

131



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN *in vitro* DE LA INFLUENCIA DE LOS ALIMENTOS EN LA DISOLUCIÓN DE PRAZICUANTEL”

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A :

IDANIA REYES CAUDILLO



México, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Profa. Helgi Jung Cook
Vocal	Profa. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado
Secretario	Prof. José Manuel Morales Hernández
1er. Suplente	Prof. Luis Jesús García Aguirre
2do. Suplente	Profa. Liz Janet Medina Reyes

Lugar donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Biofarmacia. Conjunto E de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor de Tema :



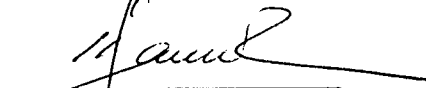
Dra. Helgi Jung Cook

Supervisor Técnico:



M. en C. Nelly Norma Castro

Sustentante:



Idania Reyes Caudillo

DEDICATORIA

A mis padres por su gran amor y dedicación. Esto es sólo el primer fruto de lo que han sembrado en mí. Los amo.

A mis abuelos que con gran cariño emprendieron el recorrido junto a mí, iniciando mi alcancía, cuyo primer resultado hoy, nos permite unimos en la gran familia Puma. Siempre vivirán en mí.

A mi hermana. El camino no es fácil, pero siempre valdrá la pena llegar al final del mismo. Recuerda ... de primer mundo...

A Roberto y Arturo, cuya amistad nació con una semilla que no dejaremos morir.

A todos mis amigos, que no menciono para evitar omitir alguno y que hicieron mi etapa universitaria inolvidable. Tú sabes que eres parte de mí.

A todas aquellas personas que confiaron en mí y apoyaron incondicionalmente este granito de arena de la investigación.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Helgi por su invaluable apoyo en este gran reto.

A Nelly por su dedicación y por compartir su experiencia.

Elvira, gracias por tu gran ayuda en este proyecto y sobretodo por tu amistad. Éxito.

A León por su inapreciable dedicación y apoyo en esta tarea.

A la Fundación Roberto y Dolores Andrade por su apoyo y seguimiento en mi formación académica.

HONORABLE JURADO: .

Con gran respeto presento a ustedes este trabajo, reflejo del interés y cariño que profeso a mi profesión y a nuestra facultad. Esperando que sea útil a la humanidad.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CAPITULO I. Introducción y Objetivo	1
CAPITULO II. Generalidades.....	3
2.1. Monografía del Prazicuantel	3
2.1.1. Propiedades fisicoquímicas	3
2.1.2. Mecanismo de acción	4
2.1.3. Farmacocinética	4
2.1.4. Aplicaciones Terapéuticas	5
2.1.5. Toxicidad, precauciones e interacciones	6
2.2. Disolución	7
2.2.1. Importancia de la disolución	7
2.2.2. Prueba de disolución como predictor de la absorción de fármacos orales: formas farmacéuticas de liberación inmediata	9
2.2.3. Factores que afectan la disolución.....	10
2.2.4. Relación entre los parámetros fisiológicos y los parámetros de la disolución	10
2.3. La absorción de los fármacos.....	12
2.3.1. Factores limitantes en la velocidad de absorción de fármacos.....	12
2.3.2. La influencia de los alimentos en la absorción.....	13
2.3.3. Mecanismos fisicoquímicos y fisiológicos relacionados con los efectos de los alimentos en la absorción.....	13
2.3.3.1. Los lípidos y el ambiente intestinal postprandial.....	14
2.3.3.2. Composición luminal del tracto gastrointestinal.....	14
2.3.3.3. El pH y la capacidad amortiguadora.....	16
2.3.3.4. Tensoactivos.....	17
2.3.3.5. Enzimas.....	17
2.3.3.6. Sales biliares y lecitina en los estados pre y postprandial.....	18
2.3.3.7. La hidrodinámica del tracto gastrointestinal.....	21
2.3.3.7.1. Volumen.....	21
2.3.3.7.2. Patrones de mezclado en el intestino.....	21
2.3.3.7.3. Velocidad de flujo del tracto gastrointestinal.....	22
2.3.3.7.4. Tiempo total de residencia en el tracto gastrointestinal.....	23
2.4. Medios de disolución empleados para semejar el estado pre y postprandial.....	23
2.4.1. El volumen y la capacidad amortiguadora de los medios propuestos.....	24
2.4.2. Duración de la prueba de disolución.....	25

ÍNDICE GENERAL (Continuación)	Pág.
2.4.3. Agitación.....	26
CAPITULO III. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	27
3.1. Reactivos y equipos.....	27
3.2. Selección del medicamento.....	28
3.3. Calibración del disolutor Vankel 7000.....	28
3.4. Pruebas de Control de Calidad.....	29
3.4.1. Valoración.....	29
3.4.1.1. Preparación de la solución de referencia.....	29
3.4.1.2. Preparación de la solución de la muestra.....	29
3.4.1.3. Procedimiento.....	29
3.4.1.4. Cálculo.....	29
3.4.2. Uniformidad de dosis.....	30
3.4.2.1. Preparación de la solución de referencia.....	30
3.4.2.2. Preparación de la solución de la muestra.....	30
3.4.2.3. Procedimiento.....	30
3.4.2.4. Cálculo.....	30
3.4.3. Prueba de disolución.....	31
3.4.3.1. Procedimiento.....	31
3.4.3.2. Cálculo del % disuelto.....	31
3.5. Estudio de Perfil de disolución.....	32
3.6. Métodos analítico para cuantificar PZQ en los diferentes medios de disolución.....	32
3.6.1. Método analítico para cuantificar PZQ en el medio USP XXIV.....	32
3.6.1.1. Curva patrón de PZQ en medio USP XXIV.....	33
3.6.2. Método analítico para cuantificar PZQ en el medio FASSIF.....	33
3.6.2.1. Curva patrón de PZQ en medio FASSIF.....	34
3.6.2.2. Preparación de la muestra en medio FASSIF.....	34
3.6.3. Método analítico para cuantificar PZQ en medio FESSIF... 3.6.3.1. Curva patrón de PZQ en medio FESSIF.....	34
3.6.3.2. Preparación de la muestra en medio FESSIF.....	35
3.6.3.3. Condiciones cromatográficas generales.....	35
3.6.4. Método analítico para cuantificar PZQ en LECHE.....	35
3.6.4.1. Curva patrón de PZQ en LECHE.....	36
3.6.4.2. Preparación de la muestra en LECHE.....	37
3.6.4.3. Extracción de la muestra en LECHE.....	37
3.7. Validación de los métodos analíticos para cuantificar PZQ en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	39
3.7.1. Linealidad de los Sistemas.....	39
3.7.2. Precisión de los Sistemas.....	39

ÍNDICE GENERAL (Continuación)	Pág.
3.7.3. Linealidad de los Métodos.....	39
3.7.4. Precisión de los métodos.....	40
3.7.5. Exactitud.....	41
3.7.6. Estabilidad.....	41
3.7.7. Selectividad.....	42
3.7.8. Influencia del filtro.....	42
3.8. Estudio de perfiles de disolución en los diferentes medios.....	43
3.8.1. Procedimiento.....	43
3.8.2. Cálculo de % disuelto de PZQ.....	44
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....	45
4.1. Pruebas de control de calidad.....	45
4.1.1. Valoración.....	45
4.1.2. Uniformidad de dosis.....	45
4.1.3. Disolución USP XXIV.....	45
4.2. Validación de los métodos analíticos para cuantificar PZQ en los medios de disolución: USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	46
4.2.1. Linealidad de Sistemas.....	46
4.2.2. Precisión de Sistemas.....	48
4.2.3. Linealidad de Métodos.....	48
4.2.4. Precisión de Métodos.....	50
4.2.5. Exactitud.....	51
4.2.6. Estabilidad de la muestra.....	52
4.2.7. Selectividad.....	52
4.2.8. Influencia del filtro.....	55
4.3. Perfiles de disolución.....	55
CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	57
5.1. Control de Calidad.....	57
5.2. Validación de los Métodos Analíticos.....	57
5.3. Estudios de disolución.....	59
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....	63
CAPÍTULO VII. APÉNDICES.....	64
7.1. Apéndice 1. Reporte de calibración del disolutor Vankel 7000.....	64
7.2. Apéndice 2. Porcentajes disueltos en medio USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	66
CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Contenido	Pág.
Tabla 1	Parámetros fisicoquímicos y fisiológicos que influyen en la disolución de fármacos en el tracto gastrointestinal.....	11
Tabla 2	El pH en el Intestino Delgado.....	16
Tabla 3	Enzimas presentes en el tracto gastrointestinal.....	18
Tabla 4	Composición de los medios de disolución utilizados en el estudio.....	32
Tabla 5	Diluciones para la curva patrón en medio USP XXIV.....	33
Tabla 6	Diluciones para la curva patrón en medio FASSIF.....	34
Tabla 7	Diluciones para la curva patrón en medio FESSIF.....	35
Tabla 8	Diluciones para la curva patrón en LECHE.....	36
Tabla 9	Diluciones para la curva de método en medio USP XXIV...	40
Tabla 10	Condiciones y tiempos de muestreo de los estudios de disolución en los diferentes medios.....	43
Tabla 11	Uniformidad de dosis.....	45
Tabla 12	Porcentaje disuelto de PZQ a los 60 minutos.....	45
Tabla 13	Linealidad de sistema para la cuantificación de PZQ en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	46
Tabla 14	Precisión de Sistema USP XXIV.....	48
Tabla 15	Precisión de Sistema FASSIF.....	48
Tabla 16	Precisión de Sistema FESSIF.....	48
Tabla 17	Precisión de Sistema LECHE.....	48
Tabla 18	Linealidad de método para la cuantificación de PZQ en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	49
Tabla 19	Precisión de Método en medio USP XXIV.....	50
Tabla 20	Precisión de Método en FASSIF.....	50
Tabla 21	Precisión de Método en FESSIF.....	51
Tabla 22	Precisión de Método en LECHE.....	51
Tabla 23	Exactitud en FASSIF.....	51
Tabla 24	Exactitud en FESSIF.....	51
Tabla 25	Exactitud en LECHE.....	51
Tabla 26	Estabilidad del PZQ en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.....	52
Tabla 27	Comparación de respuestas del Método de Estándar adicionado (USP).....	52
Tabla 28	Porcentaje de recobro después de las filtraciones.....	55
Tabla 29	Promedio y desviación estándar de los Porcentajes disueltos en cada medio de disolución.....	55
Tabla 30	Prueba de comparaciones múltiples Student-Newman - Keuls.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Proceso de disolución de las formas farmacéuticas orales sólidas.....	8
Figura 2	Pasos en la absorción y fuentes que afectan la biodisponibilidad de los fármacos de administración oral....	12
Figura 3	La digestión lipídica y su relación con la absorción.....	15
Figura 4	Diagrama de tratamiento de las muestras en leche.....	38
Figura 5	Linealidad de Sistema USP XXIV.....	47
Figura 6	Linealidad de Sistema FASSIF.....	47
Figura 7	Linealidad de Sistema FESSIF.....	47
Figura 8	Linealidad de Sistema LECHE.....	47
Figura 9	Linealidad de Método USP XXIV.....	49
Figura 10	Linealidad de Método FASSIF.....	49
Figura 11	Linealidad de Método FESSIF.....	50
Figura 12	Linealidad de Método LECHE.....	50
Figura 13	Cromatograma de PZQ en fase móvil.....	53
Figura 14	Cromatograma de forma farmacéutica en fase móvil.....	53
Figura 15	Cromatograma de PZQ en medio FASSIF.....	54
Figura 16	Cromatograma de PZQ en medio FESSIF.....	54
Figura 17	Cromatograma de PZQ en LECHE.....	54
Figura 18	Comparación de perfiles de disolución.....	56

ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
DZP	Diazepam
mAbs	Unidades de miliabsorbancia
mNm	Milnewton metro
PZQ	Prazicuantel

CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Existen diferentes factores que influyen para que un fármaco alcance la circulación general después de su administración por vía oral entre los que se encuentran: la solubilidad, la permeabilidad, los componentes del fluido gástrico e intestinal, el pH del tracto gastrointestinal, los excipientes de la forma farmacéutica, etc. Actualmente se ha demostrado que los alimentos pueden afectar la absorción de un fármaco.

En presencia de alimento, la absorción de fármacos se puede ver retrasada, incrementada o inalterada. Para algunos fármacos, los efectos de los alimentos en la absorción se deben a interacciones con los componentes de los mismos y para la mayoría de los fármacos, los cambios en los parámetros fisiológicos del tracto gastrointestinal entre el estado pre y postprandial son probablemente la fuente principal de las diferencias en biodisponibilidad.

En un estudio previo en voluntarios sanos se demostró que los alimentos aumentan significativamente la biodisponibilidad del prazicuantel (10). Este efecto puede deberse a diferentes causas como son cambios en el flujo hepático, alteración en el metabolismo del fármaco durante el primer paso en el hígado, o bien un aumento de la disolución del fármaco en presencia de los alimentos.

Se han desarrollado diferentes medios de disolución que simulan la composición de los contenidos intestinales antes y después de la ingesta de alimentos, entre ellos se encuentran: el Fluido Intestinal Simulado en Estado Preprandial o ayuno, (FASSIF), y el Fluido Intestinal Simulado en Estado Postprandial (FESSIF), conocidos como medios biorrelevantes de disolución (BDM). También se ha propuesto el uso de leche como un medio de disolución que simula las condiciones gástricas después del consumo de alimento ya que se considera que la proporción de sus componentes es similar a la dieta típica occidental.

Con base en lo anterior, se llevó a cabo el presente trabajo, cuyo objetivo fue:

- Emplear métodos *in vitro* que simulen la influencia de los alimentos en la disolución de praziquantel utilizando para ello como medios: Fluido Intestinal Simulado en Estado Preprandial o Ayuno, (FASSIF), el Fluido Intestinal Simulado en Estado Postprandial (FESSIF) y leche.

CAPÍTULO II.- GENERALIDADES

2.1 MONOGRAFÍA DEL PRAZICUANTEL (PZQ).

El prazicuantel es un fármaco antihelmíntico efectivo contra un amplio espectro de trematodos y cestodos. Es el fármaco de elección para tratar la esquistosomiasis y otras enfermedades causadas por otros trematodos que afectan al humano.

El prazicuantel es un derivado pirazinoisoquinolínico obtenido en 1972 cuando se descubrió que esta categoría de compuestos poseía actividad antihelmíntica. En animales y seres humanos, las infecciones producidas por cestodos y trematodos son tratadas adecuadamente con dicho compuesto, más no afecta a los nematodos. (2)(29)(37) (42).

El levoisómero es el que ejerce la mayor actividad antihelmíntica (23).

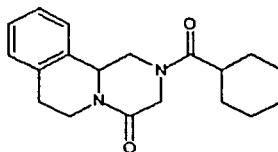
Nombres Comerciales: Cisticid, Cesol.

Nombre genérico: Prazicuantel (PZQ).

Nombre químico: 2-(ciclohexilcarbonyl)-1,2,3,6,7,11 β-hexahidro-4H-pirazino [2,1-α]isoquinolin-4-ona (22).

Formula Condensada: C₁₉H₂₄N₂O₂

Fórmula desarrollada:



Peso molecular: 312.41 g/mol

2.1.1. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS (27).

Descripción: Cristales, higroscópicos de sabor amargo y olor característico. Inestable a la luz.

Solubilidad:

Agua.- 0.04 g/100mL, etanol.-9.7 g/100mL, cloroformo.- 56.7g/100mL, acetona.- 80g/100 mL.

La forma amorfa es más soluble que la forma cristalina.

2.1.2. MECANISMO DE ACCIÓN (7).

Este fármaco penetra en el helminto e incrementa la permeabilidad de su membrana, lo cual da lugar a una pérdida de calcio intracelular con contracciones masivas, y parálisis de la musculatura, afectando así la integridad del parásito. También causa la vacuolización y desintegración de los fagocitos del parásito, lo que ocasiona su muerte.

2.1.3. FARMACOCINÉTICA.

Después de su administración por vía oral, el prazicuantel se absorbe fácilmente, de manera que, en un lapso de una a dos horas, se alcanzan las concentraciones máximas en plasma. La farmacocinética depende de la dosis. El metabolismo extenso "de primer paso" da lugar a la aparición de muchos productos hidroxilados y conjugados inactivos que limitan la biodisponibilidad del fármaco y hace que en el plasma las concentraciones de metabolitos sean 100 veces mayores que las de prazicuantel. La vida media del prazicuantel puede prolongarse en sujetos con hepatopatía grave y por ello en algunos casos se requiere ajustar la dosis (32).

El fármaco se une un 80% a proteínas plasmáticas; su vida media plasmática es de 0.8 a 2.0 h en comparación con cuatro a seis horas de los metabolitos, pero tal lapso puede prolongarse en individuos con hepatopatía grave, incluyendo la causada por esquistosomiasis hepatoesplénica. En promedio, 70% de la dosis oral de prazicuantel se excreta en forma de metabolitos en orina, en un periodo de 24 h, y parte de la dosis que metaboliza en hígado se elimina por la bilis (23).

Los niveles en líquido cefaloraquídeo son aproximadamente 14-20% de la cantidad total del fármaco en plasma.

2.1.4. APLICACIONES TERAPÉUTICAS.

En los Estados Unidos de Norteamérica, el prazicuantel está aprobado para el tratamiento de la esquistosomiasis y la clonorchiasis de hígado, pero en otros países este fármaco, ha sido utilizado también para combatir infecciones por otros trematodos y cestodos. El medicamento debe almacenarse a temperaturas menores de 30°C y debe deglutirse con agua, sin masticarlo, por su sabor amargo.

El prazicuantel es muy eficaz contra todas las especies de esquistosomas que infectan seres humanos. Los regímenes posológicos varían, pero se obtienen buenos resultados con una sola dosis oral de 40 mg/Kg de peso o tres dosis de 20 mg/Kg. de peso, con cuatro a seis horas de diferencia entre una y otra, en infecciones por *S. Japonicum* o en infecciones únicas o mixtas causadas por *S. Mansoni* o *S. haematobium*. Cuando se administran tres dosis orales de 25 mg/Kg, a intervalos de cuatro a ocho horas el mismo día, se obtienen tasas más altas de curación en infecciones por duelas hepáticas del tipo de *C. Sinensis* y *O. Viverrini*, o duelas en intestino como *Fasciolopsis busi*, *Heterophyes heterophyes* y *Metagonimus yokogawi*. El mismo régimen de tres dosis utilizado durante dos días es muy eficaz contra infecciones por *Paragonimus westermani*, la duela pulmonar.

Las infecciones por *Fasciola hepática* no reaccionan a dosis altas a pesar de que el prazicuantel penetra en el trematodo. Se desconoce la razón de la poca sensibilidad de dicho parásito al fármaco mencionado.

Se ha encontrado que a dosis bajas el prazicuantel es eficaz contra infecciones intestinales de cestodos adultos. Se ha administrado una sola dosis oral de 25 mg/Kg de peso en caso de *Hymenolepsis nana*, y de 10 a 20 mg/Kg de peso contra *D. Latum*, *T. Saginata* o *T. Solium*. En individuos con gran número de *H. Nana*, es conveniente

volver a administrar el fármaco 7 a 10 días después.

No hay consenso en cuanto a las dosis y el tiempo a utilizar el prazicuantel para combatir la cisticercosis humana. La enfermedad "quistica" o "alveolar" hidatídica causada por las etapas larvarias de las tenias de tipo *Echinococcus* no mejora con prazicuantel y, en esos casos, es mucho más prometedora la administración de albendazol (26).

2.1.5. TOXICIDAD, PRECAUCIONES E INTERACCIONES.

Poco después de la ingestión de prazicuantel, se pueden presentar molestias abdominales y en particular dolor y náuseas, cefalalgias, mareos y somnolencia. Estos efectos son transitorios y dependen de la dosis. En ocasiones, se presentan efectos indirectos como fiebre, prurito, urticaria, erupciones, artralgias y mialgias; el incremento en el número de eosinófilos suele depender del número de parásitos. En la neurocisticercosis, las reacciones inflamatorias al prazicuantel pueden producir meningitis, convulsiones, cambios psíquicos y pleocitosis del líquido cefalorraquídeo. Tales efectos suelen aparecer tardíamente, duran dos o tres días y mejoran con la terapéutica sintomática apropiada como sería el uso de analgésicos y anticonvulsivos.

El prazicuantel es inocuo en niños mayores de cuatro años de edad que quizás lo toleren mejor que los adultos. Los niveles de prazicuantel en la leche materna, son bajos pero no hay información de que sea mutágeno o carcinógeno. Las dosis altas de prazicuantel incrementan la frecuencia de abortos en ratas, de tal manera que no se recomienda su uso en mujeres embarazadas.

La biodisponibilidad del prazicuantel disminuye por acción de inductores del citocromo P 450, como la carbamazepina y el fenobarbital. Como aspecto predecible, la administración conjunta de cimetidina que es un inhibidor del citocromo mencionado, ejerce el efecto contrario (6) (12).

La dexametasona disminuye la biodisponibilidad del prazicuantel mediante un

mecanismo todavía desconocido. En un estudio clínico se observó que bajo ciertas circunstancias el prazicuantel puede aumentar la biodisponibilidad del albendazol (25).

El prazicuantel está contraindicado en la cisticercosis ocular porque la respuesta del huésped origina a veces un daño irreversible en el ojo. Poco después de ingerir el medicamento, es mejor no conducir vehículos ni operar máquinas u otras tareas que necesiten un estado de alerta psíquico.

2.2. Disolución.

2.2.1. Importancia de la disolución.

La disolución se define como un proceso por el cual una sustancia sólida entra en el disolvente y forma una solución. Fundamentalmente ésta es controlada por la afinidad entre el sólido y el disolvente.

La biodisponibilidad en el cuerpo está gobernado por la velocidad de disolución de la partícula, la cual está determinada por la velocidad en la liberación del mismo desde un sistema físico (forma farmacéutica). La velocidad de disolución de una sustancia o de un fármaco desde su estado sólido se define como la cantidad de sustancia que entra en solución por unidad de tiempo bajo condiciones estandarizadas de interfase líquido/sólido, temperatura y composición del solvente.

Las formas farmacéuticas sólidas y dispersiones sólido-líquido experimentan su disolución en matrices biológicas seguida de su absorción a la circulación sistémica. Para determinar la velocidad de disolución de los fármacos a partir de la forma farmacéutica bajo condiciones estandarizadas, se tienen que considerar varios procesos fisicoquímicos además de procesos relacionados con la disolución de las sustancias puras.

Las características físicas de una forma farmacéutica, la humectabilidad de la misma, la capacidad de penetración del medio de disolución, y la desintegración de la forma farmacéutica son algunos factores que influyen la disolución característica de cada fármaco.

Wagner y Carstensen propusieron el siguiente esquema para describir el proceso de disolución de las formas farmacéuticas sólidas (40) (9):

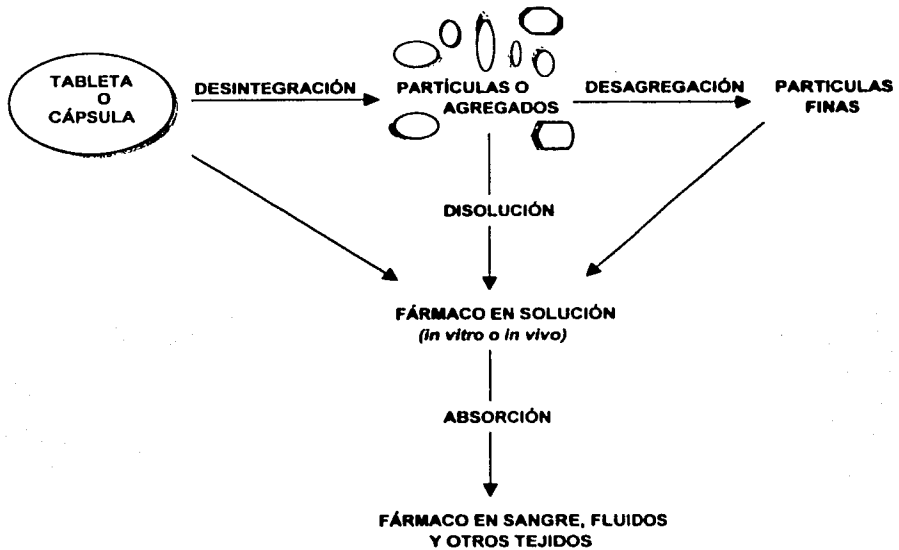


Fig. 1 Proceso de disolución de las formas farmacéuticas orales sólidas.

En la figura anterior se puede observar que la velocidad de disolución del fármaco podría convertirse en el paso limitante de la absorción. Cuando la forma farmacéutica entra al tracto gastrointestinal en forma sólida, existen dos procesos que pueden repercutir en el paso limitante de la velocidad: la disolución o la absorción misma. Así, los fármacos que son muy solubles en agua tienden a disolverse muy rápido, haciendo a la difusión pasiva o al transporte activo del fármaco el paso limitante de velocidad para la absorción a través de la membrana. Por otro lado los fármacos que son poco solubles en agua se pueden ver limitados por la velocidad de

disolución del fármaco y por la desintegración de la forma farmacéutica.

La prueba de disolución debe ser tomada como una herramienta cualitativa que puede proporcionar información acerca de la biodisponibilidad (correlaciones *in vitro-in vivo*), pero no debe ser considerada como predictor de la eficacia terapéutica.

Las pruebas de disolución se utilizan con diferentes propósitos en la industria farmacéutica: en el desarrollo de nuevos productos, para el control de calidad y para apoyar en la determinación de bioequivalencia.

Un aspecto importante en el desarrollo de un producto, es encontrar una característica potencial que refleje su desempeño *in vivo*. Aunque las formas farmacéuticas de liberación inmediata se someten a pruebas como uniformidad de contenido, peso, dureza, friabilidad y desintegración, la prueba que se ha asociado con la evaluación del desempeño *in vivo*, es la prueba de disolución.

2.2.2. Prueba de disolución como predictor de la absorción de fármacos orales: formas farmacéuticas de liberación inmediata.

Aún cuando existen diferentes vías de administración, la vía oral sigue siendo la más popular. Para predecir el comportamiento de un fármaco de administración oral es esencial modelar *in vitro* los factores limitantes para su absorción, así el uso de pruebas de disolución puede ayudar en la predicción de diferencias en biodisponibilidad entre formulaciones y condiciones de dosificación. Para obtener una correlación *a priori*, se deben simular, la composición, el volumen y la hidrodinamia de los contenidos lumbales gastrointestinales después de la administración de la forma farmacéutica.

La prueba de disolución da información útil en las diferentes etapas del desarrollo del medicamento, los especialistas, emplean la disolución para evaluar las propiedades de disolución del fármaco por sí mismo, y con ello se seleccionan los excipientes apropiados para la formulación.

2.2.3. Factores que afectan la disolución.

Los factores que pueden afectar la velocidad de disolución de las formas farmacéuticas son de gran importancia en el diseño de una prueba de disolución.

Estos se pueden clasificar como se indica a continuación:

Factores fisicoquímicos de las sustancias: Solubilidad, tamaño de partícula, estado cristalino.

Factores relacionados con la forma farmacéutica: Formulación, diluentes y desintegrantes, lubricantes, método de granulación, fuerza de compresión.

Factores relacionados con el equipo de disolución: Diseño, velocidad de agitación, medio de disolución, alineamiento, centrado, automatización, calibración.

Los factores que afectan al medio de disolución son el pH, tensión superficial, viscosidad, desgasificación y fuerza iónica (4).

2.2.4. Relación entre los parámetros fisiológicos y los parámetros de la disolución.

La ecuación de Noyes –Whitney que se presenta a continuación muestra los factores que influyen en la cinética de disolución de los fármacos:

$$\frac{dX_d}{dt} = \frac{A \cdot D}{\delta} (C_s - X_d / V)$$

Donde dX_d/dt es la velocidad de disolución, A es el área superficial efectiva del sólido, D es el coeficiente de difusión del fármaco, δ es el grosor de la capa adyacente a la superficie en disolución, C_s es la solubilidad del fármaco bajo condiciones luminales, X_d es la cantidad del fármaco ya disuelto y V es el volumen del medio de disolución.

Algunos de estos factores se ven influenciados por las condiciones del tracto gastrointestinal. En la tabla I se presenta la relación entre los parámetros fisicoquímicos y los parámetros fisiológicos que afectan la disolución de los fármacos.

Tabla I. Parámetros fisicoquímicos y fisiológicos que influyen en la disolución de fármacos en el tracto gastrointestinal (15).

<i>FACTOR</i>	<i>PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS</i>	<i>PARÁMETROS FISIOLÓGICOS</i>
Área superficial del fármaco	Tamaño de partícula, humectabilidad	Tensoactivos en el jugo gástrico y en la bilis
Difusión del fármaco	Tamaño molecular	Viscosidad de los contenidos lumbales
Espesor de la capa adyacente		Patrones de motilidad y velocidad de flujo
Solubilidad	Hidrofobicidad, estructuras cristalinas y la solubilización	pH, capacidad amortiguadora, bilis y componentes de los alimentos
Cantidad de fármaco ya disuelta		Permeabilidad
Volumen de solvente disponible		Secreciones, fluidos coadministrados

Los factores clave en la disolución de los fármacos en el tracto gastrointestinal son: la composición, volumen e hidrodinamia de los contenidos en el lumen después de la administración de la forma de dosificación.

Sólo cuando estos factores se reproducen adecuadamente, es posible predecir los factores limitantes a la absorción.

Además de esos factores, la permeabilidad del fármaco a la pared intestinal tiene un papel crucial en el mantenimiento de las condiciones Sink (menos del 20% de la concentración de saturación), que se requieren para la mayor velocidad de disolución posible. Para fármacos altamente permeables, probablemente, las condiciones Sink se mantienen, ya que la velocidad de disolución por unidad de área superficial será constante y muy cercana a la velocidad inicial (35).

Para fármacos menos permeables, la velocidad de disolución por unidad de área superficial decrecerá con el tiempo debido a la concentración gradual de fármaco en solución dentro del lumen.

Las condiciones lumbales en el tracto varían ampliamente en cada sujeto y entre sujetos. La variabilidad interindividual se debe a diferencias genéticas en la

población (como es el caso de la frecuencia cardiaca, la función hepática y otros parámetros fisiológicos) tanto como los estados de enfermedad del aparato digestivo.

La variabilidad intrasujetos puede deberse al ciclo circadiano, ingesta de alimentos, nivel de actividad física y el nivel de estrés, entre otros (15).

2.3. La absorción de los fármacos.

2.3.1. Factores limitantes en la velocidad de absorción de fármacos.

Esencialmente, existen cuatro factores que dan lugar a la absorción incompleta después de una administración oral de una forma de dosificación sólida (15):

- 1.- El fármaco no es liberado de la forma farmacéutica sólida en el tiempo apropiado para tenerlo en solución en los sitios del tracto gastrointestinal donde es absorbido (solubilidad).
- 2.- El fármaco se descompone o forma complejos no absorbibles.
- 3.- El fármaco no se transporta adecuadamente a través de la pared intestinal desde la zona apical a la basal (permeabilidad).
- 4.- El fármaco se metaboliza y/o elimina antes de llegar a la circulación sistémica.

Todas estas posibilidades se ilustran en el siguiente esquema (15):

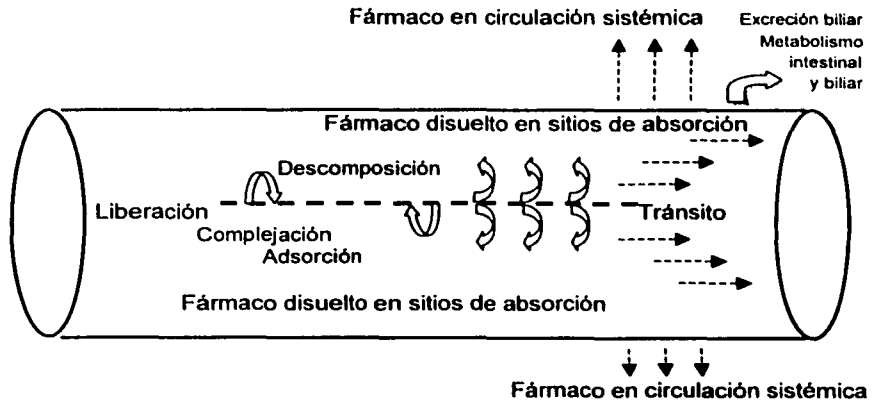


Fig. 2 Pasos en la absorción y fuentes que afectan la biodisponibilidad de los fármacos de administración oral.

2.3.2. La influencia de los alimentos en la absorción.

Los fármacos de administración oral se absorben como consecuencia de una serie de interacciones entre el fármaco, su formulación y el tracto gastrointestinal (GI). La presencia de alimentos dentro del GI impacta significativamente el tránsito, el pH y la solubilidad del fármaco. Es por ello, que se puede esperar que los alimentos afecten la absorción de fármacos coadministrados cuando sus propiedades fisicoquímicas son sensibles a tales cambios(11). La presencia de alimentos en el tracto GI puede alterar marcadamente la biodisponibilidad de ciertos fármacos, por cambios en la velocidad y/o en el grado de absorción, metabolismo presistémico, y en el aclaramiento sistémico del fármaco. Estos cambios pueden conducir a variaciones en la eficacia y en los perfiles de toxicidad ya que los medicamentos se administran bajo diferentes condiciones de alimentación y consumo de líquidos. Este tipo de conocimiento es muy importante desde el punto de vista de desarrollo y clínico.

Aquellos fármacos que son altamente lipofílicos, por ejemplo el danazol, la griseofulvina y en general los fármacos de Clase II de la Clasificación Biofarmacéutica se absorben mejor cuando se administran conjuntamente con los alimentos, atribuible a cambios en la velocidad de tránsito, la salida de bilis y a un incremento en el volumen de fluido en el estado postprandial, así mismo las interacciones específicas con los alimentos pueden contribuir a la mejora en absorción (18).

Dado que el carácter y la magnitud del efecto de los alimentos en la biodisponibilidad es una función del fármaco, la dosis, la naturaleza de la formulación, el tamaño y composición de los alimentos, así como la relación temporal entre la ingesta y la administración del medicamento (11), en la actualidad se recomienda evaluar la influencia de los alimentos en la biodisponibilidad de los fármacos.

2.3.3. Mecanismos fisicoquímicos y fisiológicos relacionados con efecto de los alimentos en la absorción (10).

La explicación fisicoquímica de la modificación de la biodisponibilidad de fármacos al ser administrados postprandialmente, es la cascada de digestión de lípidos

que aumenta la humectabilidad y la solubilidad de los compuestos, así como la modulación del pH en el tracto gastrointestinal lo que influye en el grado de ionización y solubilidad del fármaco.

A pesar de las interacciones físicas y químicas que se pueden presentar entre fármacos y la composición específica de los alimentos, la absorción postprandial generalmente se ve alterada en función de los cambios asociados con la conversión del estado preprandial y postprandial. Cambios debidos a:

- Secreción de ácido gástrico, bilis y fluidos pancreáticos,
- Modificación de la motilidad gástrica e intestinal, y
- Alteraciones en sangre y flujo de linfa tienen gran impacto en la absorción.

2.3.3.1. Los lípidos y el ambiente intestinal postprandial.

Los lípidos son el principal componente de los alimentos que pueden afectar la absorción de fármacos. La ingestión de lípidos disminuye la motilidad gástrica, y los productos de su digestión en el duodeno inducen la secreción de fluidos biliares y pancreáticos que pueden alterar el ambiente luminal. Los productos de digestión de grasas y aceites pueden modificar la capacidad de algunos fármacos de interactuar con las micelas. Si la forma de farmacéutica contiene excipientes grasos (por ejemplo formulaciones de cápsulas de gelatina blanda) y/o el fármaco es muy lipofílico, será mejor considerar la adición de monoglicéridos, diglicéridos, lipasas al medio para simular la fase aceitosa y la digestión. En la figura 3 se muestra el mecanismo por el cual la digestión de los lípidos puede influenciar la absorción de los fármacos (11).

2.3.3.2. Composición luminal del tracto gastrointestinal.

Además de los alimentos y las bebidas que se ingieren con la forma farmacéutica, en el tracto se secretan diferentes fluidos, que incluyen, ácido clorhídrico, bicarbonato, enzimas, tensoactivos, electrolitos, moco y agua, los cuales pueden afectar la solubilidad y la velocidad de disolución de los fármacos.

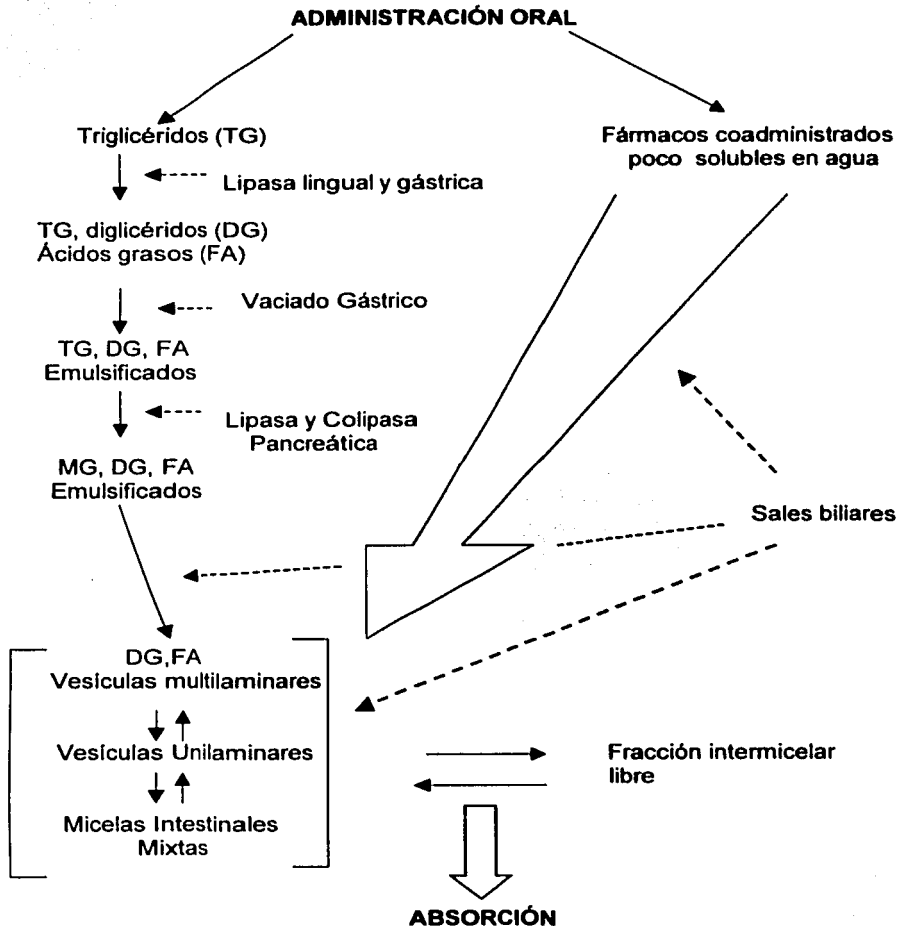


Fig. 3 La digestión lipídica y su relación con la absorción (11).

2.3.3.3. El pH y la Capacidad Amortiguadora (15).

Los valores de pH gástricos preprandiales pueden fluctuar de minuto a minuto en un rango de pH de 1 a 7, pero en jóvenes caucásicos sanos el pH gástrico preprandial se encuentra por debajo de 3 en el 90% de los sujetos. Así que un medio conveniente para simular el estado preprandial gástrico tendrá valores de pH entre 1.5 y 2.0. Un pH gástrico preprandial de 6 o mayor se encuentra en dos subpoblaciones: aquellas que reciben terapia con bloqueadores de ácido gástrico y aquellos con edad superior a 65 años. Con la ingesta de alimentos, el jugo gástrico es amortiguado inicialmente en un pH ácido menor, que depende de la composición de la comida. El pH gástrico típico que sigue a la ingesta de alimentos se encuentra en un rango de 3 a 7. Dependiendo de la cantidad de alimento, el pH regresa a los valores preprandiales en dos o tres horas. De esta manera, solo la forma farmacéutica ingerida con o después de los alimentos enfrentará un pH gástrico elevado bajo condiciones fisiológicas normales.

El pH intestinal es considerablemente mayor al gástrico debido a la neutralización del ácido por los iones bicarbonato secretados por el páncreas. Además existe un gradiente de pH en el intestino delgado, con valores que gradualmente van aumentando del duodeno al íleon. El pH del colon está muy influenciado por productos de reacciones de exoenzimas bacterianas. Los carbohidratos sin digerir que pasan al colon se convierten en ácidos grasos de cadena corta (C2-C4) que bajan el pH local alrededor de 5. Los valores de pH a lo largo del intestino (15) se muestran en la tabla:

Tabla 2. El pH en el Intestino Delgado.

SECCIÓN	PH EN EL ESTADO PREPRANDIAL	PH DEL ESTADO POSTPRANDIAL
Duodeno medio y distal	4.9	5.2
	6.1	5.4
	6.3	5.1
	6.4	
Yeyuno	4.4-6.5	5.2-6.0
	6.6	6.2
Íleon	6.5	6.8-7.8
	6.8-8.0 (rango)	6.8-8.0
	7.4	7.5

El pH en la capa adyacente a la superficie sólida en disolución es también un factor importante para la disolución de fármacos ionizables. La solubilidad intrínseca, la constante de ionización del fármaco, el pH del medio y la capacidad amortiguadora del medio determinan el pH en los "microclimas" circundantes al sólido en disolución.

2.3.3.4. Tensoactivos (15).

La tensión superficial del fluido gástrico es considerablemente menor a la del agua, sugiriendo la presencia de tensoactivos en esa región.

Los valores normales en el estado preprandial se encuentran entre 35 y 45 mN/m. En el intestino delgado la secreción de bilis incrementa sustancialmente las concentraciones biliares y lecitina que forman micelas incluso en el estado preprandial.

Se ha reportado que las concentraciones de sales biliares en el estado preprandial van de 3 a 5 mM en el intestino delgado proximal. Aunque las concentraciones varían interindividualmente los valores promedio son similares en el duodeno y en el yeyuno. Los niveles caen rápidamente en el íleon donde las sales biliares se absorben por mecanismos de transporte activo y son insignificantes en el colon en individuos sanos.

Después de la ingestión de los alimentos, la salida de bilis y las concentraciones lumbales de componentes biliares llegan a su máximo a los 30 minutos aproximadamente. Después, los niveles disminuyen por la dilución con el quimo. El nivel máximo promedio se encuentra alrededor de 5 mM en el intestino delgado proximal. Después que la vesícula biliar se vacía al intestino delgado, los niveles duodenales fluctúan más con la ingesta de alimentos que los del intestino delgado distal.

2.3.3.5. Enzimas (15).

La principal enzima que se encuentra en el jugo gástrico es una exopeptidasa, la pepsina. Como respuesta a la ingesta de alimentos el páncreas secreta lipasas,

amilasa y proteasas hacia el intestino delgado. Estas enzimas son las responsables de la digestión de todos los nutrientes. La pepsina y las proteasas pancreáticas son una de las principales amenazas a la estabilidad de las proteínas y péptidos en el lumen, mientras que la lipasas pueden afectar la liberación de fármacos de formas farmacéuticas que contengan aceites o grasas.

Las bacterias que predominan en el íleon distal y en el colon también secretan diversas enzimas.

En la tabla 3 se presentan las enzimas que se encuentran en el tracto gastrointestinal.

Tabla 3. Enzimas presentes en el tracto intestinal.

ENZIMA (PROENZIMA)	% SALIDA	SUSTRATOS	PRODUCTOS
Tripsina (tripsinógeno)	33	Proteínas/ polipéptidos	Péptidos, aminoácidos
Quimotripsina (quimotripsinógeno)	16	Proteínas/ polipéptidos	Péptidos, aminoácidos
Carboxipeptidasa A (procarboxipeptidasa)	12	Proteínas/ polipéptidos	Aminoácidos
Carboxipeptidasa B (procarboxipeptidasa)	9	Proteínas/ polipéptidos	Aminoácidos
Elastasa (proelastasa)	8	Proteínas/ polipéptidos	Aminoácidos
Ribonucleasa	1	Ácidos nucleicos	Mononucleótidos
Lipasa 1	8.5	Triglicéridos	Monoglicéridos
Lipasa 2	3.4	Triglicéridos	Monoglicéridos
Aamilasa	3.6	Polisacáridos	Disacáridos, trisacáridos

La capacidad de las enzimas para romper ciertos enlaces se ha utilizado para el diseño de formas farmacéuticas para liberación en el colon, como polímeros azo y algunos hidrogeles.

2.3.3.6. Sales Biliares y Lecitina en los estados pre- y postprandial (15).

Las principales diferencias entre las condiciones gástricas e intestinales son la presencia de bilis y pH alto en el intestino. Las sales biliares y lecitina facilitan la humectabilidad de los sólidos y la solubilidad de fármacos lipofílicos a través de micelas

y con ello los fármacos pueden mejorar su disolución considerablemente en relación con lo observado en agua.

La *solubilización micelar* se define como el paso espontáneo de las moléculas de soluto de una sustancia insoluble en agua a una solución acuosa con un tensoactivo la cual es termodinámicamente estable. Este proceso comprende la difusión de los solutos (insolubles) de la mezcla inicial a las micelas del tensoactivo (5).

Las soluciones acuosas con tensoactivo muestran un cambio más o menos abrupto en sus propiedades físicas en un rango pequeño de concentraciones. Este cambio se debe a la formación de agregados orientados o micelas. Así en una concentración baja se encuentra en forma de solución y en una concentración mayor se encuentra en forma de micelas. El rango estrecho de concentraciones a las cuales las micelas se empiezan a formar se conoce como *concentración crítica micelar* o *CMC* (5).

Las sales biliares ejercen un papel importante en la digestión y absorción de los lípidos de la dieta. Se ha reconocido que los productos de la ruptura de las grasas (ácidos grasos y monoglicéridos) son absorbidos a través de la mucosa intestinal a partir de una solución micelar compuesta principalmente por ácidos grasos, monoglicéridos y conjugados de las sales biliares. Así que se ha considerado la posibilidad de que fármacos insolubles pueden ser absorbidos por un mecanismo que incluye una solubilización preliminar por las micelas de sales biliares normalmente presentes en el intestino(38).

Las sales biliares y la lecitina son dos de los principales componentes de la bilis y están presentes en una proporción molar de 2:1 a 5:1 y son esenciales para la formación de micelas mixtas (34).

Los niveles de bilis, que son considerablemente mayores en el estado postprandial que en el preprandial, también son importantes para la disolución de fármacos. Varios estudios han demostrado que compuestos como el danazol, indometacina y griseofulvina se disuelven más rápido en presencia de sales biliares (33), deduciendo así que la presencia bilis puede llevar al incremento en la absorción

de ciertos compuestos poco solubles.

El taurocolato de sodio se ha considerado como el mejor representante de las sales biliares porque el ácido cólico es uno de los ácidos más abundantes en la bilis humana (15).

En estudios recientes, se ha utilizado el taurocolato de sodio por su estabilidad y consistencia con la CMC en el rango de pH utilizado, y por su importancia como componente endógeno de la bilis. La CMC es 4.0mM a 40°C y tiene una fuerza iónica de 0.15. Concentraciones de 0.10 - 1.0 mM de taurocolato representan niveles por debajo de CMC, un valor de 4.0 mM corresponde a la media de CMC y los valores de 10.0 - 20.0 mM se encuentran por arriba de la CMC. Este rango de valores concuerda con el rango encontrado en el intestino delgado bajo condiciones normales (38).

Una concentración adecuada de sales biliares para simular las condiciones preprandiales se halla entre 3 y 5 mM, la lecitina está presente en una proporción 1:3 respecto a las sales biliares representativas de la proporción *in vivo* que usualmente se encuentra entre 1:2 y 1:5 (15).

La lecitina es el principal fosfolípido en la bilis humana. Tiene un papel esencial en la solubilización de las grasas de la dieta, y puede facilitar la disolución de fármacos a partir de formas de dosificación orales. La lecitina se ha encontrado que puede influir en la disolución de esteroides en soluciones de sales biliares (34).

Se ha comprobado que la lecitina y el colesterol, que son componentes normales de la bilis, así como los ácidos grasos y monoglicéridos, que son productos de digestión lipídica, forman micelas combinadas con los conjugados de las sales biliares en el intestino delgado que también favorecen la absorción de los solutos a través de la mucosa intestinal (5).

2.3.3.7. La hidrodinámica del tracto gastrointestinal.

2.3.3.7.1. Volumen (15).

El volumen de fluido disponible en el tracto gastrointestinal para la disolución de los fármacos es dependiente del volumen de fluido coadministrado, secreciones y el flujo de agua a través de la pared del intestino. Normalmente se ingieren 2L al día, aunque varía considerablemente con el clima, peso, actividades y hábitos.

El volumen del estómago en el ayuno es de 20 a 30 mL , en su mayor parte se encuentra como moco, más que como un fluido. La presión gástrica empieza a aumentar cuando el volumen es alrededor de 1.5 L o más.

Las secreciones de los órganos paraintestinales (glándulas salivales, hígado, páncreas), así como la de las secreciones estomacales, son recibidas por la primera porción de duodeno. Esas secreciones endógenas, con un total de 6L por día son esenciales para la digestión de los alimentos.

Se secretan 1-2 L de jugo pancreático aproximadamente hacia el duodeno en un periodo de 24 horas, mientras que el total de bilis en ese periodo se encuentra alrededor de 600 mL.

Además, el intestino secreta cerca de 1L de agua por día, para constituir el moco fundamentalmente.

Los volúmenes en el intestino delgado varían respecto a la tonicidad de los alimentos, es decir, son volúmenes que se ajustan de acuerdo a la presión osmótica. Los niveles de fluido tienden a ser menores en porciones más distales. Sólo cerca de 1.5 litros son presentados en el colon diariamente, de los cuales aproximadamente 1.3 L son absorbidos y el resto forma parte de las heces.

2.3.3.7.2. Patrones de mezclado en el intestino (15).

La hidrodinamia en el tracto, se refiere a los patrones de mezclado de los contenidos lumbinales y éstos tienen un papel muy importante en la disolución a través de su influencia en espesor de la capa adyacente del sólido en disolución.

En el tracto gastrointestinal superior existen cuatro patrones de motilidad:

a) estado de inactividad (quiescencia), b) movimientos por segmentos, c) movimientos de propagación (cortos o largos) y contracciones tónicas.

En el estómago en ayuno, existen periodos largos de baja o nula actividad motora. Las contracciones inician cada dos horas, las cuales se van haciendo más frecuentes y más fuertes hasta que culminan en un máximo de actividad que vacía los contenidos del estómago al intestino. La fase quiescente puede ser modelada en un sistema estacionario. A la fecha, no se han desarrollado modelos de la hidrodinámica del estómago en la fase más activa en los estados pre y postprandial.

En cuanto respecta al intestino, existen datos que consideran el cambio de motilidad por segmentos a propagativa en función de los estados pre y postprandiales.

Las contracciones por segmentos ocurren en distancias muy pequeñas generalmente menores a 2 cm y sirven para mezclar los contenidos luminales completamente.

Por otro lado, movimientos cortos propulsivos son el movimiento principal por los cuales los contenidos luminales son llevados por el intestino. Esto mueve generalmente el quimo a distancia de máximo 15 cm.

Con el cambio de la actividad por segmentos a la propulsiva en función de la fase, del patrón de movimiento y de la ingesta de alimentos, la eficiencia en la absorción también cambia. En el estómago y en el intestino delgado, los movimientos de los contenidos luminales son casi siempre en dirección distal.

2.3.3.7.3. Velocidad de flujo del tracto gastrointestinal (15).

La velocidad de vaciado puede ser tan rápida como 40mL/min, inmediatamente después de una ingesta de 400mL de solución salina isotónica.

Sin embargo, cuando se ingieren volúmenes pequeños en la fase quiescente de la actividad motora gástrica, la velocidad de vaciado, puede ser no detectada.

Los fluidos nutritivos se vacían del estómago de acuerdo a una cinética de orden cero, y son dependientes de la concentración calórica. Con una densidad calórica de 1 kcal/mL de se vacían de 2-2.5 mL/min, mientras que 0.2 kcal/mL se vacían cerca de

10 mL/min.

Los valores del flujo en el intestino delgado se encuentran entre 0 y 2mL/min, con una media de 0.73 mL/min en el yeyuno y 0.43 mL/min en el íleon.

Después de comer, el flujo se incrementa, en promedio, a 3 mL/min y 2 mL/min respectivamente con valores en un rango de 0 - 77 mL/min.

2.3.3.7.4. Tiempo total de residencia en el tracto gastrointestinal.

El tiempo total de tránsito impone un límite a la duración del perfil de liberación de la forma farmacéutica. Los tiempos de tránsito totales reportados recientemente son de dos a seis horas para sustancias de baja densidad y mayores de 80 horas para sustancias de alta densidad (28).

El tiempo total de tránsito comprende los tiempos de residencia en el esófago, estómago, intestino delgado, grueso y recto. En ausencia de condiciones patológicas el tiempo de residencia en el esófago para la mayoría de las formas de dosificación está en orden de segundos a minutos por lo que no se toma en consideración.

La residencia gástrica es muy variable, ya que depende de los patrones de motilidad, anteriormente descritos, y de la ingesta de alimentos; mientras que el tiempo de residencia en el intestino es relativamente constante. En el intestino grueso, solo la residencia en la sección proximal es la que parece ser relevante para la liberación de fármacos, mientras que la liberación y absorción en la sección transversa y en los segmentos distales se ve impedida por la escasez de fluidos disponibles y por la formación y almacenamiento de heces fecales (15).

2.4. Medios de disolución empleados para semejar el estado pre y postprandial.

Los medios de disolución recomendados a la fecha son:

- Fluido Intestinal Simulado en Estado Preprandial (Fasted State Simulated Intestinal Fluid, FASSIF).
- Fluido Intestinal Simulado en Estado Postprandial (Fed State Simulated

Intestinal Fluid, FESSIF).

Estos medios han sido diseñados para reproducir las condiciones preprandiales y postprandiales en el tracto gastrointestinal. Han sido utilizados por su capacidad para discriminar entre la disolución de varios compuestos poco solubles de administración oral, cuyo comportamiento de disolución puede ser dependiente de la ingesta de alimentos (19).

- LECHE ultrapasteurizada parcialmente descremada. Se ha propuesto como medio de disolución para simular las condiciones gástricas postprandiales ya que la proporción carbohidratos:proteínas:grasas es similar a la dieta típica occidental (31).

Una diferencia clave entre los estudios de disolución con medios de farmacopeas y los medios biorrelevantes es que no se hace ningún ajuste para obtener condiciones Sink. En el caso de fármacos de la Clase II, las condiciones Sink en la prueba *in vitro* pueden no considerarse cuando se utilizan sistemas cerrados como es el caso del aparato II. Para la simulación de la disolución en el estómago esto no representa un problema, ya que la absorción a través de la mucosa gástrica es casi nula. En el caso de fármacos altamente permeables, se asume que las condiciones Sink existen en el intestino debido a la rápida remoción del fármaco del fluido luminal vía absorción. La composición de los componentes gástricos en el estado postprandial es altamente dependiente de la comida ingerida, así que es difícil diseñar un medio que pudiera ser universalmente aplicable (35).

2.4.1. El volumen y la capacidad amortiguadora de los medios propuestos (16).

El volumen en el que un fármaco se disuelve está en función del volumen del fluido coadministrado así como de las secreciones en el lumen por los órganos paragastrointestinales, las cuales se secretan a diferentes velocidades, dependiendo de las condiciones existentes en el tracto, ya sea en respuesta a la ingesta de alimentos, en respuesta a condiciones patológicas o incluso en respuesta a cierto tipo de

fármacos. Así que es necesario ajustar el volumen de medio de acuerdo al sitio del tracto gastrointestinal que será simulado y las condiciones de administración. Cuando se utiliza el aparato 2 de la USP (paletas), se utilizan los siguientes volúmenes como aproximación a los volúmenes disponibles en el tracto gastrointestinal: 300-500 mL para ayuno estomacal, 900 mL para estómago postprandial, 500mL para intestino preprandial y 900 –1000 mL para intestino postprandial.

En el estado preprandial intestinal se ha reportado que la capacidad amortiguadora es mucho menor que en el estado postprandial o incluso en el medio de disolución oficial, así que se utiliza un buffer de fosfatos para sustituir el amortiguador fisiológico, bicarbonato, evitando así la inestabilidad en el pH por la reacción con el oxígeno. El valor de pH seleccionado es 6.5, que es generalmente representativo de los valores medios de el duodeno medio al ileon.

En el medio postprandial intestinal se utiliza un buffer de acetatos en lugar de fosfatos para alcanzar el máximo amortiguamiento y osmolaridad mientras se mantiene el pH representativo duodenal en el estado postprandial (pH=5).

2.4.2. Duración de las pruebas de disolución (15).

La duración de las pruebas de disolución debe ajustarse considerando el tiempo que tarda el fármaco en llegar a los sitios de absorción.

Si un fármaco se absorbe mejor en el duodeno y se administra en ayuno, una prueba de disolución en un medio que simule las condiciones gástricas en ayuno con una duración de 15 a 30 minutos se considera apropiada (15).

Por otro lado, si un fármaco se administra con alimentos, y se absorbe bien en el intestino delgado y en el intestino grueso proximal se puede considerar una duración de 10 horas, con cambios apropiados en la composición del medio.

Sin embargo el caso más común es cuando el fármaco es razonablemente bien absorbido en el intestino delgado pero no muy bien absorbido en el colon, y es administrado en ayuno.

En el presente estudio se realizaron los perfiles en dos horas, partiendo de que

el prazicuantel alcanza su máxima concentración plasmática en dos horas aproximadamente.

2.4.3. Agitación.

En general la mayoría de los datos disponibles con respecto a la hidrodinamia del tracto gastrointestinal son cualitativos y no conducen a la interpretación en términos para ser capaces de seleccionar un patrón de flujo o agitación en un aparato de disolución.

La capacidad de los aparatos de disolución para simular la hidrodinamia de patrones de flujo en el tracto gastrointestinal todavía es dudosa ya que estudios han sido usados para comparar los aparatos con las condiciones *in vivo* consisten principalmente en correlaciones *in vitro/in vivo* empíricas.

El trabajo reciente de Katori, por ejemplo, indica que para preparaciones de liberación controlada de acetaminofén, condiciones de agitación baja correlacionan mejor con los resultados *in vivo* (15).

Debido a la amplia variedad de patrones de mezclado que se encuentran en el tracto gastrointestinal la selección de una velocidad de flujo o velocidad de rotación en un aparato no puede ser usado para simular todas las condiciones de motilidad en el tracto gastrointestinal.

Se necesita mayor investigación para establecer las condiciones adecuadas para productos de liberación prolongada e inmediata.

En el presente estudio, se utilizaron 100 r.p.m., en el Aparato 2 (Paletas), considerando la viscosidad de los medios y los reportes de otros estudios de disolución en los mismos medios (16)(18).

CAPÍTULO III. SECCIÓN EXPERIMENTAL

3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

REACTIVOS

- Prednisona S. Ref. USP, Lote K-1
- Ácido Salicílico S. Ref. USP, Lote J.
- Tabletas calibradoras de prednisona USP, Lote M.
- Tabletas calibradoras de Ácido Salicílico USP, Lote N.
- Cisticid Tabs. Merck México Lote M12083
- Estándar de Prazicuantel, lote 69938 (Merck- México)
- Estándar de Diazepam, lote 9700004333.
- Acetonitrilo HPLC, Mallinckrodt.
- Agua HPLC
- Agua Desionizada
- Metanol R.A., Mallinckrodt.
- Acetona R.A., Mallinckrodt.
- Ácido Clorhídrico R.A. (37%), Baker Analyzed
- Ácido Acético Glacial R.A., Baker Analyzed
- Eter Isopropílico, Baker Analyzed Lote 9243
- Acetato de Etilo R.A., Mallinckrodt Lote 4992 KLBE
- Nitrógeno
- Lauril sulfato de sodio, Sigma
- Hidróxido de Sodio, Mallinckrodt Lote 7708KLCK
- Lecitina, Sigma Lote 128H8002
- Taurocolato de Sodio, Sigma Lote 70K843
- Cloruro de Potasio, Baker Analyzed A50463
- Fosfato Monobásico de Potasio, J.T. Baker, Lote N19C16
- Leche Semidescremada Ultrapasteurizada

EQUIPOS

- Disolutor Vankel 7000
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución, HP 1050
- Precolumna C18 (Waters Guard-PaK) Wat080041
- Columna C18 (Waters)
- Balanza Analítica Sartorius Mod-1800
- Espectrofotómetro UV-Vis, Shimadzu
- Vortex Thermoline
- Potenciómetro Beckman ♦4ipH-meter
- Agitador Horizontal ORBIT
- Centrífuga Beckman Modelo TJ-6
- Baño de Agua Yamato BT-25
- Filtros de Teflón Millipore
- Muestreadores 9 cm Millipore

3.2. Selección del Medicamento.

El producto conteniendo PZQ empleado en el presente estudio fue CISTICID tabletas de 600mg, lote M12083, donado por Merck México.

3.3. Calibración del Disolutor Vankel 7000.

Antes de realizar el estudio se llevó a cabo la calibración del disolutor, la cual consistió en la calibración mecánica y la calibración química.

La calibración mecánica se realizó evaluando los siguientes parámetros: control de temperatura y control de revoluciones por minuto tanto de las paletas como de los vástagos de las canastas.

También se llevó a cabo una inspección de todas las partes mecánicas del disolutor como son: el estado de las paletas, canastas y vasos, bamboleo de los vástagos, dimensiones de las paletas y canastas, perpendicularidad de los vástagos, dimensiones y centrado de los vasos, nivel de los vasos y equipo en general, vibración y longitud de los muestreadores.

Después de la calibración mecánica y del aseguramiento de su correcto funcionamiento, se realizó la calibración química, que comprendió el uso de tabletas de prednisona desintegrantes y tabletas de ácido salicílico no desintegrantes. En ambos casos se utilizaron lotes vigentes USP tanto de estándar como de tabletas, los cuales ya tienen en su caso los valores aceptados para la aprobación de la prueba.

Los medios de disolución se prepararon el mismo día de la prueba. Para ácido salicílico se emplearon 900 mL de buffer de fosfatos de pH 7.4 y 500 mL de agua para la prueba con prednisona, a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, y siguiendo los lineamientos que marca la USP XXIV.

La calibración se llevó a cabo de acuerdo con los lineamientos del procedimiento P.E.O: BIOF.CA-200 del Laboratorio 113 de Biofarmacia del Conjunto E de la Facultad de Química.

3.4. Pruebas de Control de Calidad.

Las pruebas realizadas se llevaron a cabo de acuerdo con lo descrito en la USP XXIV, las cuales fueron: Valoración, Uniformidad de Dosis y Disolución.

3.4.1. Valoración.

3.4.1.1. Preparación de la solución de referencia.

Se pesaron 18 mg de PZQ S. Ref., se disolvieron en fase móvil y se aforó a 10 mL. Se tomó una alícuota de 1 mL, se transfirió a un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con la misma fase móvil. La concentración final fue 0.18 mg/mL.

3.4.1.2. Preparación de la solución de la muestra.

Se pesaron diez tabletas, se pulverizaron finamente y se pesó el equivalente a 150 mg de principio activo. Se disolvieron en 100 mL de fase móvil (ACN/H₂O 60:40) y se tomó una alícuota de 3 mL que se llevó a un volumen final de 25 mL con fase móvil, obteniéndose así una concentración semejante a 1 de la solución de referencia. Esta solución se preparó por triplicado.

3.4.1.3. Procedimiento.

Se inyectaron las muestras y referencia en el cromatógrafo, utilizando las siguientes condiciones cromatográficas: volumen de inyección de 20 µL, flujo de 1.5 mL/min, longitud de onda de 217 nm., columna C18 Spherisorb 4.6x 250mm con 5 µm de tamaño de partícula y fase móvil: Acetonitrilo / Agua (60:40).

3.4.1.4. Cálculo.

Para obtener la cantidad de prazicuantel por muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad PZQ} = 2500 \left(\frac{C}{3} \right) \left(\frac{r_u}{r_s} \right)$$

C : concentración del estándar (mg/mL)

r_u : respuesta promedio de las muestras (mAbs)

r_s : respuesta de la referencia (mAbs)

Para obtener el Porcentaje de principio activo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%PZQ = \text{CantidadPZQ} \times 100 \div 150$$

Especificación: Contiene no menos del 90.0% y no más del 110.0% de la cantidad de PZQ indicada en el marbete.

3.4.2. Uniformidad de dosis (Variación de masa).

3.4.2.1. Preparación de la solución de referencia.

Se pesaron exactamente 18 mg de prazicuantel S. Ref., se transfirió dicha masa a un matraz aforado de 10 mL, se disolvió y llevó al volumen con fase móvil. Se tomó una alícuota de 1 mL y aforó a 10 mL con fase móvil, obteniendo una concentración final de 0.18 mg/mL.

3.4.2.2. Preparación de la solución de la muestra.

Se tomaron al azar 10 unidades de dosificación del producto y se pesaron individualmente. Se trituraron y mezclaron homogéneamente, se pesó el equivalente a 150 mg de prazicuantel. Transferida dicha masa a un matraz aforado de 100 mL y disuelta en 70 mL de fase móvil, se sonicó durante 5 minutos, se llevó a volumen utilizando la misma fase y se filtró. Se tomaron 3 mL del filtrado y se llevaron a un volumen de 25 mL con fase móvil.

La concentración resultante fue 0.18 mg/mL aproximadamente.

3.4.2.3. Procedimiento.

Las muestras y la referencia se inyectaron en el cromatógrafo, utilizando las siguientes condiciones cromatográficas: volumen de inyección de 20 μ l, flujo de 1.5 mL/min, longitud de onda de 217 nm, columna C18 Spherisorb 4.6x 250mm con 5 μ m de tamaño de partícula.

3.4.2.4. Cálculo.

Para obtener el % de PZQ por tableta se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% PZQ / \text{tab} = \text{Peso individual (mg)} \times \% PZQ \text{ de valoración} / \text{Peso promedio tabs. (mg)}$$

Especificación: Contiene no menos del 90.0% y no más del 110.0% de la cantidad de prazicuantel indicada en el marbete por tableta y el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 6%.

3.4.3. Prueba de disolución.

Esta prueba se realizó utilizando el Aparato No. 2 (paletas) en 900 mL de HCl 0.1 N con 2 mg/mL de laurilsulfato de sodio como medio de disolución. La velocidad de agitación fue 50 r.p.m., la temperatura fue $37^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y se tomó la muestra a los 60 minutos.

Especificación: No debe disolverse menos del 80 % en 60 min (Q = 75%).

3.4.3.1. Procedimiento.

- A cada uno de los vasos se transfirió un volumen de 900 mL de medio de disolución.
- Se programó el disolutor con las condiciones de la prueba inciso 3.4.3.
- Una vez que se obtuvo la temperatura de 37°C , se colocaron las unidades de dosificación (con 60 segundos de diferencia entre cada una).
- Para determinar el % disuelto se tomó una muestra de 3 mL a los 60 minutos. El análisis se llevó a cabo utilizando un método espectrofotométrico previamente validado.

3.4.3.2. Calculo de % Disuelto de PZQ.

Las absorbancias de las muestras se interpolaron en la curva patrón y se determinó la concentración.

Para determinar el % disuelto se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Disuelto} = \text{Concentración (mg/mL)} \times 900 \text{ (mL)} \times 100 / 600 \text{ (mg)}$$

3.5. Estudios de perfil de disolución simulando las condiciones *in vivo*.

Los medios de disolución utilizados fueron los siguientes:

- **Medio de disolución USP XXIV.**
- **Fluido Intestinal Simulado en Estado de Ayuno (FASSIF).**
- **Fluido Intestinal Simulado en Estado Postprandial (FESSIF).**
- **LECHE Semidescremada ultrapasteurizada (2.8% grasa).**

En la tabla 4 se presenta la composición de los medios de disolución empleados, justificada en las secciones anteriores.

Tabla 4. Composición de los medios de disolución utilizados en el estudio.

MEDIO USP XXIV		MEDIO FASSIF		MEDIO FESSIF		LECHE	
HCl R.A.	8.5 mL	KH ₂ PO ₄	3.9 g	Ácido Acético	8.65 g	Carbohidratos	48 g
Laurilsulfato De sodio	2 g	NaOH	qs pH=6.5	NaOH	qs pH=5	Proteínas	31 g
Agua destilada	qs 1L	Taurocolato de Sodio	3mM	Taurocolato de Sodio	15 mM	Grasas	28 g
		Lecitina	0.75 mM	Lecitina	3.75 mM	Sodio	0.5 g
		KCl	7.7 g	KCl	15.2 g	Agua	qs 1L
		Agua desionizada	qs 1L	Agua desionizada	qs 1L		
% GRASAS	0.0	% GRASAS	0.1	% GRASAS	0.5	% GRASAS	2.8

3.6. Métodos analíticos para cuantificar prazicuantel en los diferentes medios de disolución.

3.6.1. Método analítico para cuantificar prazicuantel en el medio USP XXIV.

El método analítico empleado para el medio USP XXIV fue espectrofotométrico.

- Solución Estándar de PZQ.

Se pesaron 167.5 mg de PZQ S.Ref. y se llevaron a un volumen final de 25 mL con Metanol R.A., para obtener una concentración de 6.7 mg/mL.

- Solución Estándar de PZQ a partir de Tabletas de PZQ.
Se pulverizaron finamente 5 tabletas de PZQ. Se pesó el equivalente a 167.5 mg de PZQ y se disolvió 10 mL de Metanol R.A.. Se filtró la solución anterior en papel y se llevó a un volumen final de 25 mL con el mismo disolvente, para obtener así una solución de 6.7 mg/mL aproximadamente.
- Solución Estándar de PZQ (Estándar Adicionado).
Se pesaron 125 mg de PZQ S.Ref. y se llevaron a un volumen de 25 mL con Metanol R.A., obteniendo una concentración de 5 mg/mL.

3.6.1.1. Curva Patrón de PZQ en medio USP XXIV.

A partir de la solución estándar de PZQ (6.7 mg/mL) se tomaron diversas alícuotas y se llevaron a diferentes volúmenes con el medio de disolución, como se indica en la tabla 5.

Tabla 5. Diluciones para la curva patrón en medio USP XXIV

ALÍCUOTA Sol. 6.7 mg/mL (mL)	VOLUMEN FINAL (mL)	CONCENTRACIÓN FINAL (mg/mL)	EQUIVALENTE A % DISUELTO
3	25	0.804	120
1	10	0.670	100
2	25	0.536	80
3	50	0.402	60
1	25	0.268	40
1	50	0.134	20

Las soluciones se leyeron en espectrofotómetro a 263 nm.

3.6.2. Método analítico para cuantificar prazicuantel en el medio FASSIF.

El método analítico utilizado para la cuantificación de prazicuantel en FASSIF fue un método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución

- Solución Estándar de PZQ.

Se pesaron 100 mg de PZQ y se llevaron a un volumen de 10 mL con acetona R.A., obteniendo una concentración final de 10 mg/mL.

- Solución ACN/H₂O 60:40

3.6.2.1. Curva Patrón de PZQ en medio FASSIF.

De la solución estándar de 10 mg/mL se tomó una alícuota 3 mL y se llevó al un volumen final de 25 mL con medio FASSIF, obteniendo una concentración de 1200 µg/mL a partir de la cual se realizaron las siguientes diluciones consecutivas:

Tabla 6. Diluciones para la curva patrón en medio FASSIF

SOLUCIÓN No.	ALÍCUOTA (mL)	VOLUMEN FINAL (mL)	CONCENTRACIÓN (µg/mL)
1	5 (1200 µg/mL)	10	600
2	5 (sol. 1)	10	300
3	5 (sol. 2)	10	150
4	5 (sol. 3)	10	75
5	5 (sol. 4)	10	37.5
6	5 (sol. 5)	10	18.75

3.6.2.2. Preparación de las muestras en FASSIF.

De las soluciones anteriores se realizó una dilución 1:10 con Solución ACN/H₂O (60:40) para obtener concentraciones de 120, 60, 30, 15, 7.5, 3.75, 1.875 µg/mL y se inyectaron directamente al cromatógrafo.

3.6.3. Método analítico para cuantificar prazicuantel en el medio FESSIF.

El método analítico utilizado para la cuantificación de prazicuantel en FESSIF fue un método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

- Solución Estándar de PZQ

Se pesaron 100 mg de PZQ y se llevaron a un volumen de 10 mL con acetona R.A., obteniendo una concentración final de 10 mg/mL.

- Solución ACN/H₂O 60:40

3.6.3.1. Curva Patrón de PZQ en medio FESSIF.

De la solución estándar de 10 mg/mL se tomó una alícuota 700 μ L se llevó a un volumen final de 10 mL con medio FESSIF, obteniendo una concentración de 700 μ g/mL a partir de la cual se realizaron las diluciones consecutivas que se muestran en la tabla 7:

Tabla 7. Diluciones para la curva patrón en medio FESSIF.

SOLUCIÓN No.	ALÍCUOTA (mL)	VOLUMEN FINAL (mL)	CONCENTRACIÓN (μ g/mL)
1	5 (700 μ g/mL)	10	350
2	5 (sol.1)	10	175
3	5 (sol.2)	10	87.5
4	5 (sol.3)	10	43.75
5	5 (sol.4)	10	21.87
6	5 (sol.5)	10	10.93

3.6.3.2. Preparación de las muestras en FESSIF.

De las soluciones anteriores se realizó una dilución 1:10 con Solución ACN/H₂O (60:40) para obtener concentraciones de 70, 35, 17.5, 8.75, 4.37, 2.18, 1.09 μ g/mL y se inyectaron directamente al cromatógrafo.

3.6.3.3. Condiciones cromatográficas generales.

En todos los casos, las condiciones utilizadas fueron:

Columna de octadecil silano (C18) Waters de 4.6x250 mm, con tamaño de partícula de 5 μ m, marca Waters.

Fase Móvil: Acetonitrilo/ Agua (45:55)

Flujo: 1.5 mL/min

Longitud de onda: 217 nm.

3.6.4. Método analítico para cuantificar prazicuantel en LECHE.

El método analítico utilizado para la cuantificación de prazicuantel en leche fue un método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (22).

- Solución Estándar de PZQ
Se pesaron 100 mg de PZQ y se llevaron a un volumen de 10 mL con acetona R.A., obteniendo una concentración final de 10 mg/mL.
- Solución de Diazepam (Estándar Interno)
Se pesaron 10 mg de Diazepam S. Ref y se llevaron a un volumen de 10 mL con Metanol R.A.
Se tomó una alícuota de 1 mL y se llevó a un aforo de 10 mL con el mismo disolvente, obteniendo una concentración final de 0.1 mg/mL.
- Solución ACN/H₂O (60:40)
- Solución de NaOH 0.2 M.
Se pesaron 0.8g de NaOH, y se disolvieron en agua desionizada y llevaron a un volumen de 100 mL.
- Mezcla de Extracción Eter Isopropílico/ Acetato de Etilo (70:30)
- El producto comercial utilizado fue leche semidescremada ultrapasteurizada (2.8 % en grasa).

3.6.4.1. Curva Patrón de PZQ en LECHE.

De la solución estándar de 10 mg/mL se tomó una alícuota 700 μ L se llevó al un volumen final de 10 mL con leche, obteniendo una concentración de 700 μ g/mL a partir de la cual se realizaron las siguientes diluciones consecutivas:

Tabla 8. Diluciones para la curva patrón en LECHE.

SOLUCIÓN No.	ALÍCUOTA (mL)	VOLUMEN FINAL (mL)	CONCENTRACIÓN (μ g/mL)
1	5 (700 mg/mL)	10	350
2	5 (sol. 1)	10	175
3	5 (sol. 2)	10	87.5
4	5 (sol. 3)	10	43.75
5	5 (sol. 4)	10	21.87
6	5 (sol. 5)	10	10.93

3.6.4.2. Preparación de las muestras en LECHE.

De las soluciones anteriores se realizó una dilución 1:10 con Solución ACN/H₂O (60:40) para llegar obtener concentraciones de 70, 35, 17.5, 8.75, 4.37, 2.18, 1.09 µg/mL.

3.6.4.3. Extracción de la muestra en LECHE.

Se tomó 1 mL de la solución anterior, se le adicionaron 50 µL de Estándar interno, 1 mL de Solución de NaOH 0.2 M y 4 mL de la mezcla de Extracción. Se colocó en agitación horizontal a 150 r.p.m. por 20 min.

Posteriormente se centrifugaron las muestras a 3000 r.p.m. por 15 minutos. Se extrajo la fase orgánica y se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 40°C. El residuo se reconstituyó en 1 mL de Solución ACN/H₂O (60:40).

Se inyectaron 20 µL al sistema cromatográfico. Las condiciones cromatográficas utilizadas para la leche fueron las mismas que se describen en la sección 3.6.3.3. En este caso se utilizó precolumna C18 marca Waters.

Las respuestas analíticas que se utilizaron para los cálculos fueron: absorbancia para el medio USPXXIV, altura del pico de PZQ para FASSIF y FESSIF y la relación PZQ/DZP para la leche.

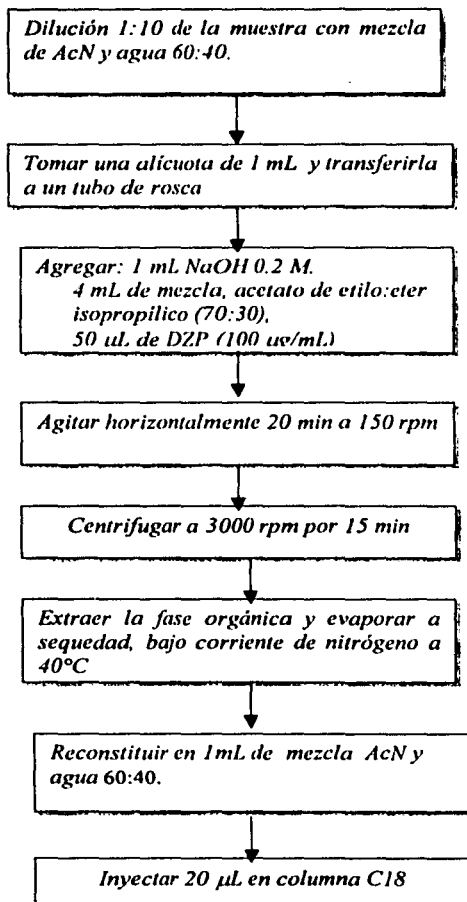


Fig. 4 Diagrama de tratamiento de las muestras en leche.

3.7. Validación de los métodos analíticos para la cuantificación de prazicuantel en los medios de disolución: USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE (36).

3.7.1. Linealidad del Sistema.

Se prepararon tres curvas patrón independientes de PZQ en los siguientes rangos de concentraciones: de 0.134 a 0.804 mg/mL para el medio USP, 1.875 a 60 µg/mL para el medio FASSIF, 1.1 a 70 µg/mL para los medios FESSIF y LECHE.

Se calculó la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación.

Especificación: La linealidad del sistema debe tener un coeficiente de regresión mayor o igual a 0.99 y un error relativo a la regresión de no mayor al 2%.

3.7.2. Precisión del Sistema.

Para valorar este parámetro se calculó el promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación de las curvas correspondientes a la linealidad de sistema.

Especificación: El coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor al 2%.

3.7.3. Linealidad del Método.

Para el medio USP XXIV este parámetro fue evaluado con el método de Estándar Adicionado, cuya metodología se describe a continuación.

a) Se preparó una curva patrón en el medio de disolución con la S. Ref. en el rango de concentraciones de 0.134 a 0.804 mg/mL.

b) A partir de una solución estándar de PZQ proveniente de las tabletas de PZQ (3.6.1.), se prepararon tres curvas patrón en el rango de concentración de 0.334 a 1.004 mg/mL, considerando en cada concentración 1 mL de una solución estándar de

PZQ de 5mg/mL en metanol (3.6.1) que elevó en 0.2 mg las concentraciones de sistema. Se determinó su absorbancia a 263 nm. Se calculó la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación.

En la tabla 9 se muestran las diluciones para las curvas de método.

Tabla 9. Diluciones para la curva de método en medio USP XXIV.

SOLUCION No.	Alicuota de Estándar (mL) (5 mg/mL)	Alicuota (mL) Sol. Tabs. 6.7 mg/mL	Volumen final (mL)	Concentración final (mg/mL)
1	1	0.5	25	0.334
2	1	1.0	25	0.468
3	1	1.5	25	0.602
4	1	2.0	25	0.736
5	1	2.5	25	0.870
6	1	3.0	25	1.004

Dado que en los medios FASSIF, FESSIF y LECHE se utilizó un método cromatográfico, la linealidad del método se evaluó preparando curvas patrón por triplicado en cada medio como se describe en las secciones 3.6.2.1., 3.6.3.1. y 3.6.4.1.

Especificación: El coeficiente de regresión debe ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo a la regresión no mayor al 3%.

3.7.4. Precisión de los métodos.

Este parámetro se evaluó en cada uno de los medios como repetibilidad a partir de curvas de patrón preparadas el mismo día por el mismo analista. Se calculó promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Especificación: Se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor al 3%.

3.7.5. Exactitud.

Para el medio USP XXIV la exactitud se evaluó calculando por extrapolación, la concentración correspondiente al intercepto de la curva de estándar adicionado (método). El cual debe corresponder a la cantidad adicionada.

Para los medios FASSIF, FESSIF y LECHE, este parámetro se evaluó a través del porcentaje de recuperación obtenido de los valores de altura de las curvas patrón de sistema (en Acetona R.A.) y de las curvas de método preparadas por duplicado el mismo día, donde el 100% correspondió al promedio de las respuestas de las curvas de sistema.

Especificación: El promedio del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal en más de 3%.

3.7.6. Estabilidad.

En el caso del medio USP XXIV se preparó la solución correspondiente al 60% disuelto (0.402 mg/mL) y se determinó su absorbancia a las: 0, 1, 2, 3 hrs. La prueba se llevó a cabo en las mismas condiciones sin protección de la luz.

Para los medios FASSIF, FESSIF y LECHE, se prepararon dos soluciones: 14 y 70 µg/mL. Se tomó una muestra inicial y después se introdujeron en baño de temperatura constante (37°C) por dos horas, se tomó una muestra a cada hora. Posteriormente se sacaron las soluciones del baño, se dejó reposar por una hora, y se tomó la última muestra.

Las respuestas analíticas se interpolaron en la curva preparada el mismo día. Se determinó la concentración en cada una de ellas.

Especificación: La concentración final no debe alterarse en más del 10% en relación a la inicial conforme el paso del tiempo.

3.7.7. Selectividad.

Este parámetro no se evaluó para el medio para el medio USP XXIV, ya que no se contaba con la mezcla de excipientes de la formulación.

Para los medios FASSIF, FESSIF y LECHE la selectividad se evaluó preparando las siguientes soluciones: prazicuantel en fase móvil, forma farmacéutica en fase móvil, soluciones de prazicuantel en los diferentes medios. Las muestras fueron analizadas por cromatografía de líquidos.

Especificación: No debe existir interferencia entre el pico cromatográfico del PZQ y otros compuestos.

3.7.8. Influencia del filtro.

Para evaluar la influencia del filtro en el medio USP XXIV se prepararon dos soluciones de PZQ, 0.268 y 0.670 mg/mL y se leyó la absorbancia inicial de la solución, posteriormente se tomó un volumen de purga el cual se desechó. Se volvió a tomar una muestra la cual se le leyó en el espectrofotómetro. Este procedimiento se realizó tres veces sucesivas con el mismo filtro y con tres filtros diferentes para cada concentración.

Para los otros medios, se prepararon por triplicado dos soluciones de PZQ, 14 y 70 $\mu\text{g/mL}$ para FASSIF y FESSIF y 17.5 y 50 $\mu\text{g/mL}$ para LECHE. Se tomó una muestra de cada solución inicial y después se tomó con el muestreador y el filtro de teflón una muestra purga que se desechó; se volvió a tomar una muestra dispuesta para el análisis respectivo por cromatografía de líquidos de alta resolución. Dicha operación se realizó siete veces sucesivas con el mismo filtro y con tres filtros diferentes para cada concentración.

Para cada uno de los filtros se determinó la variación de la concentración de la muestra sin filtrar, hasta el último filtrado.

Especificación: Los valores de concentración no deben verse modificados conforme se

filtra la solución, obteniendo un porcentaje de recuperación después de las filtraciones no menor al 95%.

3.8. Estudio de perfiles de disolución en los diferentes medios de disolución.

El estudio se llevó a cabo, utilizando el aparato II (paletas) usando filtros de teflón en todos los casos.

En la tabla 10 se presentan las condiciones y tiempos de muestreo utilizados para la realización de los estudios de disolución en cada uno de los medios.

Tabla 10. Condiciones y tiempos de muestreo de los estudios de disolución en los diferentes medios

MEDIO DE DISOLUCIÓN	VOLUMEN (mL)	TEMPERATURA (°C)	AGITACIÓN (r.p.m.)	TIEMPOS DE MUESTREO (min)
USP XXIV	900	37.0± 0.5	50	5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120
FASSIF	500	37.0± 0.5	100	10, 20, 30, 45, 60, 90, 120
FESSIF	900	37.0± 0.5	100	10, 20, 30, 45, 60, 90, 120
LECHE	900	37.0± 0.5	100	10, 20, 30, 45, 60, 90, 120

3.8.1. Procedimiento.

- A cada uno de los vasos se transfirió el volumen correspondiente de medio de disolución.
- Se programó el disolutor con las condiciones de la prueba.
- Una vez que se obtuvo la temperatura de 37±0.5 °C, se colocaron las unidades de dosificación (con 60 segundos de diferencia entre cada una).
- Se tomaron muestras de 3 mL en cada uno de los tiempos reconstituyendo el medio.
- Se analizaron las muestras utilizando métodos previamente validados.

3.8.2. Cálculo de % Disuelto de PZQ.

Las respuestas analíticas se interpolan en la curva patrón correspondiente para obtener la concentración de cada muestra.

Para calcular el % disuelto se utilizó la siguiente fórmula:

- Medio USP XXIV

$$\% \text{ Disuelto} = \text{Concentración (mg/mL)} \times \text{Volumen de medio (mL)} \times 100 / 600 \text{ mg}$$

- Medios FASSIF, FESSIF, LECHE

$$\% \text{ Disuelto} = \text{Concentración (mg/mL)} \times 10 \times \text{Volumen de medio (mL)} \times 100 / 600 \text{ mg}$$

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Pruebas de Control de Calidad

4.1.1. Valoración.

Los resultados mostraron un valor de *100.8%*.

4.1.2. Uniformidad de dosis.

La uniformidad de dosis expresada como variación de masa se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Uniformidad de dosis

<i>TABLETA</i>	<i>PESO (g)</i>	<i>% PZQ</i>
1	0.9001	100.60
2	0.9055	101.20
3	0.9142	102.17
4	0.9034	100.97
5	0.8999	100.57
6	0.9002	100.61
7	0.9037	101.00
8	0.8959	100.13
9	0.8961	100.15
10	0.9002	100.61
PROMEDIO	0.9019	<i>100.80</i>
DESV	0.0053	<i>0.59</i>
C.V. (%)	0.5872	<i>0.59</i>

4.1.3. Disolución USP XXIV.

En la tabla 12 se presentan los resultados del % disuelto a los 60 min.

Tabla 12. Disolución USP XXIV.

Tiempo (min)	% DISUELTO						PROMEDIO
	vaso 1	vaso 2	vaso 3	vaso 4	vaso 5	vaso 6	
60	95.0	95.7	94.3	90.2	96.9	90.1	93.8

4.2. Validación de los métodos analíticos para la cuantificación de prazicuantel en los medios de disolución: USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.

4.2.1. Linealidad de Sistema.

En la tabla 13 se muestran los valores promedio de las respuestas obtenidas de las tres curvas de sistema para USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE. Las gráficas correspondientes se presentan en las figuras 5, 6, 7 y 8.

Tabla 13. Linealidad de Sistema para cuantificación de PZQ en los diferentes medios.

MEDIO USP XXIV		MEDIO FASSIF		MEDIO FESSIF		LECHE	
Conc. (mg/ mL)	ABS. PROMEDIO (CV)	Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (CV)	Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (CV)	Conc. (µg/ mL)	ALTURA PZQ/DZP PROMEDIO (CV)
0.134	0.155 (1.0)	1.875	3.978 (2.0)	1.1	2.416 (0.9)	1.1	0.178 (1.7)
0.268	0.312 (0.5)	3.75	8.040 (0.6)	2.2	4.855 (1.3)	2.2	0.334 (1.4)
0.402	0.459 (0.7)	7.5	16.117 (0.1)	4.4	9.773 (0.3)	4.4	0.657 (1.7)
0.536	0.612 (0.6)	15	32.292 (1.8)	8.8	19.494 (0.6)	8.8	1.394 (2.5)
0.67	0.758 (0.6)	30	63.455 (0.4)	17.5	40.233 (0.9)	17.5	2.769 (2.6)
0.804	0.926 (0.3)	60	126.55 (0.6)	35	78.619 (0.9)	35	5.589 (1.8)
		120	252.547 (0.6)	70	155.293 (1.0)	70	10.885 (2.3)
R2*	1.00	R2	1.00	R2	1.00	R2	1.00
R*	1.00	R	1.00	R	1.00	R	1.00
m*	1.136	m	2.103	m	2.222	m	0.156
b*	0.003	b	0.329	b	0.265	b	0.015
C.V.*	0.6	C.V.	0.9	C.V.	0.9	C.V.	2.0
Err*	1.4	Err	1.7	Err	3.6	Err	6.6

Donde:

*R2 corresponde al coeficiente de determinación, R es el coeficiente de correlación, m representa la pendiente, b a la ordenada al origen, C.V. es el coeficiente de variación promedio y Err es el error relativo a la regresión.

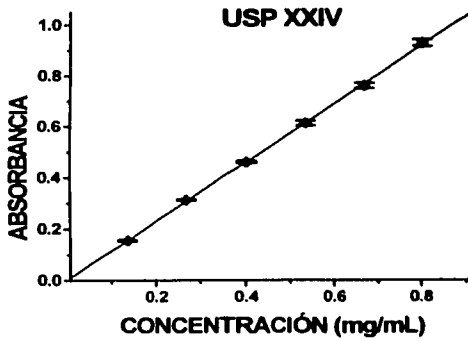


Fig. 5. Linealidad de Sistema USP XXIV

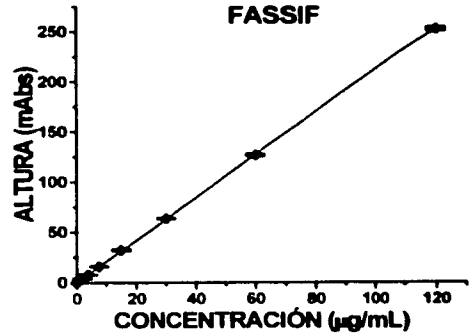


Fig. 6. Linealidad de Sistema FASSIF

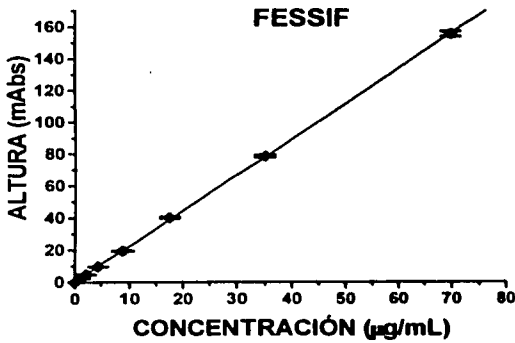


Fig. 7. Linealidad de Sistema FESSIF

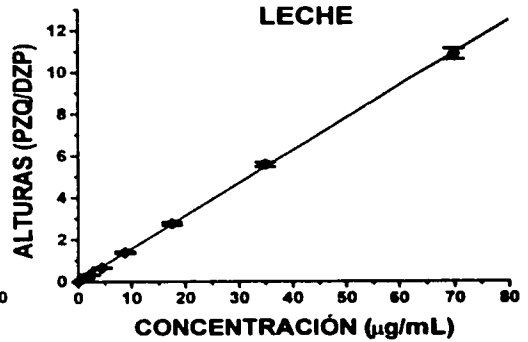


Fig. 8. Linealidad de Sistema LECHE

4.2.2. Precisión del Sistema.

Los resultados de precisión del Sistema para Medio USP XXIV, FASSIF, FESSIF, y LECHE se muestran en las tablas 14, 15, 16 y 17.

Tabla 14. Precisión Sistema USP XXIV

Conc. (mg/mL)	PROMEDIO (ABS)	DESV.	C.V. (%)
0.134	0.155	0.002	1.0
0.268	0.312	0.002	0.5
0.402	0.459	0.003	0.7
0.536	0.609	0.003	0.6
0.67	0.763	0.000	0.6
0.804	0.919	0.003	0.3
<i>PROMEDIO</i>			<i>0.6</i>

Tabla 15. Precisión Sistema FASSIF

Conc. (µg/mL)	ALTURA PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.875	3.978	0.078	2.0
3.75	8.040	0.047	0.6
7.5	16.117	0.021	0.1
15	32.292	0.574	1.8
30	63.455	0.266	0.4
60	126.550	0.777	0.6
120	252.547	1.524	0.6
<i>PROMEDIO</i>			<i>0.9</i>

Tabla 16. Precisión Sistema FESSIF

Conc. (mg/mL)	ALTURA PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.1	2.416	0.022	0.9
2.2	4.855	0.062	1.3
4.4	9.773	0.033	0.3
8.8	19.494	0.126	0.6
17.5	40.233	0.373	0.9
35.0	78.619	0.736	0.9
70.0	155.293	1.615	1.0
<i>PROMEDIO</i>			<i>0.9</i>

Tabla 17. Precisión Sistema LECHE

Conc. (mg/mL)	ALTURAS PZQ/DZP PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.1	0.1776	0.003	1.7
2.2	0.3344	0.005	1.4
4.4	0.6569	0.011	1.7
8.8	1.3941	0.035	2.5
17.5	2.7690	0.071	2.6
35.0	5.5887	0.099	1.8
70.0	10.8845	0.253	2.3
<i>PROMEDIO</i>			<i>2.0</i>

4.2.3. Linealidad de Métodos.

Medio USP XXIV.

Los valores promedio de las respuestas analíticas de las curvas de linealidad de método en cada uno de los medios probados se exponen en la tabla 8 y las gráficas correspondientes se muestran en las figuras 9,10, 11 y 12.

Tabla 18. Linealidad de Método, PZQ en los diferentes medios de disolución.

MEDIO USP XXIV		FASSIF		FESSIF		LECHE	
Conc. (mg/ mL)	PROMEDIO (ABS) (C.V.)	Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (C.V.)	Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (C.V.)	Conc. (µg/ mL)	PZQ/DZP PROMEDIO (C.V.)
0.334	0.395 (0.7)	1.875	3.865 (1.8)	1.1	2.542 (0.6)	1.1	0.1775 (6.0)
0.468	0.542 (0.9)	3.75	7.636 (0.8)	2.2	5.146 (0.5)	2.2	0.3291 (8.6)
0.602	0.695 (0.8)	7.5	15.391 (0.4)	4.4	10.275 (0.5)	4.4	0.6203 (2.9)
0.736	0.846 (0.7)	15	30.463 (1.0)	8.8	20.771 (1.1)	8.8	1.1565 (5.0)
0.870	0.995 (0.8)	30	61.630 (1.1)	17.5	41.574 (1.0)	17.5	2.3343 (5.0)
1.004	1.150 (0.3)	60	121.400 (1.7)	35	81.615 (1.4)	35	4.8684 (4.5)
		120	246.133 (1.8)	70	159.817 (0.4)	70	10.6567 (2.3)
R2	1.00	R2	1.00	R2	1.00	R2	1.00
R	1.00	R	1.00	R	1.00	R	1.00
m	1.129	m	2.048	m	2.285	m	0.151
b	0.015	b	-0.158	b	0.584	b	-0.127
C.V.	0.7	C.V.	1.3	C.V.	0.8	C.V.	4.9
Err	1.3	Err	4.9	Err	3.6	Err	14.5

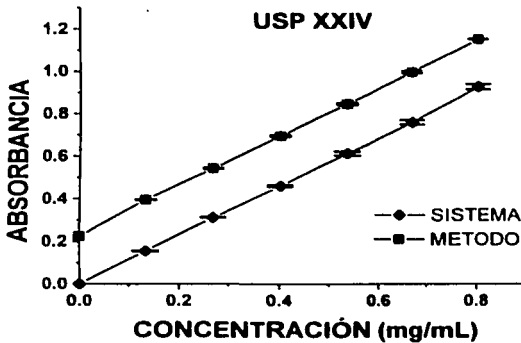


Fig. 9. Linealidad de Método USP XXIV

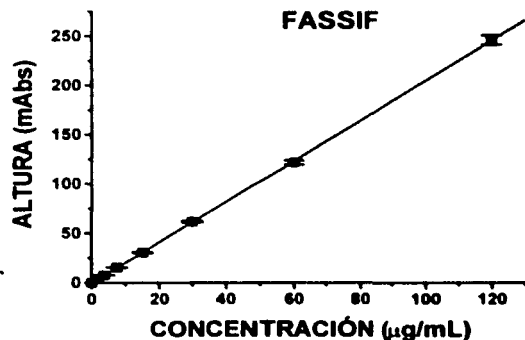


Fig. 10. Linealidad Método FASSIF

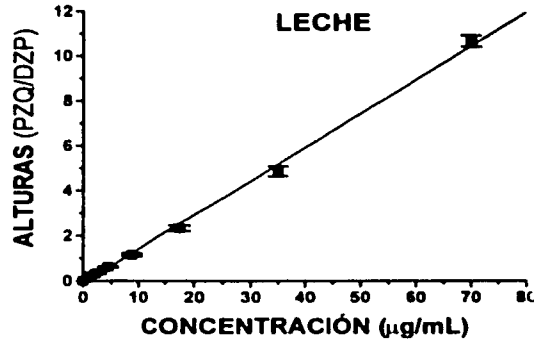
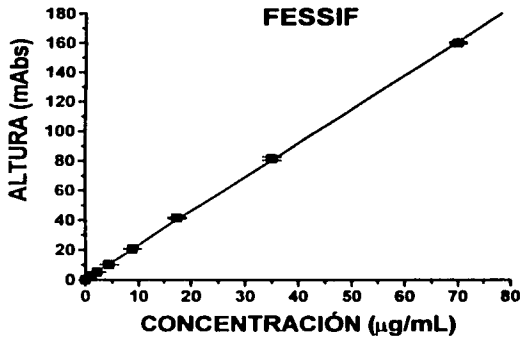


Fig. 11. Linealidad Método FESSIF

Fig. 12. Linealidad Método LECHE

4.2.4. Precisión de los métodos.

Los valores de la precisión de los métodos evaluados como repetibilidad se presentan en las tablas 19, 20, 21 y 22 para cada medio.

Tabla 19. Precisión de Método USP XXIV

Conc. (mg/ mL)	PROMEDIO (Abs)	DESV.	C.V. (%)
0.334	0.395	0.002	0.7
0.468	0.542	0.004	0.9
0.602	0.695	0.005	0.8
0.736	0.846	0.006	0.7
0.87	0.995	0.008	0.8
1.004	1.152	0.004	0.3
PROMEDIO			0.7

Tabla 20. Precisión de Método FASSIF

Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.875	3.86	0.068	1.8
3.75	7.64	0.061	0.8
7.5	15.39	0.061	0.4
15	30.46	0.315	1.0
30	61.63	0.697	1.1
60	121.40	2.109	1.7
120	246.13	4.663	1.9
PROMEDIO			1.3

Tabla 21. Precisión de Método FESSIF

Conc. (µg/ mL)	ALTURA PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.1	2.5417	0.0163	0.6
2.2	5.1463	0.0267	0.5
4.4	10.2747	0.0512	0.5
8.8	20.7707	0.2366	1.1
17.5	41.5737	0.4321	1.0
35.0	81.6153	1.1815	1.4
70.0	159.8167	0.7072	0.4
	PROMEDIO	0.8	

Tabla 22. Precisión de Método LECHE

Conc. (µg/ mL)	PZQ/DZ PROMEDIO (mAbs)	DESV.	C.V. (%)
1.1	0.1775	0.0104	5.9
2.2	0.3291	0.0282	8.6
4.4	0.6203	0.0182	2.9
8.8	1.1565	0.0577	5.0
17.5	2.3343	0.1183	5.1
35.0	4.8684	0.2193	4.5
70.0	10.6567	0.2466	2.3
	PROMEDIO	4.9	

4.2.5. Exactitud.

Los % de recobro en cada uno de los medios se muestran en las tablas 23, 24 y 25.

Para el medio USP XXIV la cantidad de PZQ calculada del intercepto de la curva de método fue 201.92 µg/mL, que equivale a 100.1%

Tabla 23. Exactitud FASSIF.

Conc. (µg/ mL)	ACETONA ALTURA PROMEDIO (mAbs)	FASSIF ALTURA PROMEDIO (mAbs)	% RECUPE RACIÓN
1.875	3.482	3.249	93.3
3.75	6.382	6.239	97.8
7.5	12.404	12.420	100.1
15.	24.915	25.668	103.0
30	49.643	50.288	101.3
60	100.25	101.180	100.9
120	198.88	199.83	100.5
	PROMEDIO	99.6	

Tabla 24. Exactitud FESSIF

Conc. (µg/ mL)	ACETONA ALTURA PROMEDIO (mAbs)	FESSIF ALTURA PROMEDIO (mAbs)	% RECUPE RACIÓN
1.1	2.343	2.279	97.3
2.2	4.729	4.652	98.4
4.4	9.277	9.111	98.2
8.8	18.589	18.917	101.8
17.5	36.434	36.719	100.8
35.0	74.152	74.100	99.9
70.0	148.070	150.590	101.7
	PROMEDIO	99.7	

Tabla 25. Exactitud LECHE

Conc. (µg/ mL)	ACETONA ALTURA PROM. PZQ/DZP (mAbs)	LECHE ALTURA PROMEDIO PZQ/DZP (mAbs)	% RECUPE RACIÓN
1.1	0.179	0.145	81.0
2.2	0.341	0.295	86.3
4.4	0.729	0.647	88.8
8.8	1.398	1.249	89.3
17.5	2.820	2.386	84.6
35.0	5.647	5.069	89.8
70.0	11.907	10.111	84.9
	PROMEDIO	86.4	

4.2.6. Estabilidad de la Muestra.

Los resultados de estabilidad en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE se muestran en la tabla 26.

Tabla 26. Estabilidad del PZQ en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE

MEDIOS	Conc. Teórica (µg/mL)	0 hr.	1 hr.	2 hr.	3 hr.	VARIACIÓN
USP	402	389	389	387	390	0.3
FASSIF	14	14.7	13.4	14	14.3	2.7
	70	71.1	70.3	69.7	69.8	1.8
FESSIF	14	12.8	13.1	1.4	13.4	4.6
	70	62.1	62.9	65	64.4	3.7
LECHE	14	14	13.4	12.4	13.3	5.0
	70	65.9	59.6	67.4	71.1	7.8

*Respecto al último tiempo.

4.2.7. Selectividad.

En la Figura 9 se pueden observar la rectas paralelas correspondientes a la curva de sistema y a la curva de método con estándar adicionado al emplear el método de la USP XXIV, en la tabla 27 se comparan las pendientes y ordenadas al origen de las mismas.

Tabla 27 Comparación de respuestas del Método de Estándar Adicionado (medio USP).

Solución	Concentración (mg/mL)	Respuesta simple (Abs)	Respuesta c/ estándar adicionado (Abs)	Respuesta con estándar menos respuesta simple
1	0.134	0.155	0.395	0.165
2	0.268	0.312	0.542	0.312
3	0.402	0.459	0.695	0.465
4	0.536	0.609	0.846	0.616
5	0.67	0.763	0.996	0.766
6	0.804	0.919	1.152	0.922
	<i>m</i>	1.1	1.1	1.1
	<i>b</i>	0.0	0.2	0.0
	<i>r</i>	1.0	1.0	1.0

Al emplear los medios FASSIF, FESSIF y LECHE, no se encontró interferencia de los medios en el tiempo de retención del PZQ, lo que se puede observar en las figuras 13, 14, 15, 16 y 17.

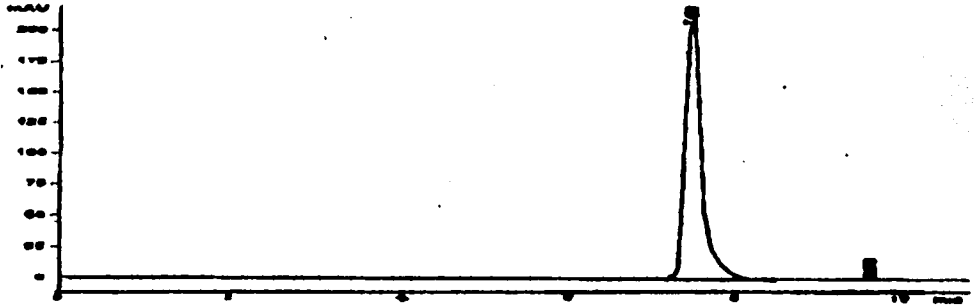


Fig. 13 Cromatograma de PZQ en fase móvil

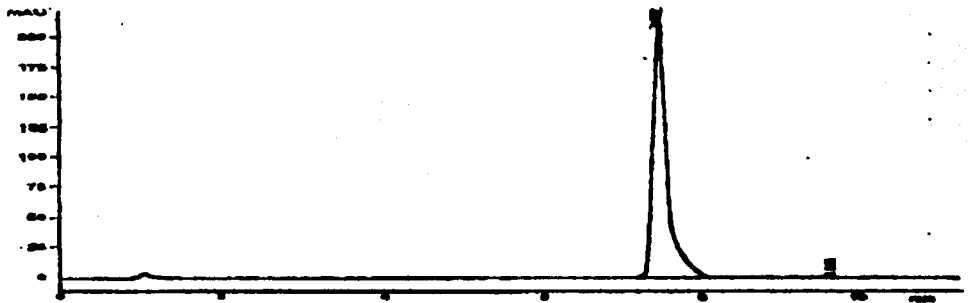


Fig. 14 Cromatograma de forma farmacéutica en fase móvil

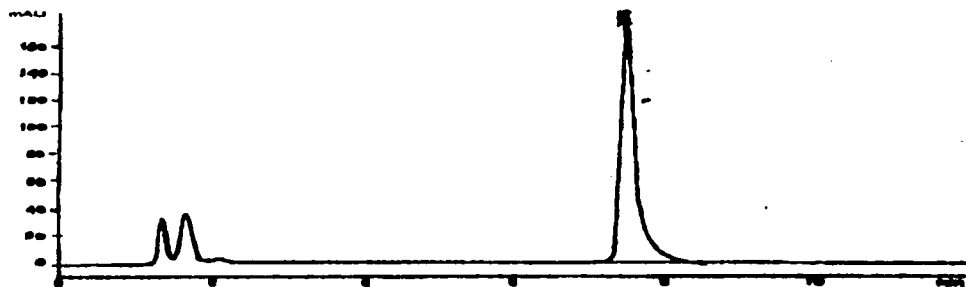


Fig. 15 Cromatograma de PZQ en medio FASSIF

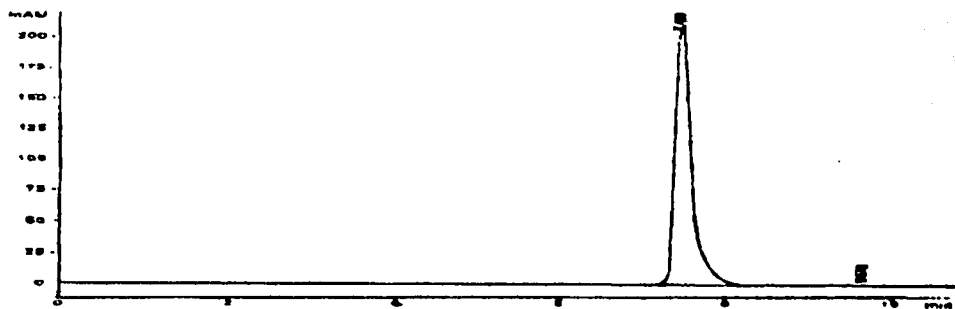


Fig. 16 Cromatograma de PZQ en medio FESSIF

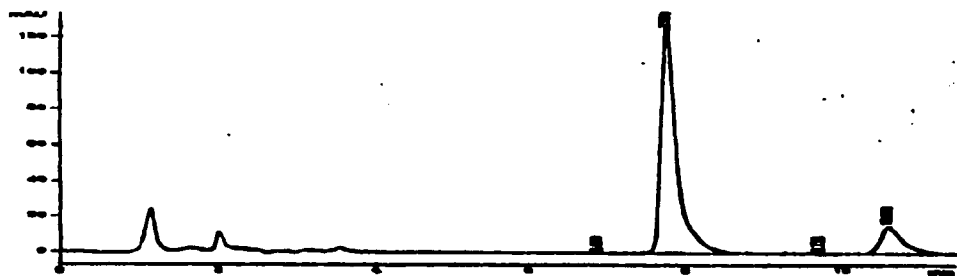


Fig. 17 Cromatograma de PZQ en LECHE

4.2.8. Influencia del filtro.

En la tabla 28 se muestran los valores promedio del recobro después de las filtraciones.

Tabla 28. Porcentaje de recobro después de las filtraciones.

MEDIOS	Sin filtrar	Último filtrado	% Recobro
USP	273	267	98
	667	676	101
FASSIF	13.7	13.1	96
	68.8	69	100
FESSIF	15.7	15.6	99
	69.1	67.4	97
LECHE	16.1	15.5	96
	44.5	43.6	98

4.3. Perfiles de Disolución.

Los valores promedio del % disuelto obtenidos en cada uno de los medios de disolución se presentan en la tabla 29 y las gráficas correspondientes se presentan en la figura 18.

Tabla 29. Promedio y Desviación estándar de %Disuelto en cada medio de disolución.

TIEMPO (min)	PROMEDIO % DISUELTO (DESV. EST)			
	USP XXIV	FASSIF	FESSIF	LECHE
5	18.8 (3.8)	*	*	*
10	41.1 (5.1)	15.5 (1.2)	21.3 (2.6)	2.0 (0.2)
15	56.9 (3.7)	*	*	*
20	66.8 (4.0)	22.2 (0.4)	36.7 (2.6)	4.7 (0.8)
30	79.1 (3.8)	24.5 (0.3)	44.4 (2.9)	8.0 (1.0)
40	86.1 (3.4)	*	*	*
45	*	25.8 (0.7)	49.9 (2.0)	12.5 (2.4)
50	90.8 (2.3)	*	*	*
60	93.8 (2.7)	27.1 (0.9)	54.6 (3.5)	16.1 (2.8)
90	99.3 (1.8)	28.6 (1.2)	58.0 (2.9)	23.6 (3.6)
120	101.4 (1.0)	29.3 (0.9)	61.8 (3.0)	30.4 (4.7)

*Tiempo de muestreo no contemplado para este medio.

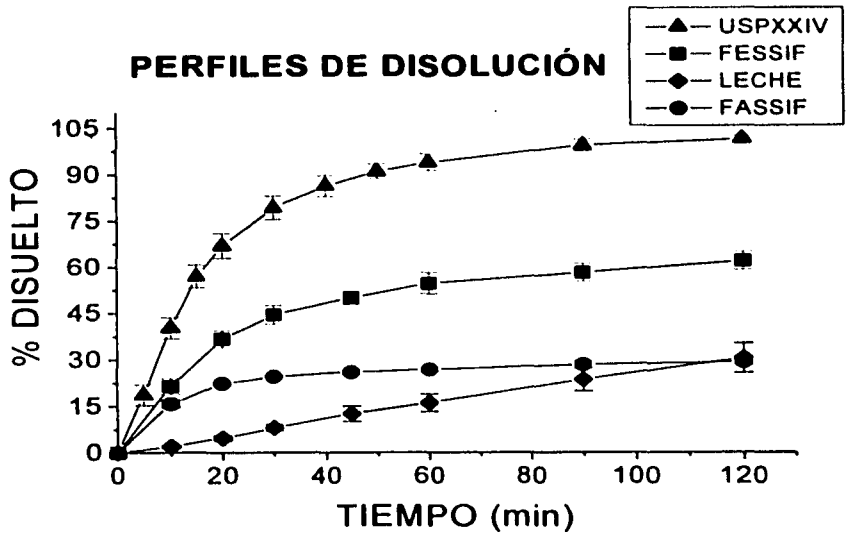


Fig. 18. Comparación de perfiles de disolución

CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1. Control de Calidad

De los resultados obtenidos de las pruebas de control de calidad se encontró lo siguiente:

La valoración del medicamento fue del 100.8% lo que indica que cumple con el criterio que indica que las tabletas contienen no menos del 90.0% y no más del 110.0% principio activo especificado en el marbete.

La uniformidad de dosis, mostró un coeficiente de variación de 0.59%, que se encuentra dentro de la especificación que señala que debe ser menor o igual a 6% (Tabla 11).

El porcentaje disuelto a los 60 minutos fue de 93.8% por lo que cumple con la especificación, ya que el límite que marca la USP es de $Q = 75\%$ del marbete.

5.2. Validación de los métodos analíticos para la cuantificación de prazicuantel en los medios USP XXIV, FASSIF, FESSIF y LECHE.

- **Linealidad de Sistema.**

De los resultados de linealidad de sistema mostrados en la tabla 13 se deduce que los sistemas son lineales en el rango de concentraciones empleados para cada medio, ya que los coeficientes de correlación fueron mayores a 0.99. En relación al error relativo a la regresión, el medio USP cumple con el criterio de aceptación (menor al 2%). Los medios restantes, no cumplen con este criterio debido a que las características fisicoquímicas, específicamente tensión superficial y densidad, no son las que se contemplan en los medios generalmente propuestos como oficiales en las farmacopeas como es el caso del medio USP.

- **Precisión de Sistemas.**

La precisión de las curvas de sistema de todos los medios utilizados, evaluadas con el coeficiente de variación cumplen con el límite de 2.0%, con promedios en el rango de 0.9 a 2.0% lo que se muestran en la tablas 14 a 17.

- **Linealidad de Métodos.**

Los métodos son lineales en el rango de concentraciones estudiados, hecho que se observa en las figuras 9 a 12. La tabla 18 muestra que el coeficiente de correlación en todos los casos es mayor a 0.99. En relación con el error relativo a la regresión (no mayor al 3%) el medio USP cumple con la especificación; se observa también que la pendiente de las curvas sin estándar adicionado y sin el mismo, tienen la misma pendiente (tabla 27).

En relación a los otros medios, no se consideró el cumplimiento de este parámetro debido a sus características fisicoquímicas, de igual manera que en la linealidad del sistema .

- **Precisión de los Métodos.**

Los resultados de precisión de los diferentes métodos evaluados como repetibilidad se muestran en las tablas 19 a 22, en donde se observa que los coeficientes de variación promedio fueron 0.7 a 1.3 para los medios USP XXIV, FASSIF y FESSIF, por lo que cumplen con el criterio de aceptación que establece que éste debe ser menor al 3%. La repetibilidad del método en LECHE mostró un coeficiente de variación de 4.9%, valor aceptable considerando que los métodos analíticos para muestras biológicas contemplan hasta un 15% como variación (36).

- **Exactitud de Métodos.**

La exactitud, evaluada como el porcentaje de recuperación, mostró valores cercanos al 100% en los medios FASSIF y FESSIF (tablas 23 y 24) mientras que en la LECHE el % de recobro en todo el rango de concentraciones varió entre 80.7 a 89.7%, con un valor medio de 86.4%. Este resultado cumple con el criterio de recuperación absoluta para el análisis químico de muestras biológicas de una prueba de

bioequivalencia (Tabla25) (36).

- **Selectividad de los Métodos.**

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron con el método del Estándar adicionado para el medio de la USP, se puede inferir que no existe interferencia por los excipientes, sin embargo este parámetro como tal no fue determinado, debido a que no se contaba con el placebo del medicamento.

En relación a los demás medios, los cromatogramas nos señalan la selectividad de los métodos debido a que no se presentan señales que interfieran en el tiempo de retención del compuesto de interés.

- **Estabilidad de Muestras.**

De acuerdo a los datos obtenidos de las pruebas de estabilidad en las condiciones anteriormente descritas (tabla 26) se encontró que las muestras fueron estables ya que no varió en mas del 10% la concentración, lo que permitió realizar su análisis de forma adecuada.

- **Influencia de filtro.**

El filtro de teflón no interfirió con la muestra en ninguno de los medios, lo que se demuestra con un porcentajes de recuperación muy cercanos al 100% para las concentraciones probadas (tabla 28), por lo que se seleccionó para llevar a cabo el estudio.

5.3. Estudios de disolución.

En un estudio previo, llevado a cabo en el laboratorio de Neuropsicofarmacología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, se encontró que, al administrar el PZQ conjuntamente con una dieta rica en carbohidratos o una dieta rica en lípidos, los niveles en plasma fueron 5.5 y 2.3 veces más altos que en ayuno. Este estudio demostró que los alimentos, aumentan significativamente la biodisponibilidad de este fármaco, por lo que el presente trabajo surge del interés de encontrar una prueba *in vitro* que simule el comportamiento *in vivo*.

A continuación se discuten los resultados obtenidos:

Como se puede observar en la figura 18, el medio de la USP XXIV consistente en HCl 0.1 N y 2 mg/mL de laurilsulfato de sodio, es un buen medio de disolución, ya que genera un perfil con una clara fase ascendente y una meseta que corresponde prácticamente al 100% del contenido de PZQ de las tabletas. Este medio de disolución es el utilizado en las pruebas de control de calidad, sin embargo no se puede considerar que esta prueba de disolución proporcione información relevante acerca del comportamiento *in vivo*, ya que la disolución se ve favorecida por la proporción del agente tensoactivo no biológico.

Con el fin de comprender como se ve afectada la disolución en presencia de alimentos, se han desarrollado diferentes sistemas *in vitro* que combinan ácidos grasos, pH elevado y sales biliares. Asimismo se han diseñado otro tipo de medios conocidos como biorrelevantes, los cuales son: el Fluido Intestinal Simulado en estado de preprandial (FASSIF) y el Fluido Intestinal Simulado en estado postprandial (FESSIF), los cuales en base a modelos fisiológicos simulan el estado intestinal correspondiente (16)(18). La ventaja de los medios biorrelevantes, es que han mostrado mayor capacidad de discernir entre formulaciones que los medios convencionales reportados en las farmacopeas como los el medio SIF (Fluido Intestinal Simulado) (26). Se ha encontrado que la interacción de las micelas de lecitina/taurocolato contenidas en los medios, con los excipientes puede mejorar significativamente la solubilidad de algunos fármacos como es el caso de el danazol, ketoconazol y troglitazona (16).

Tomando en consideración que el prazicuantel es un fármaco que presenta una baja solubilidad en agua (0.04 g/100mL) y que es lipofílico, los medios que se seleccionaron para el presente trabajo fueron: FASSIF, FESSIF y LECHE.

Los resultados mostraron que al emplear el medio FASSIF, la forma farmacéutica alcanzó un máximo de 29.3% disuelto en dos horas, lo que equivale prácticamente a la tercera parte de la dosis, mientras que en el medio FESSIF el valor fue de 61.8%, lo cual demuestra que la disolución es mayor en presencia de alimentos.

Al realizar el análisis de varianza para los perfiles promedio con los medios de

disolución en estudio se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($F=76.779$, $\alpha=0.05$, $P\leq 0.001$).

La tabla 30 muestra la prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls entre los diferentes medios de disolución.

Tabla 30. Prueba de comparaciones múltiples Student-Newman –Keuls.

Comparación	Diferencia de medias	P	Significancia
USP vs. LECHE	66.117	<0.001	S
USP vs. FASSIF	55.717	<0.001	S
USP vs. FESSIF	34.117	<0.001	S
FESSIF vs. LECHE	32.000	<0.001	S
FESSIF vs. FASSIF	21.600	<0.001	S
FASSIF vs. LECHE	10.400	0.044	S

$\alpha=0.05$, Poder de la prueba=1.0, S=significativo

Los resultados obtenidos con los medios FASSIF y FESSIF sugieren que las sales biliares y la concentración de lecitina pueden ejercer un efecto en las características de disolución del prazicuantel. En el medio FESSIF, la disolución fue mayor aun cuando el pH fue menor, lo cual hace pensar que la absorción sería mejor en presencia de alimentos. Estos datos concuerdan de alguna manera con lo obtenido en el estudio *in vivo*.

Con base en los resultados obtenidos se encontró que el medio FESSIF es el que provee la mejor disolución, sin embargo esto no fue tan alta como lo esperado, lo cual demuestra que es necesario continuar evaluando otras condiciones que permitan simular los datos *in vivo*.

La leche ha sido un medio muy utilizado para simular condiciones de dieta, ya que contiene las proporciones de grasa:proteína:carbohidratos similares a las una dieta típica occidental (33). La solubilidad de fármacos en leche se debe a uniones no específicas de los fármacos a las micelas de caseína y/o a la partición de los compuestos altamente lipofílicos en los componentes lipídicos de la misma (34), por lo que se ha considerado que la leche es un medio apropiado para evaluar las diferencias

entre la solubilización por micelas de lecitina y sales biliares y la solubilización por los componentes de la dieta.

De los resultados del estudio empleando 900 mL de leche como medio de disolución, se encontró que la disolución es muy lenta, ya que a las 2 horas se ha disuelto un 30.4% (figura 18).

Al obtener ese resultado, se procedió a aumentar el tiempo de muestreo a 4 horas, con el fin de observar si la disolución se incrementaba, sin embargo, aún a ese tiempo el perfil no mostró una clara meseta en la fase terminal, lo que podría sugerir que después de las 4 horas el fármaco se sigue disolviéndose, tiempo que ya no puede considerarse congruente con los patrones fisiológicos.

Con base en estos resultados, se llevó a cabo un experimento, que permitiera determinar la solubilidad del PZQ en leche, para ello se colocó una tableta de PZQ en leche a 37°C durante 24 horas, sin embargo dado que la leche no mantuvo su consistencia, no fue posible determinar este parámetro.

Existen diferentes hipótesis para explicar la baja solubilidad del prazicuantel en leche. Una de ellas es la posible interacción entre los excipientes y la leche, o bien que el porcentaje de grasa de la leche fue muy bajo (2.8%) por lo que la disolución no se favoreció. Es por ello que sería conveniente evaluar la influencia del porcentaje de grasa de la leche en la disolución de este fármaco, o incluso agregar cantidades considerables de pepsina y lipasas que permitan obtener una mejor simulación.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

- El producto farmacéutico contiendo 600 mg de prazicuantel cumple con las especificaciones que marca la USP XXIV.
- Los métodos analíticos utilizados para la cuantificación de prazicuantel en el medio de la USP XXIV, FASSIF, FESSIF y leche fueron lineales, precisos, exactos, repetibles y selectivos por lo que se consideraron adecuados para realizar el estudio.
- Se encontraron diferencias entre los perfiles de disolución en los medios empleados, lo cual demuestra las diversas capacidades de los mismos para disolver al principio activo.
- Con el medio de la USP XXIV el prazicuantel se disolvió completamente en el periodo de 2 horas.
- Al utilizar los medios FASSIF y FESSIF se encontró que en el FESSIF la disolución fue mayor que en el FASSIF lo cual concuerda con lo obtenido en el estudio en humanos en relación a los estados pre y postprandiales.
- El comportamiento cinético del prazicuantel en leche se ajustó a un proceso de orden cero.

SUGERENCIAS:

- Utilizar leche con mayor contenido en grasas (mayor a 2.8%) y de esta manera determinar si el contenido en grasas influye en la velocidad de disolución del prazicuantel.
- Utilizar medios que contengan carbohidratos, para determinar la influencia que pueden tener éstos en la disolución del prazicuantel.

CAPÍTULO VII. APÉNDICES

APÉNDICE 1. REPORTE DE CALIBRACIÓN DEL DISOLUTOR VANKEL 7000

REPORTE DE CALIBRACIÓN DEL DISOLUTOR

LABORATORIO DE BIOFARMACIA 112-113 CONJUNTO E FACULTAD DE QUÍMICA
EQUIPO: VANKEL 7000 FECHA: 29 FEBRERO 2001

CALIBRACIÓN MECÁNICA

AJUSTE MECÁNICO		VASOS						LÍMITE ESPECIFICADO	CUMPLE
		1	2	3	4	5	6		
1. Rectitud de las flechas		✓	✓	✓	✓	✓	✓	<0.1 mm	CUMPLE
2. Nivel de la base y soporte de los vasos		✓	✓	✓	✓	✓	✓	Nivelados	CUMPLE
3. Perpendicularidad de las flechas (Alineación)		---	---	---	---	---	---	1.5° a la perpendicular	NO SE REALIZÓ
4. Centrado de los vasos		*	✓	*	✓	*	✓	±2mm * defecto en centradores	CUMPLE
5. Bамboleo de las flechas canastas	2 pulg	0.29	0.08	0.10	0.18	0.15	0.12	±2mm (0.75mm óptimo) a 25 rpm	CUMPLE
	6 pulg	0.36	0.48	0.46	0.43	0.24	0.20		
canasta	Bамboleo de las flechas	0.51	0.69	0.61	0.69	0.29	0.36	±2mm (0.75mm óptimo) a 25 rpm	CUMPLE
	Paletas	0.05	0.14	0.09	0.05	0.03	0.11		
6. Vibración de los vasos		✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.1mils(0.00245mm) no perceptible al tacto	CUMPLE
7. Inspección de los vasos		*	✓	✓	*	✓	✓	* despostillado o estrellado	CUMPLE
8. Diámetro interno de los vasos		10.0	10.1	10.2	10.2	10.2	10.1	10-10.5 cm	CUMPLE
9. Altura de los vasos		✓	✓	✓	✓	✓	✓	16-17.5 cm	CUMPLE
10. Inspección de las paletas		*	*	*	*	*	*	* ZONAS SIN TEFLÓN	NO CUMPLE
11. Dimensiones de las paletas		41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	42.0 mm 74-75 mm	CUMPLE
		75	74	74	74	74	74		
12. Equidistancia de las paletas		33	32	33	33	33	33	33-32 mm	CUMPLE
		33	33	33	33	33	33		
13. Inspección de las canastillas		✓	*	*	✓	✓	*	* IRREGULARIDAD DE MALLA	NO CUMPLE
14. Dimensiones de las canastillas		20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.2	20.2 ±1.0 mm (diámetro)	CUMPLE
15. Altura al fondo del vaso paletas		2.5	2.6	2.5	2.6	2.6	2.6	2.5±0.2 cm	CUMPLE
	canastas	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5		

16. Velocidad de agitación	50	51	50	50	50	49	rpm \pm 4% (50 rpm)	CUMPLE
17. Longitud de los muestreadores	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13 cm (estándar)	CUMPLE

CALIBRACIÓN QUÍMICA

TABLETAS: Ácido Salicílico

CERTIFICADO USP: Lote N

rpm	Aparato	% Disuelto							FILTRO	Límite Especificado
		Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6			
100	1	24.08	24.08	25.5	24.08	25.38	25.38	Teflón	23-29% a 30 min	
		24.43	25.03	25.83	24.08	25.62	25.03	Membrana		
100	2	20.43	21.73	23.26	19.60	19.60	19.72	Teflón	17-26% a 30 min	
		21.26	21.96	23.73	19.72	19.72	19.60	Membrana		

TABLETAS: Prednisona

CERTIFICADO USP: Lote M

rpm	Aparato	% Disuelto							FILTRO	Límite Especificado
		Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6			
100	1	79.18	74.01	80.67	80.33	76.19	78.83	Teflón	64-88% a 30 min	
		79.64	75.16	80.79	80.33	79.98	75.85	Membrana		
50	2	37.06	31.89	33.50	33.73	31.32	33.50	Teflón	28-42% a 30 min	
		36.71	33.27	34.76	34.07	32.52	34.19	Membrana		

REFERENCIA : Certificados USP

REALIZADO POR: IDANIA REYES CAUDILLO

FECHA: 2001-03-27

APROBADO POR: MARGARITA RODRIGUEZ

FECHA: 2001-03-29

DICTAMEN: APROBADO

Nota: Consultar las especificaciones en el P.E.O: BIOF.CA-200

TABLETAS: ÁCIDO SALICÍLICO LOTE N

CONTROL DE TEMPERATURA

rpm	Aparato	Temperatura	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6
100	1	INICIAL	37.1	37.1	37.0	37.1	37.1	37.0
		MEDIA	37.4	37.5	37.4	37.4	37.3	37.3
		FINAL	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.4
100	2	INICIAL	37.3	37.3	37.3	37.2	37.1	37.0
		IMEDIA	37.3	37.2	37.2	37.2	37.2	37.1
		FINAL	37.2	37.2	37.3	37.2	37.1	37.1

CONTROL DE VELOCIDAD

rpm	Aparato	Temperatura	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6
100	1	INICIAL	100	102	102	100	100	102
		MEDIA	100	102	102	100	100	100
		FINAL	*	*	*	*	*	*
100	2	INICIAL	102	100	100	100	102	100
		MEDIA	100	100	100	100	100	100
		FINAL	100	100	102	100	100	100

TABLETAS: PREDNISONA_LOTE_M

CONTROL DE TEMPERATURA

rpm	Aparato	Temperatura	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6
100	1	INICIAL	37.3	37.3	37.3	37.2	37.2	37.1
		MEDIA	37.2	37.2	37.2	37.2	36.8	37.0
		FINAL	37.1	37.1	37.1	37.0	37.0	37.0
50	2	INICIAL	37.0	30.95	37.15	37.0	37.0	37.0
		MEDIA	37.2	37.1	37.1	37.1	37.1	37.1
		FINAL	36.9	36.6	*	*	*	*

CONTROL DE VELOCIDAD

rpm	Aparato	Temperatura	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6
100	1	INICIAL	100	100	100	100	100	100
		MEDIA	100	100	100	100	100	100
		FINAL	100	100	100	100	100	100
50	2	INICIAL	50	50	50	50	50	50
		MEDIA	50	50	50	50	50	50
		FINAL	50	50	50	50	50	50

APENDICE 2. PORCENTAJES DISUELTOS EN CADA MEDIO DE DISOLUCIÓN

DISOLUCIÓN EN MEDIO USP XXIV

TIEMPO (min)	%DISUELTO VASO 1	%DISUELTO VASO 2	%DISUELTO VASO 3	%DISUELTO VASO4	%DISUELTO VASO 5	%DISUELTO VASO 6	PROMEDIO
5	18.42269	20.56021	15.21642	18.55629	25.23600	14.94923	18.8
10	41.80175	39.93142	39.93142	40.33221	50.08523	34.32045	41.1
15	56.63074	54.62683	54.62683	58.90185	63.17688	53.15729	56.9
20	66.38315	63.31047	65.0472	65.98237	74.66601	65.31439	66.8
30	80.14339	75.73477	78.94104	76.00196	86.02155	77.60509	79.1
40	87.09031	85.62077	86.15515	82.01372	91.89972	83.75045	86.1
50	92.56769	91.09815	91.09815	87.2239	93.77004	89.22782	90.8
60	94.97239	95.64036	94.30442	90.16299	96.84271	90.96455	93.8
90	101.25134	99.6482	100.85055	97.2435	99.91539	96.97631	99.3
120	103.38885	100.98415	100.98415	101.78571	100.58336	100.85055	101.4

DISOLUCIÓN EN MEDIO FASSIF

TIEMPO (min)	%DISUELTO VASO 1	%DISUELTO VASO 2	%DISUELTO VASO 3	%DISUELTO VASO4	%DISUELTO VASO 5	%DISUELTO VASO 6	PROMEDIO
10	14.52691	15.55189	14.9959	17.06586	16.80036	13.99592	15.5
20	22.38375	22.44875	22.27525	21.77976	22.76274	21.65827	22.2
30	24.12422	24.8887	24.67721	24.49671	24.59271	24.15972	24.5
45	25.90018	26.94616	25.88318	26.08568	24.9917	25.26519	25.8
60	25.91768	26.72667	27.16266	26.75766	27.55515	28.49513	27.1
90	26.70867	28.89062	29.08462	29.45911	27.60165	30.0726	28.6
120	27.66765	28.69463	30.1171	30.32809	29.57411	29.42261	29.3

DISOLUCIÓN EN MEDIO FESSIF

TIEMPO (min)	%DISUELTO VASO 1	%DISUELTO VASO 2	%DISUELTO VASO 3	%DISUELTO VASO4	%DISUELTO VASO 5	%DISUELTO VASO 6	PROMEDIO
10	16.54852	21.61484	20.63467	22.82889	22.77025	23.66525	21.3
20	32.62154	36.01445	35.51529	37.61107	40.54182	37.62294	36.7
30	40.33517	43.51655	43.04042	46.35095	48.87538	44.3913	44.4
45	47.15031	50.23464	49.13718	50.59348	53.26592	48.95357	49.9
60	49.38502	53.91797	53.07672	55.34495	59.90861	55.94045	54.6
90	54.99169	57.13565	55.33727	59.97145	62.65226	58.01389	58.0
120	56.14361	63.89423	60.94534	62.54196	63.71063	63.45022	61.8

DISOLUCIÓN EN LECHE

TIEMPO (min)	%DISUELTO VASO 1	%DISUELTO VASO 2	%DISUELTO VASO 3	%DISUELTO VASO4	%DISUELTO VASO 5	%DISUELTO VASO 6	PROMEDIO
10	2.1	1.82186	1.99988	2.17945	2.16731	1.78551	2.0
20	5.7	4.58927	5.05435	4.21518	5.17401	3.4106	4.7
30	9	7.60992	8.59657	8.79709	7.4299	6.50871	8.0
45	16.4	10.86886	12.60736	14.04359	11.60674	9.56963	12.5
60	20.8	15.17253	16.509	16.71903	15.5718	12.10396	16.1
90	27.8	22.71155	24.07276	27.26388	21.85473	17.666	23.6
120	36	32.30909	32.11968	32.73319	26.31948	23.11334	30.4

CAPÍTULO VIII . REFERENCIAS

1. Amidon G., Lennernas H., Shad V., Crison J., Theoretical Basis for a Biofarmaceutic Drug Clasification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavallability, *Pharm. Res.*, **12**:413-420, (1995).
2. Andrews, Praziquantel: Mechanisms of anti-schistosomal activity, *Pharm. Ther.*, **29**:129-156, (1985).
3. Bakatselou V., Oppenheim R., Dressman J., Solubilization and wetting effects of bile salts on the dissolution of steroids, *Pharm. Res.*, **8**(12):1461-1469,(1991).
4. Banakar U, Pharmaceutical Dissolution Testing, Marcel Dekker Inc., New York, Cap. 5-7:133-181,(1992).
5. Bates T., Gibaldi M., Kanig J., Solubilizing properties of bile salt solutions I, *J. Pharm. Sci.*, **55** (2):191-199,(1966).
6. Bittencourt, P., Bracia C., Martins R., Fernandez A., Diekmann H., and Jung H., Phenytoin and carbamazepine decreases oral bioavallability of praziquantel, *Neurology*, **42**:492-496, (1992).
7. Blair K., Bennett J., Pax R., Praziquantel: physiological evidence for its site(s) of action in magnesium-paralysed *Schistosoma mansoni*, *Parasitology*, **104**:59-66, (1992).
8. Botero D., Tanowitz H., Weiss L., Wittner M., Taeniasis and cysticercosis, *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, **7**:683-697, (1993).
9. Carstensen W., in Proc. 2nd Wisconsin Update Conf., Dissolution-State of the Art, (1982).

10. Castro N., Medina R., Sotelo J., Jung H., Bioavailability of praziquantel increases with concomitant administration of food, *Antimicro. Agents Chemother.*, **44** (10):2903-2904,(2000).
11. Charman W., Porter C., Mithani S., Dressman J., Physicochemical and Physiological Mechanisms for the effects of food on drug absorption: The role of lipids and pH, *J. Pharm. Sci.*, **86**(3):269-279,(1997).
12. Dachman, W., Adubofour K., Bikin D., Johnson D., Mullin P., Winograd M., Cimetidine-induced rise in praziquantel levels in a patient with neurocysticercosis being treated with anticonvulsants, *J. Infect. Dis.*, **169**:689-691,(1994).
13. De la Torre P., Torrado S., Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions, *Chem. Pharm. Bull.*, **47** (11):1629-1633, (1999).
14. Del Brutto O., Sotelo J., Roman G., Therapy of neurocysticercosis: a reappraisal, *Clin. Infect. Dis.*, **17**:730-735,(1993).
15. Dressman J., Amidon G., Reppas C., Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms, *Pharm. Res.*, **15** (1):11-22,(1998).
16. Dressman J., Reppas C., In vitro- in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **11** (Suppl.2): S73-S80,(2000).
17. Galia E., Hoth C., Künnen N., Comparative in vitro dissolution study of various albendazole products, *Pharm. Sci.*, **1**(Suppl.1):S-491,(1998).
18. Galia E., Nicolaidis E., Hörter D., Löbenberg R., Reppas C., Dressman J., Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs, *Pharm. Res.*, **15** (5):698-705,(1998).
19. Galia E., Nicolaidis E., Reppas C., and Dressman J. B., "New media

- discriminate dissolution properties of poorly soluble drugs", *Pharm. Res.*, 1996, 13 (Supplement):S-262.
20. Gallia E., Nicolaides E., Hörter D., Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs, *Pharm. Res.*, **15**(5):698-705, (1998).
21. González D., Sánchez M., Sotelo J., Jung H., In vitro metabolic interaction between praziquantel and dexamethasone, *Pharm. Comun.*, **4** (4):301-305, (1994).
22. González D., Morano M., Sánchez M., Sotelo J., Jung H., Sensitive high performance liquid chromatographic assay for praziquantel in plasma, urine and liver homogenates, *J. Chromatog.*, 613:174-178, (1993).
23. Goodman y Gilman, *Las Bases farmacológicas de la terapéutica*, 9ª. Edición, McGraw-Hill, pp 1086-1087, (1998).
24. Guidance for Industry, Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, Scale-Up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, In Vitro Dissolution Testing, an In Vivo Bioequivalence Documentation, CDER, Food and Drug Administration, USA,(1995).
25. Homeidea, M., Leahey, W., Copeland, S., Ali, M.M.M., and Harron, D.W.G. Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in Sudanese men, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **88**:551-559, (1994).
26. Horton, R.J., Chemotherapy of *Echinococcus* infection in man with albendazole, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **83**:97-102,(1989).
27. Index Merck, Interamericana, 1086-1087, (1996).
28. John, Shotton, Moppert, Gastrointestinal Transit of Oros* Drug Delivery Systems in Healthy Volunteers: A Short report, *Br. J. Clin. Pharm.*, **19**:203S-

- 206S, (1985).
29. King C., and Manhmoud, A., Drug five years later: praziquantel, *Ann. Int. Medicine*, **110**:290-296, (1989).
30. Löbenberg R., Krämer J., Amidon G., Dissolution Testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Disolution behavior of glibenclamide, *Pharm. Res.*, **17**(4):439-444, (1989).
31. Macheras P., Koupparis M., Drug binding and solubility in milk, *Pharm. Res.*, **7**:537-541, (1990).
32. Mandour M., El Turabi H., Homeida, El Sadig, Pharmacokinetics of praziquantel in healthy volunteers and patients with schistosomiasis, *Trans. R., Soc. Trop. Med.- Hyg.*, **84**:389-393,(1990).
33. Mithani S., Bakatselou V., TenHoor C., Dressman J., Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration, *Pharm. Res.*, **13**:163-167, (1996).
34. Naylor L., Bakatselou V., Rodríguez-Hornedo N., Weiner N., Dressman J., Dissolution of steroids in bile salt solutions is modified by the presence of lecithin, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **41** (6):346-353, (1995).
35. Nicolaidis E., Galia E., Efthymiopolulos C., Dressman J., Forecasting the in vivo performance of four low solubility drugs from their in vitro dissolution data, *Pharm. Res.*, **16** (12):1876-1882, (1999).
36. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998 Diario Oficial de la Federación 7 de mayo de 1999.
37. Symposium. (Various authors.), Biltricide symposium on African Schistosomiasis (Classen, H.G. and Schramm. V., eds.) *Arzneimittelforschung*, **31**:535-618,

- (1981a).
38. TenHoor C., Bakatselou V., Dressman J., Solubility of mefenamic acid under simulated fed- and fasted-state conditions, *Pharm. Res.*, **8** (9):1203-1205,(1991).
 39. United States Pharmacopoeia XXIV, Official Monographs, pp 1377-1379, (2000).
 40. Wagner, *Drug. Intell. Clin. Pharm.*,1970, 4, 32.
 41. Walstra P., Jennes R., Bandings HT., *Dairy chemistry and physics*, John Wiley and Sons, New York,(1984).
 42. Wegner, D., The profile of the trematodicidal compound praziquantel, *Arzneimittelforschung*, **35**:1132-1136, (1984).