worsley W. and El-Arini S., A Modified Bio-Dis apparatus for dissolution of oral suspensions, *Pharm Res.*, 1993, 10(10), S36.
31. Sjöqvist, R., Graffner C., Ekman I., Sinclair W. and Woods J., *In vivo* validation of the release rate and palatability of remoxipride-modified release suspension, *Pharm Res.*, 1993, 10(7), 1020-1026.
32. Skoug J, et al., Strategy for the development and validation of dissolution tests for solid oral dosage forms, *Pharm Tech.*, 1996, may, 58-72.

33. Strum, J. D., Colaizzi J., Goehl T., Jaffe J M., Pitlick W., Shah V. and Poust R., Bioavailability of sulfonamide suspensions I: Dissolution profiles of sulfamethizole using paddle method. J. Pharm Sci 1978, 67(10): 1399-1402.
34. United States Pharmacopeia XXIV, The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD, pp. 1104-1105.

## CÁLCULOS

### a) Tiempo medio de disolución.

El TMD es el tiempo que tardó en disolverse el 63.2% del fármaco, cuando se disolvió como mínimo el 80 % del fármaco.

$$TMD = \frac{t \sum_{i=1}^n A_{dis}}{A_{dis\infty}} \quad \text{Ecuación 14}$$

T = tiempo

$A_{dis}$  = Cantidad disuelta al tiempo t.

$A_{dis\infty}$  = Cantidad disuelta al tiempo infinito

### b) Eficiencia de la disolución

$$ED\% = 100 * \frac{ydt}{y_{100t}} \quad \text{Ecuación 15}$$

y = Área bajo la curva del perfil de disolución.

$y_{100}$  = Es el área de un rectángulo descrito por el 100% disuelto y el tiempo.

Para calcular el área bajo la curva se empleó el método de los trapecios:

$$ABC_{m-1}^m = \frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1}) \quad \text{Ecuación 16}$$

### c) Interferencia del filtro

$$\% \text{Incremento} = \frac{C_{SF} - C_F}{C_F} * 100 \quad \text{Ecuación 17}$$

$C_{SF}$  = Concentración determinada sin filtro

$C_F$  = Concentración determinada con filtro

### d) Ajuste logarítmico de las curvas de disolución

Se calculó el número mínimo de cuadrados mediante puntos utilizando la siguiente ecuación.

$$Y = c \ln x + b \quad \text{Ecuación 18}$$

c y b = constantes

ln = función logarítmica natural (neperiana).

**ELECCIÓN DEL MEJOR MODELO (VARIABLE DE RESPUESTA %DIS. A LOS 120 MIN)**

**Estudio del efecto de la posición de la membrana de diálisis, tamaño y velocidad de agitación sobre la velocidad de diálisis.**

**Modelo 1**

OBSERVATIONS (N=24): all  
 ANALYSIS: Multiple regression and ANOVA  
 RESPONSE: % DIS 120 MIN  
 FACTORS: VELOCIDAD TAMAÑO POSICIÓN  
 CLASES: POSICIÓN  
 Model: VELOCIDAD, TAMAÑO, POSICIÓN, VELOCIDAD\*TAMAÑO, VELOCIDAD\*POSICIÓN, TAMAÑO\*POSICIÓN, VELOCIDAD\*TAMAÑO\*POSICIÓN.  
 USER-EXCLUDED OBSERVATIONS: none

ASSUMPTIONS VIOLATED:  
 Constant variance  
 Influential observations

INTERPRETATION:  
 There is strong statistical evidence that the explanatory variables in the model are related to the expected value of % DIS 120 MIN. However, some of the assumptions underlying the analysis are violated. Please explore the assumptions in detail.

Overall Findings

This analysis is used to detect whether the expected value of % DIS 120 MIN is related to the terms in the given model. 88.4% of the observed variation in % DIS 120 MIN is attributable to variation among predictions based on the fitted model. Assuming that there is no relation between % DIS 120 MIN and the explanatory variables in the model, there is a less than 1% chance of a proportion at least as large as this. This constitutes strong statistical evidence that the expected value of %DIS 120 MIN is related to the terms in the given model. However, some of the assumptions underlying the analysis are violated. Please explore the assumptions in detail.

Potential influential observations: Abs(Dffits) > 2

Observation number	DIS120MIN	VELOCIDAD	TAMAÑO	Standard influence on predicted value	Leverage
14	20.57	1	1	-2.07404	0.33333

Influential Observations

One observation qualifies as influential by exceeding a DFFITS statistic value of +/- 2. The results of the analysis may depend too much upon this observation.

Regression Diagnostics Table

Obs. number	Observed response	Predicted response	Residual response	Dffits	Poutlier
1	17.34	16.2467	1.09333	0.79538	1.00000
2	18.35	17.8400	0.51000	0.35935	1.00000
3	17.15	16.9367	0.21333	0.14926	1.00000
4	18.00	18.2033	-0.20333	-0.14224	1.00000
5	21.91	23.3267	-1.41667	-1.06144	1.00000
6	24.76	22.9367	1.82333	1.43894	1.00000
7	20.74	21.0533	-0.31333	-0.21960	1.00000
8	24.19	22.5900	1.60000	1.22442	1.00000
9	14.99	16.2467	-1.25667	-0.92684	1.00000
10	18.30	17.8400	0.46000	0.32360	1.00000
11	16.74	16.9367	-0.19667	-0.13757	1.00000
12	17.53	18.2033	-0.67333	-0.47750	1.00000
13	23.67	23.3267	0.34333	0.24078	1.00000
14	20.57	22.9367	-2.36667	-2.07404	0.24671
15	21.88	21.0533	0.82667	0.59081	1.00000
16	22.02	22.5900	-0.57000	-0.40249	1.00000
17	16.41	16.2467	0.16333	0.11421	1.00000
18	16.87	17.8400	-0.97000	-0.69941	1.00000
19	16.92	16.9367	-0.01667	-0.01164	1.00000
20	19.08	18.2033	0.87667	0.62837	1.00000
21	24.40	23.3267	1.07333	0.77964	1.00000
22	23.48	22.9367	0.54333	0.38328	1.00000
23	20.54	21.0533	-0.51333	-0.36174	1.00000
24	21.56	22.5900	-1.03000	-0.74578	1.00000

Test of Constant Variance

Source	Chi-square	Df	Prob
PREDICT	3.91847	1	0.047758

Test of Constant Variance

Variability of the residuals may depend on the predicted response values, or on one or more of the factors. SAS/LAB checks if residual variability depends on the predicted response values as an overall test of the constant variance assumption. In this instance the constant variance assumption is rejected.

Constant Variance Assumption

The efficiency of regression analysis depends on the assumption that % DIS 120 MIN variation is the same for all observations. This assumption is checked by testing the significance of the linear relationship between the squared residuals from the analysis and the predicted %DIS 120 MIN values. In this instance 18.2% of the variation in the squared residuals is associated with variation in the predicted % DIS 120 MIN values. This constitutes statistical evidence that %DIS 120 MIN variation is not the same for all observations. A transformation of % DIS 120 MIN might be useful in reducing non-constant variance.

Del análisis anterior se obtiene que existe evidencia de que el modelo 1 describe una relación entre el %dis a los 120 min y la absorbancia, sin embargo se han violado dos supuestos, la varianza es igual y existen observaciones aberrantes.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

R-square 0.8844      Root MSE 1.2003  
 Adj R-square 0.8338      C.V. 6.034

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	7	176.3	25.19	17.49	0.0000
Error	16	23.05	1.441		
Total	23	199.4			

Overall Fit

The overall model is significant.

De la tabla anterior se desprende que el modelo propuesto es significativo al haber obtenido un valor de probabilidad menor a 0.05.

Analysis of Variance: ANOVA Table  
 Type III Sum of Squares

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
TAMAÑO	1	160.4	160.4	111.3	0.0000
VELOCIDAD	1	6.020	6.020	4.179	0.0578
TAMAÑO*POSICIÓN	1	5.060	5.060	3.512	0.0793
VELOCIDAD*TAMAÑO*POSICIÓN	1	1.904	1.904	1.322	0.2672
VELOCIDAD*TAMAÑO	1	1.101	1.101	0.764	0.3950
VELOCIDAD*POSICIÓN	1	0.960	0.960	0.666	0.4263
POSICIÓN	1	0.920	0.920	0.639	0.4358

Analysis of Variance

This analysis is used to detect which model effects have an effect on the expected value of % DIS 120 MIN that is significantly greater than the background level of noise. In this case, the use of type III sums of squares indicates that the following model effects have a significant effect on the expected value of % DIS 120 MIN: TAMAÑO. Type I sums of square are appropriate for polynomial regression, i.e., all model terms are sequential powers of one predictor variable. In other cases type III sums of squares are preferred.

Del análisis de varianza se obtiene que los factores que tienen una mayor influencia sobre la variable de respuesta son en primer lugar el tamaño de la bolsa, la velocidad, la interacción entre los factores tamaño\* posición, velocidad\*tamaño y velocidad\*posición. Para encontrar el modelo más adecuado se debe de simplificar este modelo tomando únicamente en consideración aquellos factores y/o interacciones que posean la mayor influencia. Es decir eliminado la interacción de tercer grado y el factor principal posición.

Parameter Estimates

Term	DF	Estimate	Std. Err.	T	Pr >  T
INTERCEPT	1	20.09	0.346	57.97	0.0000
VELOCIDAD	1	0.301	0.346	0.868	0.3981
TAMAÑO	1	3.044	0.346	8.786	0.0000
(POSICIÓN='1')	1	-0.392	0.490	-0.799	0.4358
(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.
VELOCIDAD*TAMAÑO	1	-0.496	0.346	-1.431	0.1717
VELOCIDAD*(POSICIÓN='1')	1	0.400	0.490	0.816	0.4263

Term	DF	Estimate	Std. Err.	T	Pr >  T
VELOCIDAD*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.
TAMAÑO*(POSICIÓN='1')	1	-0.918	0.490	-1.874	0.0793
TAMAÑO*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.
VELO*TAMAÑO*(POSICIÓN='1')	1	0.563	0.490	1.150	0.2672
VELO*TAMAÑO*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.

Parameter Estimates

The predicted model is % DIS 120 MIN = 20.09 + 0.301 \* VELOCIDAD + 3.044 \* TAMAÑO -0.392 \* (POSICIÓN='1') -0.496 \* VELOCIDAD \* TAMAÑO + 0.400 \* VELOCIDAD \* (POSICIÓN='1') -0.918 \* TAMAÑO \* (POSICIÓN='1') + 0.563\* VELOCIDAD \* TAMAÑO \* (POSICIÓN='1')

**Modelo 2**

OBSERVATIONS (N=24): all  
 ANALYSIS: Multiple regression and ANOVA  
 RESPONSE: % DIS 120 MIN  
 FACTORS: VELOCIDAD TAMAÑO POSICIÓN  
 CLASSES: POSICIÓN  
 Model: VELOCIDAD, TAMAÑO, VELOCIDAD\*TAMAÑO, VELOCIDAD\*POSICIÓN, TAMAÑO\*POSICIÓN  
 USER-EXCLUDED OBSERVATIONS: none  
 ASSUMPTIONS VIOLATED: none

INTERPRETATION:

There is strong statistical evidence that the explanatory variables in the model are related to the expected value of % DIS 120 MIN.

Overall Findings

This analysis is used to detect whether the expected value of % DIS 120 MIN is related to the terms in the given model. 87% of the observed variation in % DIS 120 MIN is attributable to variation among predictions based on the fitted model. Assuming that there is no relation between % DIS 120 MIN and the explanatory variables in the model, there is a less than 1% chance of a proportion at least as large as this. This constitutes strong statistical evidence that the expected value of % DIS 120 MIN is related to the terms in the given model.

Test of Constant Variance

Source	Chi-square	Df	Prob
_PREDICT	3.18087	1	0.074505

Test of Constant Variance

Variability of the residuals may depend on the predicted response values, or on one or more of the factors. SAS/LAB checks if residual variability depends on the predicted response values as an overall test of the constant variance assumption. In this instance the constant variance assumption is not rejected.

A partir de los análisis realizados hasta este momento se desprende que no se ha violado ningún supuesto, así mismo se encontró evidencia estadística de que existe una relación entre las variables.

R-square 0.8702 Root MSE 1.199  
 Adj R-square 0.8342 C.V. 6.0274

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	5	173.5	34.70	24.14	0.0000
Error	18	25.87	1.437		
Total	23	199.4			

Overall Fit

The overall model is significant.

De la tabla anterior se desprende que el modelo propuesto es significativo al haber obtenido un valor de probabilidad menor a 0.05.

Analysis of Variance: ANOVA Table  
 Type III Sum of Squares

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
TAMAÑO	1	160.4	160.4	111.6	0.0000
VELOCIDAD	1	6.020	6.020	4.188	0.0556
TAMAÑO*POSICIÓN	1	5.060	5.060	3.520	0.0769
VELOCIDAD*TAMAÑO	1	1.101	1.101	0.766	0.3930
VELOCIDAD*POSICIÓN	1	0.960	0.960	0.668	0.4245

Analysis of Variance

This analysis is used to detect which model effects have an effect on the expected value of % DIS 120 MIN that is significantly greater than the background level of noise. In this case, the use of type III sums of squares indicates that the following model effects have a significant effect on the expected value of % DIS 120 MIN: TAMAÑO. Type I sums of square are appropriate for polynomial regression, i.e., all model terms are sequential powers of one predictor variable. In other cases type III sums of squares are preferred.

Del análisis de varianza se obtiene que los factores que poseen una mayor influencia sobre la variable de respuesta son el tamaño de la bolsa, la velocidad, la interacción entre los factores tamaño\*posición. Para encontrar el modelo más adecuado se debe de simplificar este modelo eliminado del modelo la interacción velocidad\*tamaño y velocidad\*posición

Parameter Estimates

Term	DF	Estimate	Std. Err.	T	Pr >  T
INTERCEPT	1	19.89	0.245	81.28	0.0000
VELOCIDAD	1	0.301	0.346	0.869	0.3962
TAMAÑO	1	3.044	0.346	8.795	0.0000
VELOCIDAD*TAMAÑO	1	-0.214	0.245	-0.875	0.3930
VELOCIDAD*(POSICIÓN='1')	1	0.400	0.489	0.817	0.4245
VELOCIDAD*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.
TAMAÑO*(POSICIÓN='1')	1	-0.918	0.489	-1.876	0.0769
TAMAÑO*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.

Parameter Estimates

The predicted model is % DIS 120 MIN = 19.89 + 0.301\*VELOCIDAD + 3.044 \* TAMAÑO -0.214 \* VELOCIDAD \* TAMAÑO + 0.400 \* VELOCIDAD \* (POSICIÓN='1') - 0.918 \* TAMAÑO \* (POSICIÓN='1').

**Modelo 3**

OBSERVATIONS (N=24): all  
 ANALYSIS: Multiple regression and ANOVA  
 RESPONSE: %DIS 120 MIN  
 FACTORS: VELOCIDAD TAMAÑO POSICIÓN  
 CLASSES: POSICIÓN  
 Model: VELOCIDAD, TAMAÑO, TAMAÑO\*POSICIÓN  
 USER-EXCLUDED OBSERVATIONS: none  
 ASSUMPTIONS VIOLATED:  
     Constant variance

INTERPRETATION:

There is strong statistical evidence that the explanatory variables in the model are related to the expected value of % DIS 120 MIN. However, some of the assumptions underlying the analysis are violated. Please explore the assumptions in detail.

Overall Findings

This analysis is used to detect whether the expected value of % DIS 120 MIN is related to the terms in the given model. 86% of the observed variation in % DIS 120 MIN is attributable to variation among predictions based on the fitted model. Assuming that there is no relation between % DIS 120 MIN and the explanatory variables in the model, there is a less than 1% chance of a proportion at least as large as this. This constitutes strong statistical evidence that the expected value of % DIS 120 MIN is related to the terms in the given model. However, some of the assumptions underlying the analysis are violated. Please explore the assumptions in detail.

Test of Constant Variance

Source	Chi-square	Df	Prob
_PREDICT	4.22018	1	0.039946

Test of Constant Variance

Variability of the residuals may depend on the predicted response values, or on one or more of the factors. SAS/LAB checks if residual variability depends on the predicted response values as an overall test of the constant variance assumption. In this instance the constant variance assumption is rejected.

**Se encontró evidencia estadística de que existe una relación entre las variables sin embargo, el supuesto de que la varianza debe ser igual para todas las observaciones se ha violado.**

R-square	0.8599	Root MSE	1.1819
Adj R-square	0.8389	C.V.	5.9414

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	3	171.5	57.15	40.92	0.0000
Error	20	27.94	1.397		
Total	23	199.4			

Overall Fit

The overall model is significant.

De la tabla anterior se desprende que el modelo propuesto es significativo al haber obtenido un valor de probabilidad menor a 0.05.

Analysis of Variance: ANOVA Table  
Type III Sum of Squares

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
TAMAÑO	1	160.4	160.4	114.8	0.0000
VELOCIDAD	1	6.020	6.020	4.310	0.0510
TAMAÑO*POSICIÓN	1	5.060	5.060	3.623	0.0715

Analysis of Variance

This analysis is used to detect which model effects have an effect on the expected value of % DIS 120 MIN that is significantly greater than the background level of noise. In this case, the use of type III sums of squares indicates that the following model effects have a significant effect on the expected value of % DIS 120 MIN: TAMAÑO . Type I sums of square are appropriate for polynomial regression, i.e., all model terms are sequential powers of one predictor variable. In other cases type III sums of squares are preferred.

Del análisis de varianza se obtiene que los factores que poseen una mayor influencia sobre la variable de respuesta son el tamaño de la bolsa y la velocidad. Sin embargo en este modelo se viola el supuesto de que la varianza se mantiene constante. Por lo anterior se concluye que el modelo más adecuado es el modelo 2, debido a que se determinó significancia del modelo propuesto y no se viola supuesto alguno.

Parameter Estimates

Term	DF	Estimate	Std. Err.	T	Pr >  T
INTERCEPT	1	19.89	0.241	82.45	0.0000
VELOCIDAD	1	0.501	0.241	2.076	0.0510
TAMAÑO	1	3.044	0.341	8.923	0.0000
TAMAÑO*(POSICIÓN='1')	1	-0.918	0.482	-1.903	0.0715
TAMAÑO*(POSICIÓN='-1')	0	0	.	.	.

Parameter Estimates

The predicted model is % DIS 120 MIN = 19.89 + 0.501 \* VELOCIDAD + 3.044 \* TAMAÑO -0.918 \* TAMAÑO \* (POSICIÓN='1')

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ESTUDIO COMPARATIVO DE DISOLUCIÓN DE TRES LOTES DE FLAGYL®, FLAGENASE® Y LA SUSPENSIÓN EXPERIMENTAL EMPLEANDO EL MÉTODO DE DIÁLISIS Y EL MÉTODO DIRECTO.**

**a) Método de diálisis**

STAT. GENERAL MANOVA		Summary of all effects; desing: 1-FABRIC, 2-LOTE				
Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	2	0.93861	12	0.890556	1.05396	0.37817
2	2*	20.9983*	12*	13.7016*	13.7016*	0.00079*
12	4	0.83706	24	1.75615	1.75615	0.170710

STAT. GENERAL MANOVA		MAIN EFFECT: FABRIC 1-FABRIC, 2-LOTE			
Univar. Test	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-level
Effect	1.8722	2	0.93861	0.05396	0.378712
Error	10.68667	12	0.89055		

STAT. GENERAL MANOVA		MAIN EFFECT: FABRIC 1-FABRIC, 2-LOTE	
Test	Value	p-level	
Wilk's Lambda	0.793318	0.571213	
Rao R Form 2(2,5)	0.627668		
Pillai-Bartlett	0.20068	0.571213	
Trace V(2,5)	0.627668		

STAT. GENERAL MANOVA		MAIN EFFECT: LOTE 1-FABRIC, 2-LOTE			
Univar. Test	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-level
Effect	41.9967	2	20.9983	13.70168	0.000798
Error	18.3904	12	1.53254		

STAT. GENERAL MANOVA		MAIN EFFECT: LOTE 1-FABRIC, 2-LOTE	
Test	Value	p-level	
Wilk's Lambda	0.19579	0.016961	
Rao R Form 2(2,5)	10.2690		
Pillai-Bartlett	0.80421	0.016961	
Trace V(2,5)	10.26900		

**b) Método directo**

STAT. GENERAL MANOVA						
Summary of all effects; desing: 1-FABRIC, 2-LOTE						
Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	2*	10.6822*	10*	10.3720*	1030.57*	0.0000*
2	2*	2155.76*	10*	20.5047*	105.135*	0.0000*
12	4*	1870.74*	20*	10.9784*	170.401*	0.0000*

STAT. GENERAL MANOVA					
MAIN EFFECT: FABRICAN 1-FABRIC, 2-LOTE					
Univar. Test	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-level
Effect	21378.45	2	10689.22	1030.577	0.0000
Error	103.72	10	10.37		

STAT. GENERAL MANOVA		
MAIN EFFECT: FABRIC 1-FABRIC, 2-LOTE		
Test	Value	p-level
Wilk's Lambda	0.0031	0.000009
Rao R Form 2(2,4)	652.1654	
Pillai-Bartlett	0.9969	0.000009
Trace V(2,5)	652.1654	

STAT. GENERAL MANOVA					
MAIN EFFECT: LOTE 1-FABRIC, 2-LOTE					
Univar. Test	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-level
Effect	4311.513	2	2155.756	105.1345	0.00000
Error	205.047	10	20.505		

STAT. GENERAL MANOVA		
MAIN EFFECT: lOTE 1-FABRIC, 2-LOTE		
Test	Value	p-level
Wilk's Lambda	0.0113	0.000128
Rao R Form 2(2.5)	174.6353	
Pillai-Bartlett	0.9887	0.000128
Trace V(2.5)	174.6353	

# ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CONOCER EL EFECTO DE ALGUNOS FACTORES DE MANUFACTURA Y FORMULACIÓN SUSPENSIONES DE BENZOILMETRONIDAZOL REALIZADO PARA EL DISEÑO DE EXPERIMENTOS FACTORIAL COMPLETO 2<sup>4</sup>

Diseño estándar: 2<sup>\*\*</sup>(4-0), Resolución R=Completo  
 Numero de factores (variables independientes): 4  
 Numero de corridas (Experimento estándar): 16  
 Numero total de corridas en el experimento: 16  
 Numero de bloques: 1  
 Replicas fraccionales: Factorial completo

## a) ANALISIS ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TMD

### ANÁLISIS DE VARIANZA

R-sqr=.65166; Adj:0. MS Residual=6.740625

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)VAR6	1.75563	1	1.75563	.260454	.631533
(2)VAR7	.05063	1	.05063	.007510	.934303
(3)VAR8	7.70062	1	7.70062	1.142420	.334004
(4)VAR9	28.89063	1	28.89063	4.286045	.093207
1 by 2	10.08063	1	10.08063	1.495503	.275855
1 by 3	1.15563	1	1.15563	.171442	.695996
1 by 4	1.38063	1	1.38063	.204822	.669817
2 by 3	.00062	1	.00062	.000093	.992690
2 by 4	6.63062	1	6.63062	.983681	.366832
3 by 4	5.40563	1	5.40563	.801947	.411546
Error	33.70313	5	6.74063		
Total SS	96.75438	15			

## ESTIMACIÓN DE LOS EFECTOS

Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	9.93125*	.649068*	15.30079*	.000022*	8.26277*	11.59973*
(1)VAR6	-.66250	1.298136	-.51035	.631533	-3.99946	2.67446
(2)VAR7	-.11250	1.298136	-.08666	.934303	-3.44946	3.22446
(3)VAR8	1.38750	1.298136	1.06884	.334004	-1.94946	4.72446
(4)VAR9	-2.68750	1.298136	-2.07028	.093207	-6.02446	.64946
1 by 2	-1.58750	1.298136	-1.22291	.275855	-4.92446	1.74946
1 by 3	-.53750	1.298136	-.41406	.695996	-3.87446	2.79946
1 by 4	.58750	1.298136	.45257	.669817	-2.74946	3.92446
2 by 3	.01250	1.298136	.00963	.992690	-3.32446	3.34946
2 by 4	1.28750	1.298136	.99181	.366832	-2.04946	4.62446
3 by 4	-1.16250	1.298136	-.89552	.411546	-4.49946	2.17446

## ESTIMACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE REGRESIÓN

Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	9.93125*	.649068*	15.30079*	.000022*	8.26277*	11.59973*
(1)VAR6	-.33125	.649068	-.51035	.631533	-1.99973	1.33723
(2)VAR7	-.05625	.649068	-.08666	.934303	-1.72473	1.61223
(3)VAR8	.69375	.649068	1.06884	.334004	-.97473	2.36223
(4)VAR9	-1.34375	.649068	-2.07028	.093207	-3.01223	.32473
1 by 2	-.79375	.649068	-1.22291	.275855	-2.46223	.87473
1 by 3	-.26875	.649068	-.41406	.695996	-1.93723	1.39973
1 by 4	.29375	.649068	.45257	.669817	-1.37473	1.96223
2 by 3	.00625	.649068	.00963	.992690	-1.66223	1.67473
2 by 4	.64375	.649068	.99181	.366832	-1.02473	2.31223
3 by 4	-.58125	.649068	-.89552	.411546	-2.24973	1.08723

b) ANALISIS ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA ED%

ANALISIS DE VARIANZA

R-sqr=.90249; Adj:.70746 MS Residual=8.434625

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)VAR6	50.0556	1	50.05563	5.93454	.058937
(2)VAR7	11.7306	1	11.73063	1.39077	.291328
(3)VAR8	35.1056	1	35.10562	4.16208	.096854
(4)VAR9	72.6756*	1*	72.67563*	8.61634*	.032431*
1 by 2	18.7056	1	18.70563	2.21772	.196611
1 by 3	2.3256	1	2.32563	.27572	.621961
1 by 4	85.1006*	1*	85.10062*	10.08944*	.024638*
2 by 3	55.8756*	1*	55.87563*	6.62455*	.049804*
2 by 4	45.2256	1	45.22562	5.36190	.068430
3 by 4	13.5056	1	13.50562	1.60121	.261494
Error	42.1731	5	8.43463		
Total SS	432.4794	15			

ESTIMACIÓN DEL EFECTO

Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	90.14375*	.726061*	124.1546*	.000000*	88.27735*	92.01015*
(1)VAR6	3.53750	1.452121	2.4361	.058937	-.19530	7.27030
(2)VAR7	1.71250	1.452121	1.1793	.291328	-2.02030	5.44530
(3)VAR8	-2.96250	1.452121	-2.0401	.096854	-6.69530	.77030
(4)VAR9	4.26250*	1.452121*	2.9354*	.032431*	.52970*	7.99530*
1 by 2	2.16250	1.452121	1.4892	.196611	-1.57030	5.89530
1 by 3	-.76250	1.452121	-.5251	.621961	-4.49530	2.97030
1 by 4	4.61250*	1.452121*	3.1764*	.024638*	.87970*	8.34530*
2 by 3	-3.73750*	1.452121*	-2.5738*	.049804*	-7.47030*	-.00470*
2 by 4	-3.36250	1.452121	-2.3156	.068430	-7.09530	.37030
3 by 4	-1.83750	1.452121	-1.2654	.261494	-5.57030	1.89530

ESTIMACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE REGRESIÓN

Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	90.14375*	.726061*	124.1546*	.000000*	88.27735*	92.01015*
(1)VAR6	1.76875	.726061	2.4361	.058937	-.09765	3.63515
(2)VAR7	.85625	.726061	1.1793	.291328	-1.01015	2.72265
(3)VAR8	-1.48125	.726061	-2.0401	.096854	-3.34765	.38515
(4)VAR9	2.13125*	.726061*	2.9354*	.032431*	.26485*	3.99765*
1 by 2	1.08125	.726061	1.4892	.196611	-.78515	2.94765
1 by 3	-.38125	.726061	-.5251	.621961	-2.24765	1.48515
1 by 4	2.30625*	.726061*	3.1764*	.024638*	.43985*	4.17265*
2 by 3	-1.86875*	.726061*	-2.5738*	.049804*	-3.73515*	-.00235*
2 by 4	-1.68125	.726061	-2.3156	.068430	-3.54765	.18515
3 by 4	-.91875	.726061	-1.2654	.261494	-2.78515	.94765

c) ANALISIS ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA t90

ANALISIS DE VARIANZA

R-sqr=.76211; Adj:.28634 MS Residual=114.65

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)VAR6	56.250	1	56.2500	.490624	.514894
(2)VAR7	16.000	1	16.0000	.139555	.724040
(3)VAR8	240.250	1	240.2500	2.095508	.207388
(4)VAR9	462.250	1	462.2500	4.031836	.100911
1 by 2	324.000	1	324.0000	2.825992	.153580
1 by 3	90.250	1	90.2500	.787178	.415587
1 by 4	272.250	1	272.2500	2.374618	.183954
2 by 3	49.000	1	49.0000	.427388	.542141
2 by 4	324.000	1	324.0000	2.825992	.153580
3 by 4	2.250	1	2.2500	.019625	.894058
Error	573.250	5	114.6500		
Total SS	2409.750	15			

ESTIMACIÓN DEL EFECTO

Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	21.8750*	2.676869*	8.17186*	.000446*	14.9939*	28.75611*
(1)VAR6	-3.7500	5.353737	-.70045	.514894	-17.5122	10.01222
(2)VAR7	-2.0000	5.353737	-.37357	.724040	-15.7622	11.76222
(3)VAR8	7.7500	5.353737	1.44759	.207388	-6.0122	21.51222
(4)VAR9	-10.7500	5.353737	-2.00794	.100911	-24.5122	3.01222
1 by 2	-9.0000	5.353737	-1.68107	.153580	-22.7622	4.76222
1 by 3	-4.7500	5.353737	-.88723	.415587	-18.5122	9.01222
1 by 4	-8.2500	5.353737	-1.54098	.183954	-22.0122	5.51222
2 by 3	3.5000	5.353737	.65375	.542141	-10.2622	17.26222
2 by 4	9.0000	5.353737	1.68107	.153580	-4.7622	22.76222
3 by 4	-.7500	5.353737	-.14009	.894058	-14.5122	13.01222

ESTIMACION DE LOS COEFICIENTES DE REGRESIÓN

Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	21.87500*	2.676869*	8.17186*	.000446*	14.9939*	28.75611*
(1)VAR6	-1.87500	2.676869	-.70045	.514894	-8.7561	5.00611
(2)VAR7	-1.00000	2.676869	-.37357	.724040	-7.8811	5.88111
(3)VAR8	3.87500	2.676869	1.44759	.207388	-3.0061	10.75611
(4)VAR9	-5.37500	2.676869	-2.00794	.100911	-12.2561	1.50611
1 by 2	-4.50000	2.676869	-1.68107	.153580	-11.3811	2.38111
1 by 3	-2.37500	2.676869	-.88723	.415587	-9.2561	4.50611
1 by 4	-4.12500	2.676869	-1.54098	.183954	-11.0061	2.75611
2 by 3	1.75000	2.676869	.65375	.542141	-5.1311	8.63111
2 by 4	4.50000	2.676869	1.68107	.153580	-2.3811	11.38111
3 by 4	-.37500	2.676869	-.14009	.894058	-7.2561	6.50611

d) ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TAMAÑO DE PARTICULA

ANALISIS DE VARIANZA

R-sqr=.89961; Adj:.69882 MS Residual=.671625

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)VAR6	1.05063	1	1.05063	1.56430	.266374
(2)VAR7	10.08063*	1*	10.08063*	15.00931*	.011711*
(3)VAR8	3.51563	1	3.51563	5.23451	.070835
(4)VAR9	5.88063*	1*	5.88063*	8.75582*	.031554*
1 by 2	.68062	1	.68062	1.01340	.360293
1 by 3	1.15563	1	1.15563	1.72064	.246608
1 by 4	.68063	1	.68063	1.01340	.360293
2 by 3	4.10062	1	4.10062	6.10553	.056465
2 by 4	2.80563	1	2.80563	4.17737	.096393
3 by 4	.14062	1	.14062	.20938	.666450
Error	3.35812	5	.671625		
Total SS	33.44938	15			

ESTIMACIÓN DEL EFECTO

Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	6.90625*	.204882*	33.70846*	.000000*	6.37958*	7.432915*
(1)VAR6	-.51250	.409764	-1.25072	.266374	-1.56583	.540831
(2)VAR7	-1.58750*	.409764*	-3.87418*	.011711*	-2.64083*	-.534169*
(3)VAR8	-.93750	.409764	-2.28790	.070835	-1.99083	.115831
(4)VAR9	-1.21250*	.409764*	-2.95902*	.031554*	-2.26583*	-.159169*
1 by 2	-.41250	.409764	-1.00668	.360293	-1.46583	.640831
1 by 3	.53750	.409764	1.31173	.246608	-.51583	1.590831
1 by 4	.41250	.409764	1.00668	.360293	-.64083	1.465831
2 by 3	1.01250	.409764	2.47094	.056465	-.04083	2.065831
2 by 4	.83750	.409764	2.04386	.096393	-.21583	1.890831
3 by 4	.18750	.409764	.45758	.666450	-.86583	1.240831

ESTIMACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE REGRESIÓN

Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	6.906250*	.204882*	33.70846*	.000000*	6.37958*	7.432915*
(1)VAR6	-.256250	.204882	-1.25072	.266374	-.78292	.270415
(2)VAR7	-.793750*	.204882*	-3.87418*	.011711*	-1.32042*	-.267085*
(3)VAR8	-.468750	.204882	-2.28790	.070835	-.99542	.057915
(4)VAR9	-.606250*	.204882*	-2.95902*	.031554*	-1.13292*	-.079585*
1 by 2	-.206250	.204882	-1.00668	.360293	-.73292	.320415
1 by 3	.268750	.204882	1.31173	.246608	-.25792	.795415
1 by 4	.206250	.204882	1.00668	.360293	-.32042	.732915
2 by 3	.506250	.204882	2.47094	.056465	-.02042	1.032915
2 by 4	.418750	.204882	2.04386	.096393	-.10792	.945415
3 by 4	.093750	.204882	.45758	.666450	-.43292	.620415

e)ANALISIS ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA PENDIENTE DE LA CURVA DE DISOLUCIÓN

ANALISIS DE VARIANZA

R-sqr=.9084; Adj.:72519 MS Residual=1.608525

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)VAR6	12.28327*	1*	12.28327*	7.63636*	.039675*
(2)VAR7	2.54961	1	2.54961	1.58506	.263612
(3)VAR8	4.80596	1	4.80596	2.98781	.144465
(4)VAR9	2.56080	1	2.56080	1.59202	.262697
1 by 2	1.04193	1	1.04193	.64776	.457463
1 by 3	1.81239	1	1.81239	1.12674	.337030
1 by 4	27.48643*	1*	27.48643*	17.08797*	.009052*
2 by 3	10.80601*	1*	10.80601*	6.71796*	.048724*
2 by 4	1.02668	1	1.02668	.63827	.460586
3 by 4	15.38405*	1*	15.38405*	9.56407*	.027080*
Error	8.04262	5	1.60852		
Total SS	87.79975	15			

## ESTIMACIÓN DEL EFECTO

Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	41.72919*	.317069*	131.6091*	.000000*	40.91414*	42.54424*
(1)VAR6	1.75238*	.634138*	2.7634*	.039675*	.12227*	3.38248*
(2)VAR7	.79837	.634138	1.2590	.263612	-.83173	2.42848
(3)VAR8	-1.09613	.634138	-1.7285	.144465	-2.72623	.53398
(4)VAR9	-.80013	.634138	-1.2618	.262697	-2.43023	.82998
1 by 2	.51038	.634138	.8048	.457463	-1.11973	2.14048
1 by 3	-.67312	.634138	-1.0615	.337030	-2.30323	.95698
1 by 4	2.62138*	.634138*	4.1338*	.009052*	.99127*	4.25148*
2 by 3	-1.64363*	.634138*	-2.5919*	.048724*	-3.27373*	-.01352*
2 by 4	-.50662	.634138	-.7989	.460586	-2.13673	1.12348
3 by 4	-1.96113*	.634138*	-3.0926*	.027080*	-3.59123*	-.33102*

## ESTIMACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE REGRESION

Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(5)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	41.72919*	.317069*	131.6091*	.000000*	40.91414*	42.54424*
(1)VAR6	.87619*	.317069*	2.7634*	.039675*	.06114*	1.69124*
(2)VAR7	.39919	.317069	1.2590	.263612	-.41586	1.21424
(3)VAR8	-.54806	.317069	-1.7285	.144465	-1.36311	.26699
(4)VAR9	-.40006	.317069	-1.2618	.262697	-1.21511	.41499
1 by 2	.25519	.317069	.8048	.457463	-.55986	1.07024
1 by 3	-.33656	.317069	-1.0615	.337030	-1.15161	.47849
1 by 4	1.31069*	.317069*	4.1338*	.009052*	.49564*	2.12574*
2 by 3	-.82181*	.317069*	-2.5919*	.048724*	-1.63686*	-.00676*
2 by 4	-.25331	.317069	-.7989	.460586	-1.06836	.56174
3 by 4	-.98056*	.317069*	-3.0926*	.027080*	-1.79561*	-.16551*

PROPIEDADES REOLÓGICAS DE FLAGYL® Y LA SUSPENSIÓN EXPERIMENTAL.

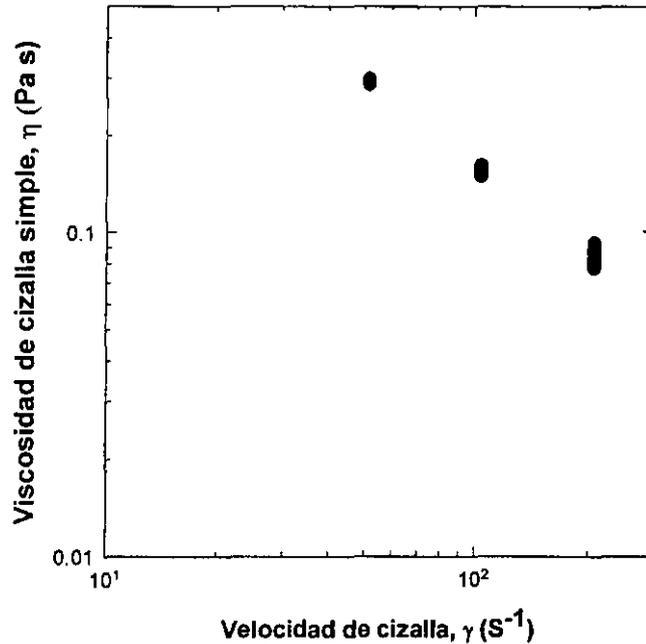


Figura 36

Perfil de viscosidad de Flagyl®

(Condiciones de análisis: Reómetro Rotovisco RV-20, Temperatura =25°C,  $r^2=0.87$ ,  $a=7.565$ ,  $n=0.1740$   $\eta \approx 100$  cps, Ajuste: Modelo de Ostwald:  $\tau=a \cdot D^n$ )

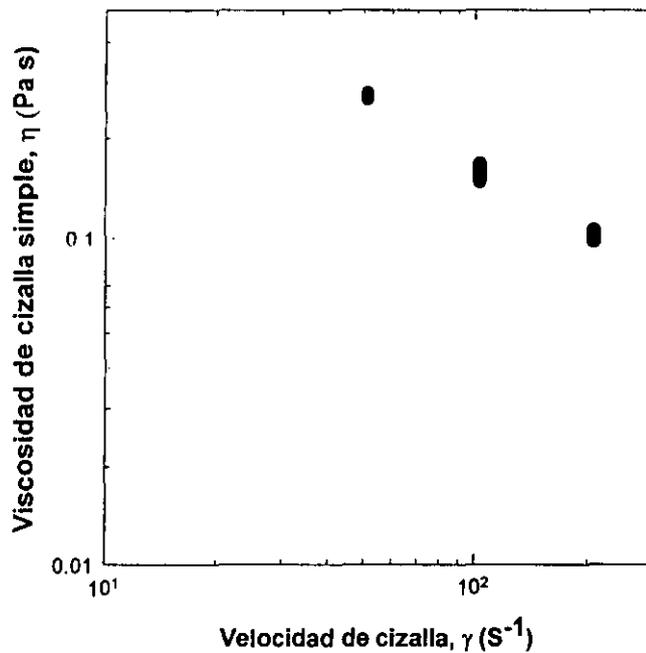


Figura 37

Perfil de viscosidad de la suspensión experimental

(Condiciones de análisis: Reómetro Rotovisco RV-20, Temperatura =25°C,  $r^2=0.87$ ,  $a=7.565$ ,  $n=0.1740$   $\eta \approx 100$  cps, Ajuste: Modelo de Ostwald:  $\tau=a \cdot D^n$ )