



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO IN VITRO DE DISOLUCIÓN DE PRODUCTOS  
COMERCIALES CONTENIENDO METRONIDAZOL**

T E S I S

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

PRESENTA

**LAURA ROJAS ROMERO**

ASESOR DE TESIS

**DRA. HELGI H. JUNG COOK**



MEXICO D.F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

T E S I S

ESTUDIO IN VITRO DE DISOLUCIÓN DE PRODUCTOS COMERCIALES  
CONTENIENDO METRONIDAZOL

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

PRESENTA

**LAURA ROJAS ROMERO**

MÉXICO, D.F.  
2006

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DRA. HELGI HELEN JUNG COOK  
VOCAL: QFB. GEORGINA MARGARITA MAYA RUIZ  
SECRETARIO: M en C SOFÍA MARGARITA RODRÍGUEZ ALVARADO  
1er SUPLENTE: M en C LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE  
2do SUPLENTE: QFB. NATIVIDAD GARCÍA ESCAMILLA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FACULTAD DE QUÍMICA,  
CONJUNTO E, LABORATORIOS DE BIOFARMACIA 112 Y 113 DEPARTAMENTO DE  
FARMACIA.

ASESOR DEL TEMA:

DRA.HELGI HELEN JUNG COOK \_\_\_\_\_

SUSTENTANTE:

LAURA ROJAS ROMERO \_\_\_\_\_

## *AGRADECIMIENTOS*

### *A Dios*

*Por darme la oportunidad de vivir y llegar a este momento y tener a mi lado a la gente que más quiero*

### *A mis Padres*

*Por su esfuerzo y apoyo que me han brindado siempre, por todo su cariño y confianza que fueron importantes para alcanzar mis metas.*

*Maria Teresa  
y  
Enrique*

### *A mis hermanos*

*Porque de cada un he aprendido una lección en la vida y porque he encontrado en ustedes cariño, comprensión y compañía.*

*Isabel            y  
Ernesto*

### *A Edgar*

*Por ser mi amigo y cómplice por su amor y paciencia, gracias por estar conmigo en los buenos y malos momentos. Has sido muy importante para mí.  
Te quiero mucho*

## *AGRADECIMIENTOS*

*A la UNAM*

*Por la excelente formación que en ella se imparte.*

*A la Dra. Helgi H. Jung Cook*

*Por ser un ejemplo a seguir y por dedicarme tiempo y enseñanza para la elaboración de este trabajo.*

*A la profesora Margarita*

*Por su apreciable ayuda y consejos en la realización de este trabajo*

*A los miembros del jurado*

*Por los comentarios hechos para la mejora de este trabajo.*

# ÍNDICE



ÍNDICE GENERAL	Página
Capítulo	
Índice de tablas	i
Índice de figuras	ii
I Introducción y Objetivo	1
II Antecedentes	2
2.1 Medicamentos genéricos	2
2.2 Legislación de medicamentos genéricos	2
2.3 Disolución	3
2.3.1 Velocidad de disolución	3
2.3.2 Estudio de Disolución in vitro y su correlación in vitro-in vivo	6
2.3.3 Sistema de clasificación biofarmacéutico	8
2.4 Monografía del metronidazol	9
2.5 Aspectos farmacológicos del metronidazol	10



III Parte experimental	Página
3.1. Equipo	14
3.2 Reactivos	14
3.3 Lotes a evaluar	15
3.4 Pruebas de control de calidad	16
3.4.1 Ensayo de identidad	17
3.4.2 Uniformidad de dosis	17
3.4.3 Variación de peso	17
3.4.4 Dureza	18
3.4.5 Friabilidad	18
3.5 Estudio de perfil de disolución	19
3.5.1 Validación del método analítico para la cuantificación de Metronidazol en el medio de disolución	19
3.5.1.1 Linearidad del sistema	19
3.5.1.2 Precisión del sistema	20
3.5.1.3 Estabilidad de la muestra	20
3.5.1.4 Interferencia del filtro	21
3.5.1.5 Especificidad del método	21
3.5.2 Perfiles de disolución	22

	Página
IV Resultados	
4.1 Pruebas para el control de la calidad	23
4.2 Estudio de los perfiles de disolución	25
4.2.1 Validación de método analítico para la cuantificación del metronidazol en el medio de disolución	25
4.2.2 Perfiles de disolución	29
V Análisis de resultados	31
VI Conclusiones	34
VII Bibliografía	35
VIII Apéndices	
8.1 Apéndice I	38
8.2 Apéndice II	43
8.3 Apéndice III	48
8.4 Apéndice IV	50
8.4 Apéndice V	54

ÍNDICE DE TABLAS	Página
1.- Variación de peso de los productos bajo estudio	23
2.- Uniformidad de dosis de los diferentes productos conteniendo metronidazol	23
3.- Friabilidad y dureza de los lotes estudiados	24
4.- Linealidad del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en solución de ácido clorhídrico 0.1 N	25
5.- Precisión del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en en ácido clorhídrico 0.1 N entre días.	27
6.- Estabilidad de la muestra. Resultados de absorbancia promedio obtenidos durante 1, 2, 3, 4 y 24 horas a 37°C.	27
7.- Influencia del filtro	28
8.- Datos promedio de la cantidad de metronidazol disuelta en cada tiempo de muestreo, de cada uno de los lotes estudiados.	29
9.- Valores obtenidos del factor de similitud de dos diferentes lotes estudiados, utilizando (F2) como referencia.	33

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
1.- Proceso de disolución de un fármaco a partir de una forma farmacéutica sólida en relación con su posterior absorción	7
2.- Linealidad del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en solución de ácido clorhídrico 0.1N.	26
3.- Espectro de absorción obtenido en la especificidad del método en el intervalo de 250 - 300 nm de la solución de la muestra con una concentración de 25 µg/mL	28
4.- Perfiles de disolución de los lotes en estudio	30

INTRODUCCIÓN

Y

OBJETIVOS



# I

En el campo del tratamiento de infecciones provocadas por protozoarios, bacterias y otros organismos, los compuestos heterocíclicos con grupos nitro, dentro de su estructura básica molecular, representan una gama de agentes importantes. En 1955 Nakamura aisló a partir de *Streptomyces sp.* la azomicina (2-nitroimidazol) la cual mostró tener actividad microbicida contra *Tricomonas vaginalis*, iniciando la síntesis de fármacos derivados de nitroimidazoles. A finales de la década de los 50's, Cesar y Jolou sintetizaron el metronidazol el cual es un agente sintético antibacteriano, cuyo uso en la práctica clínica ya tiene más de 35 años, su indicación original fue para el tratamiento de infecciones provocadas por *Tricomonas vaginalis*, pero con el paso del tiempo se ha ido ampliando el espectro de su acción. Se utiliza hoy en día en el tratamiento de una variedad de infecciones provocadas por diferentes tipos de microorganismos principalmente para amibiasis, giardiasis e infecciones por tricomonas. El metronidazol fue aprobado en 1963 por la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA).

En México se encuentra disponible en formulación oral, parenteral, intravenosa, vaginal y tópica. <sup>(1,22,23)</sup>

Considerando el amplio uso de este fármaco en nuestro país, se decidió llevar a cabo el presente trabajo cuyos objetivos son:

- A) Conocer la calidad de los productos comerciales en forma de tabletas conteniendo metronidazol.
- B) Evaluar la liberación del principio activo mediante la prueba de perfil de disolución.

# ANTECEDENTES



## II

Los fármacos existentes en el mercado farmacéutico, pueden dividirse en innovadores y genéricos.

### 2.1 Medicamentos Genéricos <sup>(2,9,14)</sup>

El medicamento genérico es aquel producto elaborado por diferentes compañías farmacéuticas cuando vence la patente de exclusividad de un laboratorio. Cuando contiene la misma sustancia activa que el medicamento original, en la misma dosis en la misma forma farmacéutica y cumple con las buenas prácticas de manufactura así como con el criterio de bioequivalencia, se le denomina intercambiable.

Como cualquier otro medicamento, los genéricos deben ser autorizados por la Autoridad Sanitaria y de esta manera tener la garantía de su calidad, seguridad y eficacia.

### 2.2 Legislación de Medicamentos Genéricos <sup>(3,5,9,14)</sup>

En México en 1997, el Congreso aprobó las reformas a la Ley General de Salud en la cual se da pauta para el mercado de medicamentos al introducir en la legislación la denominación “genérica” para la comercialización y uso de los mismos (Artículo 225) <sup>(3)</sup> lo cual incidió en la apertura de un mercado de genéricos intercambiables.



Se incorporan al catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables únicamente las especialidades farmacéuticas que cuenten con un registro sanitario vigente. Deberán estar incluidos en el Cuadro básico de medicamentos para el primer nivel y en el catálogo de insumos para el segundo y tercer nivel, comprobar su equivalencia y deberán cumplir con las pruebas determinadas por el consejo de Salubridad General y La Secretaría de Salud.

El 25 de marzo de 1998 se publicó en el Diario Oficial la Norma de Emergencia NOM-EM-003-SSA-1-1998. En ella se establecieron los criterios y requisitos de pruebas para demostrar la intercambiabilidad a que deben sujetarse los terceros autorizados para la realización de las mismas. <sup>(11)</sup>

La norma de emergencia fue revisada y como resultado se publicó en el Diario Oficial, la norma oficial mexicana NOM-177-SSA-1-1998 el día 26 de enero de 1999 cuya versión fue nuevamente revisada y publicada el 7 de mayo de 1999 y es la vigente a la fecha. <sup>(12)</sup>

## 2.3 Disolución. <sup>(4,15,16)</sup>

### 2.3.1 Velocidad de disolución

La velocidad de disolución es la velocidad con la cual un soluto cambia de un estado que puede ser cristalino, polvo o líquido a otro estado en forma de dispersión molecular en el solvente.

El proceso de disolución ha sido investigado tanto por modelos físicos como cuantitativamente. Estos últimos están basados en el principio de la teoría de difusión de Fick expresada de la siguiente manera:

$$\frac{dw}{dt} = -DS \frac{dc}{dx}$$

en donde:

$dw$ = cantidad de soluto que difunde a una temperatura constante.

$S$ = superficie que atraviesa el soluto (área superficial).

$dt$ = tiempo en que difunde el soluto a través de una superficie.

$dc$ = concentración del soluto

$dx$ = es la distancia que está en ángulo recto con respecto al plano  $A$

$D$ = es el coeficiente de difusión y es la cantidad de soluto que atraviesa  $1 \text{ cm}^2$  de superficie en una unidad de tiempo.

Esta ley propone que el único movimiento involucrado en la difusión se deba a la agitación molecular, el signo negativo indica que la difusión ocurre en el sentido de mayor a menor concentración.

Basándose en la ley de Fick, Noyes y Whitney fueron los primeros en estudiar cuantitativamente el proceso de disolución, manteniendo el área superficial constante:

$$\frac{dc}{dt} = K_s(C_s - C_t)$$

donde:

$K_s$  = es una constante, con dimensiones  $1/\text{tiempo}$

$C_s$  = es la solubilidad del compuesto en el equilibrio a la temperatura dada

$C_t$ = es la concentración del compuesto a tiempo  $t$ .

De esta manera, Noyes y Whitney consideran el fenómeno de disolución como un caso de difusión simple, donde el sólido se encuentra rodeado por una película de solución saturada, delgada e indefinida desde la cual se lleva a cabo el proceso de difusión hacia el resto del solvente.

Esta teoría establece que la velocidad de disolución, es directamente proporcional a un gradiente de concentración y la constante K, es característica de su sistema o condiciones dadas de disolución.

Si se considera que la disolución del soluto se mide por el aumento de su concentración en la solución la ecuación resultante será:

$$\frac{dw}{dt} = -\frac{DS}{Vh}(C_s - C)_s$$

En donde:

$dw/dt$  = es la velocidad de disolución

S = el área superficial

D = coeficiente de difusión molecular de soluto

V = volumen de disolución

h = espesor de la película de difusión

$(C_s - C)_s$  = gradiente de concentración

En condiciones de sumidero:  $C \ll C_s$  si el volumen y el área superficial permanecen constantes la ecuación se reduce a:

$$\frac{dc}{dt} = K$$

esto indica que en condiciones de dilución infinita, el proceso de disolución estará caracterizado por una constante de velocidad  $K$  de orden cero el proceso es independiente de la concentración del soluto. <sup>(4,16)</sup>

En condiciones cercanas a la saturación, la constante de velocidad será entonces de primer orden estará en función del gradiente de concentración de una especie química (soluto).

La ecuación de orden cero es una aproximación del fenómeno de disolución in vivo ya que los estudios sobre absorción se ha podido establecer que la barrera gastrointestinal actúa como sumidero natural donde el fármaco es absorbido casi instantáneamente a partir de sus moléculas y entra en solución.

La velocidad de disolución está definida como la masa total de sólido disuelto por unidad de tiempo la cual puede ser caracterizada por una constante de velocidad de disolución  $K$ .

### 2.3.2 Estudio de disolución in vitro y su correlación in vitro-in vivo. <sup>(5,16,19,20)</sup>

El proceso de absorción de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida, después de la administración oral depende, entre otros aspectos, de la liberación del principio activo del producto y de su disolución o solubilización en las condiciones fisiológicas. Debido a la naturaleza de estos factores, la evaluación de la velocidad de disolución in-vitro puede ser una predicción del comportamiento in vivo, siempre y cuando el paso limitante para la absorción sea la disolución.

Los estudios de disolución in-vitro son importantes ya que permiten establecer el perfil de disolución del fármaco.

## Correlación in vitro-in vivo. <sup>(16)</sup>

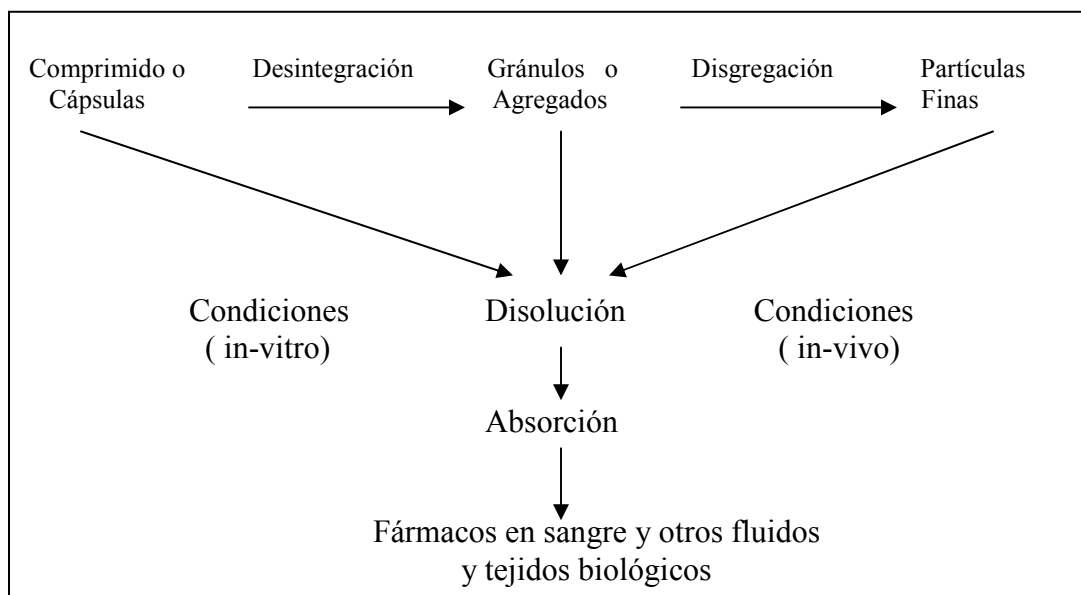
Los estudios de perfil de disolución de fármacos a partir de un medicamento, han sido utilizados para relacionar los parámetros de disolución in vitro con los parámetros in vivo, lo cual ayuda a pronosticar cómo los cambios de formulación o de proceso de fabricación del medicamento, pudieran afectar la biodisponibilidad del principio activo.

Los estudios de correlación in vitro son importantes ya que permiten sustituir un estudio de bioequivalencia por un estudio in vitro que en este caso es el perfil de disolución.

## Esquema de disolución. <sup>(15,16)</sup>

En la figura 1 se presentan los diferentes procesos requeridos para que un fármaco alcance la circulación sistémica. En ellas se puede observar que para que un fármaco pueda absorberse debe estar en solución, por lo que la disolución es un proceso importante que influye en la biodisponibilidad del fármaco

Figura 1. Proceso de disolución de un fármaco a partir de una forma farmacéutica sólida en relación con su posterior absorción.



### 2.3.3 Sistema de clasificación biofarmacéutico

La absorción de un fármaco desde una forma farmacéutica sólida, tras la administración oral depende de la liberación de la sustancia activa del producto farmacéutico, la disolución o solubilización del fármaco en las condiciones fisiológicas y su permeabilidad en el sistema gastrointestinal. Debido a la naturaleza crítica de estos dos primeros pasos, la disolución in vitro puede ser relevante a la predicción del comportamiento in vivo. <sup>(17,18)</sup>

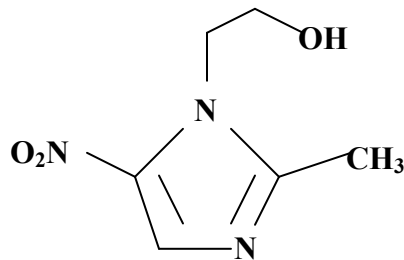
Con base a las características de solubilidad y permeabilidad de los fármacos, se ha establecido el conocido como sistema de clasificación biofarmacéutica:

- Clase I: Fármacos de alta solubilidad-alta permeabilidad
- Clase II: Fármacos de baja solubilidad-alta permeabilidad
- Clase III: Fármacos de alta solubilidad-baja permeabilidad
- Clase IV: Fármacos de baja solubilidad-baja permeabilidad

## 2.4 Monografía del Metronidazol <sup>(1,7,10)</sup>

Propiedades fisicoquímicas

Fórmula desarrollada:



Fórmula condensada: C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Masa molecular: 171.15 g/mol

Nombre Genérico: Metronidazol

Nombre Químico: 1-(2-Hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol

Descripción: Polvo cristalino blanco o amarillo claro, estable al aire, se oscurece al exponerlo a la luz.

Punto de fusión: 159 – 160 °C

Solubilidad: Poco soluble en agua, etanol y cloroformo, ligeramente soluble en éter

## 2.5 Aspectos Farmacológicos del Metronidazol

Mecanismo de acción:

El mecanismo de acción de los nitroimidazoles se refleja en la toxicidad selectiva que poseen contra microorganismos anaerobios o microaerófilicos y por células anóxicas o hipóxicas. Una vez que se ha difundido en el interior de ellos y de las células, el grupo nitro acepta electrones de proteínas transportadoras de electrones con potenciales redox negativos suficientemente pequeños, como las flavoproteínas en células de mamíferos y las ferredoxinas o su equivalente en protozoos y bacterias. En el primer caso, una nitro reductasa cataliza la reacción de radical flavina con el compuesto nitro, en el segundo, la reducción es catalizada por complejos de hierro y azufre. Los electrones para la reducción quizá provengan de diversas sustancias reducidas endógenas como el fosfato del dinucleótido de adenina y nicotinamida (NADPH) o el sulfuro. La actividad antimicrobiana del metronidazol quizás es consecuencia de la formación de productos intermedios lábiles químicamente reactivos que se forman durante la reducción tetraelectrónica del grupo nitro hasta la forma hidroxilamina correspondiente. Se ha mostrado la formación y desaparición del anión radical nitro como producto de reducción monoelectrónica por parte de tricomonas intactas y extractos celulares. Algunas investigaciones definieron que el metronidazol inhibe la síntesis de DNA en *T. vaginalis* y *Colstridium bifermentans* y degrada DNA existente. <sup>(1,8,22,26)</sup>

Farmacocinética:

Absorción:

El metronidazol puede ser administrado por vía oral, intravenosa, tópica, vaginal y rectal, aunque la más empleada clínicamente es la oral. Las dosis orales del fármaco son rápidamente absorbidas y distribuidas en casi la totalidad del organismo. Después de la ingestión de una dosis de 500 mg, se obtienen concentraciones plasmáticas de 8 a 13 mg/L. <sup>(1,8,22,26)</sup>



### Distribución:

El metronidazol es ampliamente distribuido en tejidos y fluidos del organismo, tales como los pulmones, riñones, hígado, piel, bilis, líquido cefalorraquídeo, saliva y secreciones vaginales debido en gran parte a que su unión en proteínas plasmáticas es relativamente baja (< 20 %). Se han encontrado también concentraciones bajas en tejido placentario (0 - 1.4 mg/L) y en la leche materna (3.74 – 15.5 mg/mL). <sup>(1,8,22,26)</sup>

### Biotransformación:

En los mamíferos incluyendo al humano, la principal vía de biotransformación del metronidazol es el metabolismo oxidativo. Las principales modificaciones que se dan en la estructura química del metronidazol son sobre sus cadenas alifáticas. En el humano el hígado es el principal órgano en el cual se metaboliza el fármaco. <sup>(1,8)</sup>

### Eliminación:

El metronidazol en humanos se excreta principalmente por vía renal, en forma de sus metabolitos y en menor grado en forma inalterada. La vida media de eliminación oscila entre 6 y 12 horas en individuos sanos. Usando técnicas radiactivas en estudios en humanos se ha encontrado que en un período de 5 días, el 77% del medicamento es eliminado en orina y el 14% es excretado en las heces. Alrededor del 5% del metronidazol es excretado como bióxido (CO<sub>2</sub>) como resultado del metabolismo reductivo de la flora intestinal. <sup>(1,8)</sup>

### Aplicaciones Terapéuticas:

El metronidazol está indicado en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias anaerobias sensibles. Útil en el tratamiento de infecciones de vías genitales causadas por *Trichomonas vaginalis* en mujeres y varones y es clínicamente eficaz en amibiasis, giardiasis y en diversas infecciones causadas por bacterias anaerobias obligadas como especies *Bacterioides*, *Clostridium* y *Helicobacter*.<sup>(1,8)</sup>

Dosis y vía de administración:<sup>(1,8,26)</sup>

Adultos: Oral

Amebiasis: adultos 1.5 g/día divididos en tres dosis, en niños de 30 a 40 mg/Kg/día divididos en tres dosis.

Absceso Hepático amibiano: se deben realizar drenaje o aspiración del pus en conjunción con metronidazol. El curso del tratamiento es por 7 días consecutivos.

Infección por tricomonas: 2g administrados como dosis única o un tratamiento de 10 días con 500 mg de metronidazol divididos en dos dosis.

Giardiasis: Tratamiento por 5 días 750 mg a 1 g por día

Contraindicaciones y precauciones: <sup>(1,8)</sup>

No administrarse en pacientes con antecedentes de discrasias sanguíneas. La dosis se debe disminuir en sujetos con hepatopatía obstructiva grave, cirrosis alcohólica o disfunción renal profunda, en el primer trimestre del embarazo e hipersensibilidad a los imidazoles.

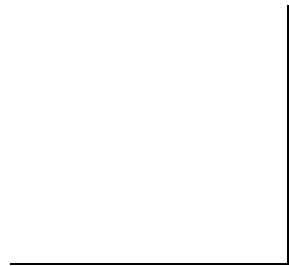
Se debe evitar la ingestión de bebidas alcohólicas durante el tratamiento.

Interacciones medicamentosas y de otro género:

El uso concomitante de metronidazol con:

- Anticoagulantes: inhibe su metabolismo y puede ocasionar sangrados.
- Disulfiram: Puede producir psicosis aguda o estado confusional.
- Etanol: Las bebidas alcohólicas y los fármacos que contienen alcohol no deben ser consumidos durante la terapia con metronidazol y por lo menos un día después de finalizado el tratamiento, debido a la posibilidad de una reacción parecida a la del disulfiram (rubor, vómito, taquicardia).
- La Fenitoína y el fenobarbital incrementan la eliminación del metronidazol, dando como resultado niveles plasmáticos reducidos.

# P ARTE E XPERIMENTAL



## III

### 3.1 Equipo.

- Espectrofotómetro Shimadzu UV 1601
- Balanza analítica Sartorius
- Disolutor Vankel VK 7000
- Fragilizador ELECSA Mod. FE30A
- Probador de dureza F. P. I. T N 112008 SICOMA Schleuniger.
- Sonicador

### 3.2 Reactivos.

- Sustancia de referencia. Estándar primario nacional de metronidazol al 99.8% Lote I. de COSUFAR
- Acido clorhídrico al 36.7% JT BAKER R.A.
- Agua destilada.

### 3.3 Lotes de medicamentos evaluados:

Para llevar a cabo el presente trabajo se evaluaron tabletas provenientes de cinco diferentes laboratorios. Se estudiaron dos lotes de cada uno de los productos con excepción de un fabricante del cual se contó con un lote.

A continuación se enumeran las marcas y lotes evaluados:

- Dos lotes del producto innovador Flagyl (Aventis Pharma), en presentación de tabletas de 250 mg, cuya clave fue asignada como F1 y F2.
- Dos lotes del producto comercial Flagenase (Liomont), en presentación de tabletas de 250 mg, cuya clave asignada como FL1 y FL2
- Dos lotes del producto comercial Samonil (Industrias Químico Farmacéuticas Americanas), en presentación de tabletas de 250 mg, cuya clave fue asignada como S1 y S2.
- Un lote del producto genérico intercambiable Metricom (Laboratorios Protein), en presentación de tabletas de 250 mg, cuya clave fue asignada como M1.
- Dos lotes del producto de Farmacia Similares (Laboratorio Best), en presentación de tabletas de 250 mg, cuya clave fue asignada como V1 y V2

### **3.4 Pruebas de control de calidad.** <sup>(10,25)</sup>

Se realizaron las siguientes pruebas de control de calidad para demostrar que las tabletas de metronidazol reúnen los requisitos necesarios para ser empleadas en el estudio de perfiles de disolución.

- Ensayo de identidad
  
- Uniformidad de dosis
  
- Variación de peso
  
- Dureza
  
- Friabilidad

A continuación se presentan los procedimientos a seguir para cada una de las pruebas realizadas.

### 3.4.1 Ensayo de identidad

Se procedió como se indica en la valoración y se realizó un barrido en el rango ultravioleta de 250 nm a 300 nm de la muestra y de la solución de referencia; utilizando celdas de 1 cm y solución 0.1 N de HCl como blanco de ajuste.

### 3.4.2 Uniformidad de Dosis

La uniformidad de dosis se puede demostrar por los métodos de variación de masa o de uniformidad de contenido. En nuestro caso, el contenido de metronidazol por tableta se determinó por el método de uniformidad de contenido.

### 3.4.3 Variación de peso.

Se pesaron con exactitud 20 tabletas una a una y se calculó la desviación estándar relativa.



#### 3.4.4 Dureza

Esta prueba se realizó utilizando 10 tabletas por lote. En el probador de dureza limpió se colocó una tableta y al accionar la dureza se determinó de acuerdo a la presión que es necesaria para romper la tableta, y esta se indico en la escala del equipo directamente.

#### 3.4.5 Friabilidad

Con una brocha limpia se retiró el polvo de 10 tabletas, y posteriormente se pesaron con exactitud, y se colocaron en el fragilizador ELECSA el cual se operó durante 3.0 min que son equivalentes a 100 revoluciones. Una vez transcurrido el tiempo se retiro el polvo de las tabletas y se pesaron nuevamente y se calculó el porcentaje de pérdida por abrasión, tomando como 100 % el peso inicial de las tabletas.

### 3.5 Estudio del perfil de disolución. <sup>(11,12,13)</sup>

#### 3.5.1 Validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol en el medio de disolución.

##### 3.5.1.1 Linealidad del sistema

Preparación del medio de disolución. Solución de ácido clorhídrico 0.1 N.

A 500 mL de agua destilada, se le agregaron 8.5 mL de HCl R.A. Se aforó a 1000 mL con agua destilada.

Preparación de la curva de calibración. Se efectuaron tres pesadas exactas e independientes de aproximadamente 0.0250 g. de sustancia de referencia de metronidazol. Cada una de ellas se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL se agitó hasta disolver y se aforó con medio de disolución, para obtener una solución estándar con 250  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol. Para la curva de calibración se efectuaron las siguientes diluciones:

mL DE SOLUCIÓN DE ESTÁNDAR DE METRONIDAZOL CON 250 $\mu\text{g/mL}$	AFORO (mL)	CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	100	2.5
2	100	5.0
4	100	10.0
10	100	25.0
20	100	50.0

Para determinar la linealidad, se midió la absorbancia de cada una de las soluciones a 278 nm utilizando como blanco medio de disolución y se calculó la pendiente, la ordenada al origen y el coeficiente de correlación.

#### **3.5.1.2 Precisión del sistema.**

De los datos de absorbancia obtenidos en cada una de las soluciones de los niveles de la concentración de la curva de linealidad se calculó el coeficiente de variación.

Así mismo se determinó la precisión entre días, al preparar curvas patrón en dos días diferentes y se calculó el coeficiente de variación.

#### **3.5.1.3 Estabilidad de la muestra**

Se prepararon por triplicado soluciones a las concentraciones de 2.5, 10 y 50  $\mu\text{g/mL}$  y se leyó su absorbancia a 278 nm usando como blanco medio de disolución.

Las muestras se mantuvieron a temperatura y luz ambiente y se determinó la absorbancia a intervalos de 1, 2, 3, 4 y 24 h. Con los datos obtenidos se calculó el coeficiente de variación.

#### **3.5.1.4 Interferencia del filtro.**

A partir de una solución estándar de 250  $\mu\text{g/mL}$  de metronidazol se prepararon soluciones de 2.5, 5, 10, 25 y 50  $\mu\text{g/mL}$  y se leyó cada concentración por triplicado. De cada una de las soluciones se reservó una porción sin filtrar y el resto se filtro 10 mL mediante una jeringa con muestreador acoplado a un filtro de teflón de 35  $\mu\text{m}$  de poro limpio y seco. Las muestras filtradas y sin filtrar se leyeron a 278 nm utilizando como blanco medio de disolución. Este procedimiento se realizó por triplicado.

#### **3.5.1.5 Especificidad del método**

Preparación de la solución de referencia: Se pesaron 0.0250 g de sustancia de referencia, se transfirieron a un matraz volumétrico de 50 mL agregando HCl 0.1 N. Una vez disuelta, se llevó al aforo con medio de disolución (HCl 0.1 N). De ésta solución se tomó una alícuota de 5.0 mL en un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó al aforo a 100 mL con medio de disolución.

Preparación de la solución de muestra: Se colocó una tableta en un matraz volumétrico de 100 mL agregando 50 mL de HCl 0.1 N, se agitó en un vortex durante 15 min y se aforo con medio de disolución. De esta solución se transfirió una alícuota de 1.0 mL en un matraz volumétrico de 100 mL, se aforó con medio de disolución, finalmente se agitó para mezclar la solución.

Procedimiento: Se realizó un barrido de ambas soluciones en un intervalo de 250 nm a 300 nm usando como blanco medio de disolución.

### 3.5.2 Perfiles de disolución

Los perfiles de disolución se realizaron utilizando el aparato de disolución No.1 de la USP (Vankel 7000).

Procedimiento. En cada vaso del disolutor se colocaron 900 mL. del medio de disolución de HCl 0.1N una vez que éste alcanzó la temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  (se determinó la temperatura al inicio, mitad y final de la prueba), se colocó en cada canastilla una tableta y se accionó el equipo de disolución a 100 rpm (la velocidad se determinó al inicio, mitad y final de la prueba). Se tomó como tiempo cero aquel en el que las canastillas hicieron el primer contacto con el medio de disolución. De cada vaso se tomaron alícuotas de 3.0 mL, a los 10, 15, 20, 30 y 60 min, mediante una jeringa con muestreador acoplado a un filtro de teflón de  $35\ \mu\text{m}$  (se utilizó un sistema de filtrado para cada vaso). El medio de disolución se sustituyó lo más rápido posible a la misma temperatura. Las muestras se colocaron en tubos de ensayo perfectamente identificados, de aquí se tomaron por separado alícuotas de 1.0 mL, las cuales se aforaron a 10 mL, y se leyeron a 278 nm usando como blanco medio de disolución. La concentración de metronidazol disuelto se interpoló en la curva de calibración y se calculó el porcentaje de metronidazol disuelto en cada vaso.

# RESULTADOS



# IV

## 4.1 PRUEBAS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD

**Tabla 1. Variación de peso de los productos bajo estudio.**

Lote	Peso promedio (g)	C.V (%)
F1	0.4986	0.70
F2	0.4998	0.38
M1	0.4951	0.80
S1	0.3528	3.15
S2	0.2987	1.83
V1	0.4290	0.70
V2	0.4272	0.80
FL1	0.3687	1.30
FL2	0.3530	0.81

**Tabla 2. Uniformidad de Dosis de los diferentes productos conteniendo metronidazol.**

% METRONIDAZOL									
Tableta No.	F1	F2	FL1	FL2	S1	S2	M1	V1	V2
1	96.1	93.2	96.6	96.2	99.1	98.2	95.9	96.6	97.2
2	95.6	94.8	95.7	94.9	94.9	94.0	90.7	96.3	96.4
3	94.4	94.5	90.5	95.5	104.6	93.3	95.1	94.5	96.5
4	96.6	93.2	96.1	93.5	95.9	95.7	96.9	97.3	96.0
5	94.6	100.2	92.4	95.1	93.3	95.7	94.6	96.7	97.9
6	94.5	93.9	88.4	97.1	92.3	95.2	94.7	94.3	93.8
7	96.8	94.0	87.4	94.3	90.9	94.9	92.4	94.6	94.9
8	96.6	94.9	98.5	93.9	88.3	96.1	96.8	93.8	94.0
9	94.5	94.5	96.0	94.2	98.3	89.1	94.0	94.3	93.7
10	95.3	94.4	95.5	96.0	95.7	94.9	97.8	93.3	94.9
C.V(%)	1.0	2.1	4.1	1.2	4.8	2.5	2.3	1.5	1.6

**Tabla3. Friabilidad y dureza de los lotes estudiados.**

Lote	Friabilidad ( % de pérdida)	Dureza (Kp)
F1	0.1	16.7
F2	0.3	14.0
M1	0.7	7.3
S1	0.1	4.7
S2	0.6	5.4
V1	0.1	9.2
V2	0.5	10.3
FL1	0.1	15.6
FL2	0.0	12.1



## 4.2 ESTUDIO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN

### 4.2.1 Validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol disuelto en el medio de disolución

En la tabla 4 y figura 2 se ilustran los resultados de linealidad del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en el medio de disolución.

**Tabla 4. Linealidad del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en solución de ácido clorhídrico 0.1 N**

Absorbancia a 278 nm				
Concentración (µg/mL)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
2.5	0.091	0.089	0.090	0.090
5.0	0.186	0.188	0.189	0.187
10.0	0.365	0.366	0.373	0.368
25.0	0.910	0.916	0.906	0.910
50.0	1.762	1.793	1.810	1.788

Al realizar la estadística correspondiente, se obtuvieron los siguientes resultados:

Coeficiente de correlación (r)	0.9998
Coeficiente de determinación (r <sup>2</sup> )	0.9996
Error relativo debido a la regresión (CV)	1.9%

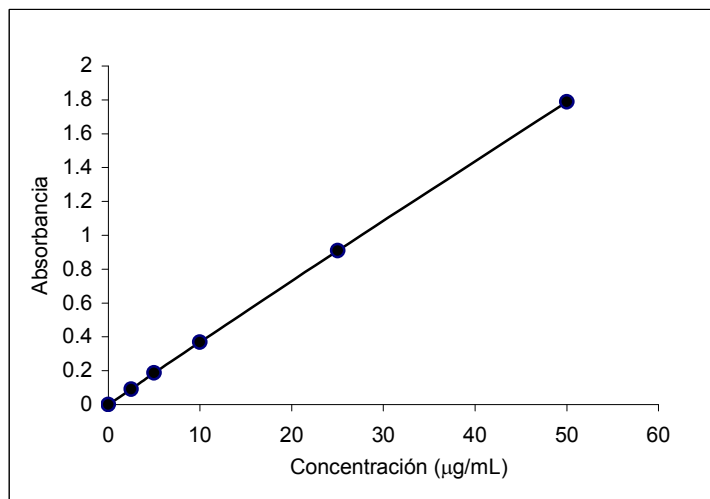


Figura 2. Linearidad del Sistema para la cuantificación de metronidazol utilizando ácido clorhídrico 0.1N como medio de disolución

Al evaluar la precisión del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en solución de ácido clorhídrico 0.1 N en un mismo día de acuerdo a lo indicado en el apéndice I se encontró que el coeficiente de variación fue de 1.7%.

**Tabla 5. Precisión del sistema analítico para la cuantificación de metronidazol en ácido clorhídrico 0.1 N entre días.**

Concentración (µg/mL)	Día 1	Día 2	absorbancia promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación (C.V)
2.5	0.091 0.092	0.093 0.092	0.092	0.0008	0.8
5.0	0.185 0.183	0.183 0.184	0.183	0.0009	0.5
10	0.367 0.367	0.366 0.366	0.366	0.0005	0.1
25	0.910 0.917	0.913 0.916	0.914	0.0031	0.3
50	1.729 1.747	1.726 1.780	1.745	0.0247	1.4

Tabla 6. Estabilidad de la muestra. Resultados de absorbancia promedio obtenidos durante 1, 2, 3, 4 y 24 horas a 37 °C. Para consultar datos individuales ver apéndice V.

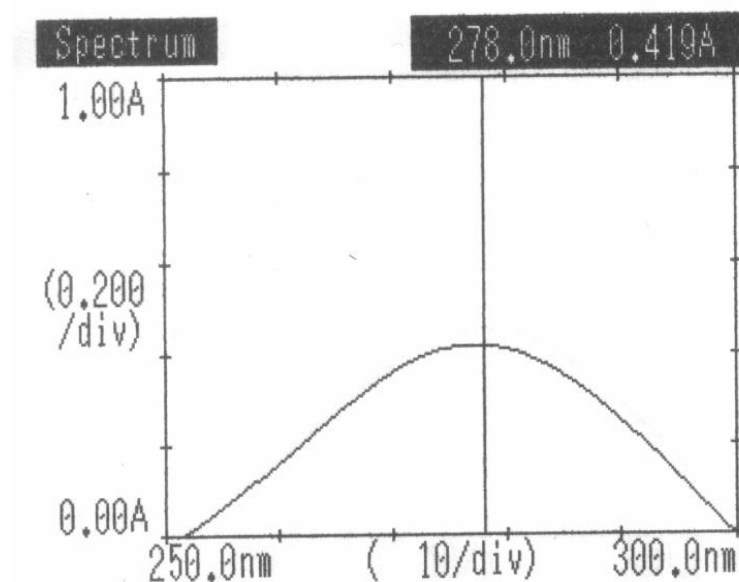
Concentración (µg/mL)	absorbancia promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
2.5	0.0926	0.0021	2.3
10	0.3667	0.0025	0.7
50	1.7940	0.0204	1.1

Al evaluar el valor del sesgo por efecto del filtro se encontraron los resultados que se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Influencia del filtro**

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio % sesgo
2.5	0
5.0	0
10.0	0
25.0	1
50.0	4

**Figura 3.** Espectro de absorción obtenido en la especificidad del método en el intervalo de 250 - 300 nm de la solución de la muestra con una concentración de 25  $\mu\text{g/mL}$



#### 4.2.2 PERFILES DE DISOLUCIÓN

En la tabla 8 se muestran los datos promedio de la cantidad de metronidazol disuelta en cada tiempo de muestreo, de cada uno de los lotes estudiados. Los perfiles de disolución se ilustran gráficamente mostrando  $Q + 5\% = 90\%$

% Disuelto					
Lote\ tiempo	10	15	20	30	60
F1	96	99	101	98	98
Desv. est	7.036	4.457	2.588	2.714	4.535
C.V. (%)	7.4	4.5	2.6	2.8	4.6
F2	98	99	99	99	99
Desv. est	1.216	0.934	2.063	0.806	0.985
C.V. (%)	1.2	0.9	2.0	0.8	1.0
M1	92	98	95	94	90
Desv. est	8.940	1.760	1.139	2.778	2.284
C.V. (%)	9.7	1.7	8.5	2.9	2.5
S1	100	100	100	99	101
Desv. est	3.446	3.732	3.546	3.584	4.260
C.V. (%)	3.4	3.7	3.5	3.6	4.2
S2	91	99	101	99	96
Desv. est	3.846	2.814	3.286	2.775	2.226
C.V. (%)	4.2	2.8	3.3	2.8	2.3
V1	58	81	101	100	102
Desv. est	10.301	4.408	1.323	1.412	0.604
C.V. (%)	17.7	5.4	1.3	1.4	0.6
V2	37	61	83	101	101
Desv. est	6.616	7.062	9.438	2.639	1.169
C.V. (%)	17.8	11.6	11.4	2.6	1.2
FL1	101	101	100	100	97
Desv. est	1.506	1.506	1.095	1.633	6.055
C.V. (%)	1.5	1.5	1.1	1.6	6.3
FL2	102	102	102	101	102
Desv. est	1.669	2.010	2.616	1.984	1.996
C.V. (%)	1.6	2.0	2.5	2.0	1.9

Desv. est= Desviación estándar

C.V. (%) = Coeficiente de variación

## GRAFICA DE LOS PERFILES DE DISOLUCION DE LOS LOTES EN ESTUDIO

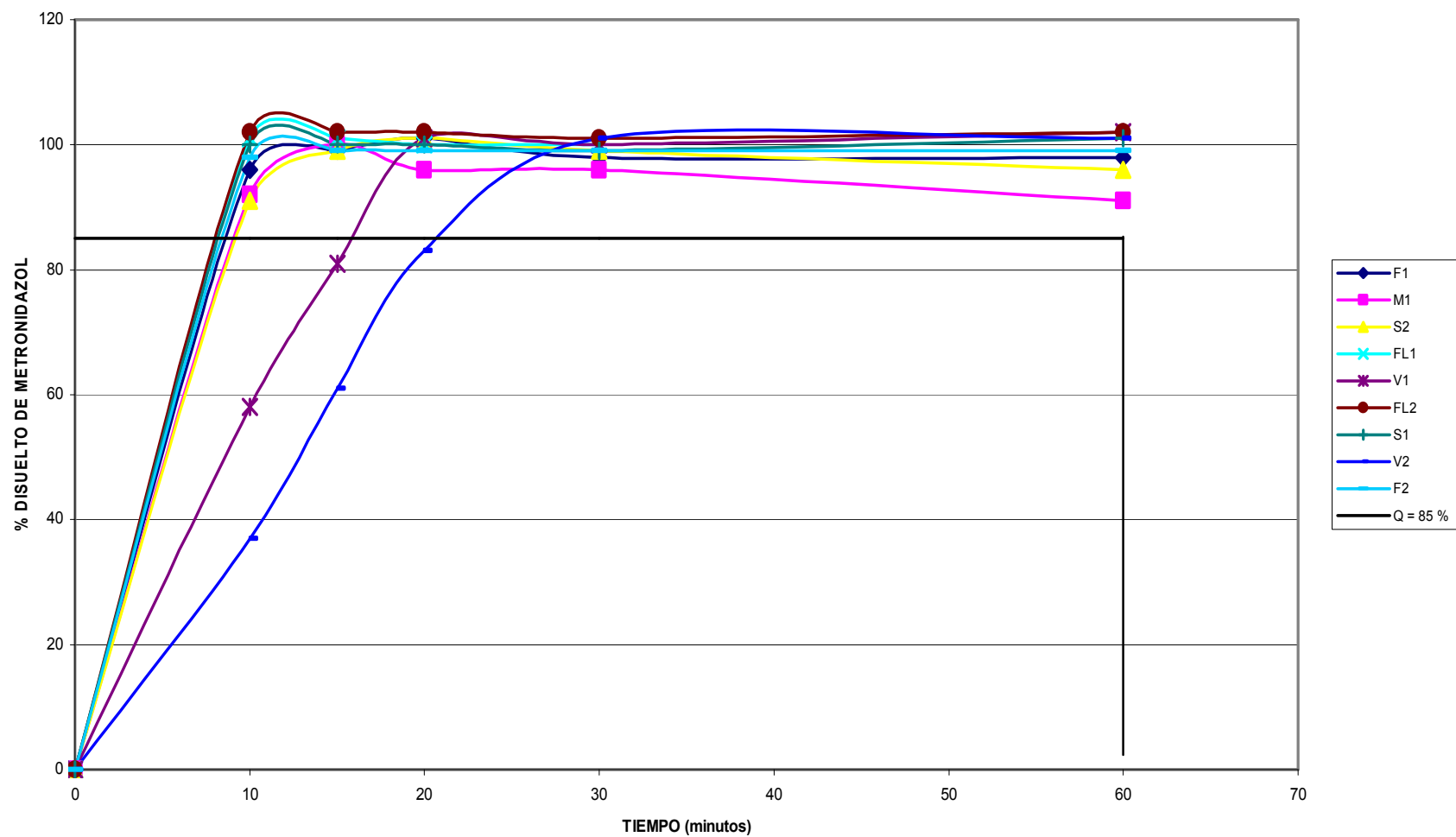


Figura 4. Perfiles de disolución de lotes en estudio

# ANÁLISIS DE RESULTADOS



# V

## PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD

La prueba de uniformidad de dosis (tabla 2) mostró que cada uno de los lotes evaluados se encuentran entre 85.0% - 115.0% de la cantidad de metronidazol indicada en el marbete con un coeficiente de variación menor a 6.0%

Las especificaciones para las pruebas de dureza y friabilidad son de 4 - 17 kp tomada como margen de los lotes estudiados y una pérdida de abrasión menor a 1.0% respectivamente por lo que los productos bajo estudio cumplen con lo indicado.

La variación de peso es un parámetro importante para el control de un proceso de fabricación de tabletas.



### **Validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol en el medio de disolución**

El método analítico para la cuantificación de metronidazol presentó una respuesta lineal en el intervalo de concentración de 2.5 µg/mL a 50.0 µg/mL con un coeficiente de correlación igual a 0.9998 (Figura 2), además fue preciso ya que se obtuvo un valor de coeficiente de variación de 1.7% y la especificación es de no mayor al 2%. Así mismo se demostró su especificidad con una solución de la muestra en el rango de 250-300 nm. Con base a los resultados obtenidos, se determinó que el filtro de teflón utilizado podría emplearse en los perfiles de disolución, ya que el valor de sesgo es menor al 5%. La muestra demostró ser estable a temperatura y luz ambiente durante 24 h.

Con base en los resultados obtenidos queda establecido que la capacidad del método satisface los requisitos necesarios para ser utilizado en la prueba de perfil de disolución del metronidazol.

De acuerdo a los criterios anteriores y tomando en cuenta que la monografía de metronidazol especifica  $Q = 85\%$  en 60 min, cuando se realizó el primer perfil de disolución a los lotes estudiados, se encontró que el 100% de ellos cumplieron con la especificación de la prueba de disolución como se muestra en la Figura 4.

Al comparar los perfiles de disolución de los productos V1 y V2 mediante el cumplimiento del factor de similitud que utilizando como referencia a un lote del producto innovador F2 se encontró que los perfiles de disolución de dichos lotes no presentaron curvas de disolución similares a los del producto innovador ya que su factor de similitud fue menor de 50 (tabla 9).

**Tabla 9. Valores obtenidos de Factor de similitud de los diferentes lotes estudiados, utilizando F2 como referencia**

Lote	Factor de similitud Similitud ( $f_2$ )	Similitud
F2	Rt	RT
V1	35	NO
V2	24	NO

Rt= Lote de referencia

# CONCLUSIONES



## VI

- Los productos estudiados conteniendo 250 mg de metronidazol cumplen con los requisitos de control de calidad que marca la farmacopea.
- El método analítico realizado para la cuantificación de metronidazol en el medio de disolución fue lineal, preciso y específico en el intervalo de concentración utilizado. Las muestras permanecieron estables durante 24 horas a temperatura, humedad y luz ambiente y el filtro utilizado no interfirió en el estudio de disolución, por lo que es un método analítico confiable para la cuantificación de metronidazol en el medio de disolución.
- Los resultados de los productos en estudio V1 y V2 muestran que su liberación fue más lenta y que no cumplieron con el factor de similitud que marca la NOM-177-SSA-1-1998 que establece los criterios y requisitos para demostrar la intercambiabilidad a que deben sujetarse los terceros autorizados para la realización de tales pruebas y su liberación fue más lenta que los demás lotes estudiados.
- Sería recomendable llevar a cabo un estudio de bioequivalencia con el fin de determinar si la prueba de disolución es confiable para estos productos.

# BIBLIOGRAFÍA



## VII

1. Bendesky, A. y Menéndez D. Metronidazol: Una visión integral. Revista de la Facultad de Medicina UNAM, Volumen 44, No. 6 Noviembre-Diciembre, 2001, pp 255-259
2. Organización Mundial de la Salud (OMS), Serie de Informes Técnicos, No. 863, 1996, pp 131, 132
3. Ley General de Salud, 1997, décimocuarta edición actualizada, Título decimosegundo, Capítulo IV, Artículo 225
4. F. Roman y A. Garzón. Disolución (Revisión bibliográfica), Primera Parte, Rev. Soc. Quim., México 1981, 25(3), pp 447-452
5. Hamed M. Abdou, Dissolution Bioavailability and Bioequivalence, Peennsylvania, EUA, 1989, Ed Mack, pp 11-16.
6. J.W. Morre and H.H. Flanner, Mathematical Comparison of Dissolution Profiles. Pharm. Technol, June 1996, pp. 64-69
7. The Merck Index, 13<sup>th</sup> edition, año 2001, pp 6181
8. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Edición 49, México 2003
9. G.D. Searle LLC, A subsidiary of Pharmacia Corporation. Chicago, IL,USA.  
August 2003
10. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM. Secretaría de Salud, México 7<sup>a</sup> edición 2000. pág.1267-1268, 245-251,1744

11. NOM-EM-003-SSA1-1998 Medicamentos Genéricos Intercambiables. Criterios y requisitos de las pruebas para demostrar la intercambiabilidad y requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados. Diario Oficial, 25-mayo-1998
12. NOM-177-SSA1-1998 Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable, Diario Oficial de la Federación; 07 de mayo de 1999.
13. Comité de elaboración de guías oficiales de validación “Requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos” Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C., pag. 1 – 67, México, 1986
14. Acuerdo por el que se adicionan la relación de especialidades farmacéuticas susceptibles incorporarse al catálogo de medicamentos genéricos intercambiables. pp 9
15. Abdou, M. Remington Farmacia 19<sup>a</sup> edición. Editorial Médica Panamericana 1998, pag. 867 – 872.
16. Cárdenas, H,L. Cortés A,L. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco, capítulos 3, 4 y 5.
17. Guía para la Industria. Prueba de disolución de formas farmacéuticas de dosificación orales sólidas de liberación inmediata. Departamento de Salud y servicios humanos de los Estados Unidos de Norte América, Agosto 1997, <http://www.fda.gov/cder>
18. Guía para la industria. Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo para formas posológicas orales sólidas de

- liberación inmediata en base a un sistema de clasificación de biofarmacéuticas. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Agosto 2000 <http://www.fda.gov/cder>
19. Dayamí Carrión Recio, Carlos Alberto González Delgado Bioequivalencia. Introducción a la correlación in vivo-in vitro. Parte I, Revista Cubana Farmacéutica 1999,33(2):137-42
  20. Dayamí Carrión Recio, Carlos Alberto González Delgado Bioequivalencia. Introducción a la correlación invivo - invitro. Parte II, Revista Cubana Farmacéutica 1999,33(3):201-7
  21. Johannsen, RL.Woods,TM , Metronidazole dosing standardization. ASHP Midiera Clinical Meeting 38(DEC):pp 513. 2003
  22. Y.S.R. Krishnaiah, Studies on the development of oral colon targeted drug delivery systems for metronidazole in the treatment of amoebiasis. International Journal of Pharmaceutical. 236. pp 43-55. 2002
  - 23.Perioli, Luana. Novel mucoadhesive bucal formulation containing metronidazole for the treatment of periodontal disease. Journal of Controlled Release. 95. pp 521-533. 2004
  24. Marcos J.María del Socorro. Manual para la elaboración de Tesis. México Trillas 1997.
  - 25.- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud, México 8ª edición; 2004. pág.1983 – 1985
  - 26.- Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica; 9ª ed. Vol II, Editorial Mc Graw Hill – Interamericana , 1996, pag- 1058 – 1060



# APÉNDICES



## APÉNDICE I

### Cálculos para evaluar la linealidad, precisión y estabilidad del método analítico.

1) Tabular los resultados de acuerdo con el siguiente formato:

Concentración de la dilución de la solución patrón ( $X_{ij}$ )			Respuesta ( $Y_{ij}$ )		
$X_{11},$	$X_{12}, \dots$	$X_{1n}$	$Y_{11},$	$Y_{12}, \dots$	$Y_{1n}$
$X_{21},$	$X_{22}, \dots$	$X_{2n}$	$Y_{21},$	$Y_{22}, \dots$	$Y_{2n}$
$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
$X_{t1},$	$X_{t2}, \dots$	$X_{tn}$	$Y_{t1},$	$Y_{t2}, \dots$	$Y_{tn}$

Donde:

t = número de diluciones

n = número de repeticiones de cada dilución de la solución patrón.

2) Calcular los siguientes estadísticos:

$$n, x, y, \sum x, \sum y, \sum x^2, \sum y^2, \sum xy, S_x, S_y$$

$$\sum x = n(x_1 + x_2 + \dots + x_i)$$

$$\sum y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} + \dots + y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\sum x^2 = n(x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_i^2)$$

$$\sum y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 + y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\sum xy = x_1(y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n}) + x_2(y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n}) + \dots + x_t(y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn})$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{t}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{nt}$$

$$A = \bar{y} - B\bar{x}$$

$$B = \frac{\sum xy - nt\bar{x}\bar{y}}{\sum x^2 - nt(\bar{x})^2}$$

donde:

$x$  = media de los datos en  $x$  (concentración)

$y$  = media de los datos en  $y$  (respuesta obtenida)

$\sum x$  = sumatoria de los datos en  $x$

$\sum y$  = sumatoria de datos en  $y$

$\sum x^2$  = sumatoria de los datos al cuadrado en  $x$

$\sum y^2$  = sumatoria de los datos al cuadrado en  $y$

$\sum xy$  = sumatoria del producto concentración-respuesta obtenida para cada par de datos

$S_x$  = desviación estándar de  $x$  a  $n - 1$

$S_y$  = desviación estándar de  $y$  a  $n - 1$

$A$  = ordenada al origen

$B$  = pendiente

3) Cálculos finales para coeficiente de correlación ( $r$ ) y error relativo debido a la regresión ( $S_{y/x,r}$ )

Coeficiente de correlación

$$r = \frac{\sum xy - nt\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{[\sum x^2 - nt(\bar{x})^2][\sum y^2 - nt(\bar{y})^2]}}$$

Error relativo debido a la regresión

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - A\sum y - B\sum xy}{nt - 2}}$$

$$CV = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100$$

## Precisión de Sistema

1) Calcular para cada punto de la linealidad del sistema, el factor de respuesta ( $f$ )

$$f = \frac{\text{Respuesta o propiedad medida } (y_{ij})}{\text{Concentración patrón } (X_{ij})}$$

$$f_{11} = \frac{y_{11}}{x_{11}}$$

$$f_{12} = \frac{y_{12}}{x_{12}}$$

$$f_{1n} = \frac{y_{1n}}{x_{1n}}$$

·  
·  
·

$$f_{t1} = \frac{y_{t1}}{x_{t1}}$$

$$f_{t2} = \frac{y_{t2}}{x_{t2}}$$

$$f_m = \frac{y_m}{x_m}$$

2) Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados de factores y la media del factor:

$$\sum f = f_{11} + f_{12} + f_{1n} + \dots + f_{t1} + f_{t2} + f_m$$

$$\sum f^2 = f_{11}^2 + f_{12}^2 + f_{1n}^2 + \dots + f_{t1}^2 + f_{t2}^2 + f_m^2$$

$$\bar{f} = \frac{\sum f}{nt}$$

3) Calcular el coeficiente de variación

$$DE = \sqrt{\frac{(\sum f^2) - nt(\bar{f})^2}{nt - 1}}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{f}} \times 100$$

**Estabilidad.** Obtener promedio, desviación estándar y desviación estándar relativa también conocida como coeficiente de correlación.

$$\begin{aligned} X^{\wedge} &= \sum_{n-1}^n X_i / n \\ S &= [S (X_i - X^{\wedge})^2 / n-1]^{1/2} \\ CV \% &= 100 S / X^{\wedge} \end{aligned}$$

$X^{\wedge}$  = promedio

S = desviación estándar de la muestra

CV %= Coeficiente de variación

$X_i$  = valor de datos individuales

n = número total de datos

**Interferencia del filtro** .Obtener el porcentaje de sesgo, es decir, el porcentaje de diferencia en la recuperación entre las soluciones filtradas y las no filtradas.

$$\begin{aligned} D &= Abs_1 - Abs_i \\ D^{\wedge} &= S \sum_{n-1}^n D_i / n \\ \% \text{ sesgo} &= \{ [ S \sum_{n-1}^n (D_i - D^{\wedge})^2 / n-1 ] * 100 / D^{\wedge} \} \end{aligned}$$

D=diferencia

Abs<sub>1</sub>= absorbancia de la muestra sin filtrar

Abs<sub>i</sub> = absorbancia individuales de las muestras filtradas.

D<sub>i</sub>= valores individuales de las diferencias

D<sup>^</sup>= diferencia promedio

n= número de filtrados

### **Ecuación para determinar el factor de Similitud**

- Para cada tiempo de muestreo, obtener el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.
- Obtener el factor de similitud entre los perfiles los productos de prueba y el perfil del producto de referencia mediante la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - P_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$f_2$  = factor de similitud.

$R_t$  = valor de disolución del lote de referencia al tiempo t.

$P_t$  = valor de disolución del lote de prueba al tiempo t.

## APÉNDICE II

Resultados individuales de % disuelto de cada uno de los productos bajo estudio.

$$Q = 85\% + 5\% = 90\%$$

### Lote F1

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	86	99	103	97	98
2	101	100	101	98	100
3	87	100	99	98	90
4	101	100	102	102	103
5	99	90	102	100	101
6	99	103	96	94	97
Media	96	99	101	98	98
D.E.	7.036	4.457	2.588	2.714	4.535
C.V.	7.4	4.5	2.6	2.8	4.6

### Lote F2

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	100	99	99	99	100
2	100	99	100	99	102
3	98	99	100	100	98
4	97	100	101	100	100
5	98	99	101	99	98
6	98	100	96	99	100
Media	98	99	99	99	99
D.E.	1.216	0.934	2.063	0.806	0.985
C.V.	1.2	0.9	2.0	0.8	1.0

**Lote M1**

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	96	99	98	97	93
2	78	100	99	97	92
3	100	99	97	91	88
4	96	97	82	96	89
5	84	102	107	95	94
6	99	100	95	98	91
Media	92	100	96	96	91
D.E.	8.998	1.643	8.140	2.503	2.317
C.V.	9.8	1.7	8.5	2.6	2.5

**Lote S1**

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	102	99	99	98	99
2	97	97	99	97	99
3	103	102	103	103	104
4	99	101	103	103	101
5	104	106	103	103	107
6	96	95	94	94	95
Media	100	100	100	99	101
D.E.	3.446	3.732	3.546	3.584	4.260
C.V.	3.4	3.7	3.5	3.6	4.2



**Lote S2**

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	88	97	100	98	94
2	93	99	100	95	97
3	92	100	102	100	97
4	96	103	105	103	99
5	92	103	102	100	97
6	85	94	95	97	93
Media	91	99	101	99	96
D.E.	3.846	2.814	3.286	2.775	2.226
C.V.	4.2	2.8	3.3	2.8	2.3

**Lote FL1**

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	99	101	100	100	96
2	103	103	101	100	99
3	100	103	101	100	100
4	102	101	100	102	102
5	100	99	98	97	85
6	100	101	100	99	98
Media	101	101	100	100	97
D.E.	1.506	1.506	1.095	1.633	6.055
C.V.	1.5	1.5	1.1	1.6	6.3

**Lote FL2**

		% Disuelto				
		Tiempo de muestreo (min)				
Vaso		10	15	20	30	60
1		102	101	103	103	102
2		100	99	97	99	99
3		104	103	103	99	103
4		101	103	105	102	103
5		100	104	103	103	105
6		104	104	103	101	100
Media		102	102	102	101	102
D.E.		1.669	2.010	2.616	1.984	1.996
C.V.		1.6	2.0	2.5	2.0	1.9

**Lote V1**

		% Disuelto				
		Tiempo de muestreo (min)				
Vaso		10	15	20	30	60
1		54	79	102	99	103
2		50	78	99	100	101
3		50	80	101	100	102
4		78	81	100	101	102
5		59	90	101	99	102
6		59	81	103	103	101
Media		58	81	101	100	102
D.E.		10.301	4.408	1.323	1.412	0.604
C.V.		17.7	5.4	1.3	1.4	0.6

**Lote V2**

	% Disuelto				
	Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60
1	46	69	94	99	102
2	42	67	89	102	99
3	35	60	81	104	102
4	29	52	69	103	102
5	40	63	88	97	101
6	31	53	75	102	101
Media	37	61	83	101	101
D.E.	6.616	7.062	9.438	2.639	1.169
C.V.	17.8	11.6	11.4	2.6	1.2

## APÉNDICE III

### Cálculos del porcentaje disuelto en los perfiles de disolución

Las absorbancias de las muestras se interpolaron en una curva de calibración preparada el mismo día para obtener el valor de concentración.

El porcentaje de principio activo disuelto a los diferentes tiempos de muestreo se determinó de la siguiente manera:

Cálculo del porcentaje disuelto con reposición del medio de disolución.

- a) Los miligramos del principio activo disueltos en el volumen de muestra tomada al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo ( $E_i$ ) se calcularon de la siguiente manera.

$$E_i = (X_i)(v)(Fd)$$

donde:

$$X_i = \frac{Y_i - A}{B}$$

donde:

$E_i$  = miligramos del principio activo disuelto en el volumen de muestra tomada al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

$X_i$  = concentración del principio activo (mg/mL) al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

$Fd$  = Factor de dilución de la muestra

$v$  = volumen de muestra tomada.

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

$A$  = Ordenada al origen de la curva de calibración.

$B$  = Pendiente de la curva de calibración

- b) Una vez calculados los miligramos disueltos se calcularon los miligramos del principio activo disueltos al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo ( $D_i$ ), empleando la siguiente fórmula.

$$D_i = (X_i)(V_0) + \sum_{i=0}^{N-1} E_i$$

donde:

$D_i$  = miligramos del principio activo disueltos al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo

$X_i$  = concentración del principio activo mg/ml al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

$V_0$  = volumen inicial del medio de disolución.

$E_i$  = miligramos de principio activo disuelto en el volumen de muestra tomada al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

- c) El porcentaje disuelto al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo ( $\%D_i$ ), se calculó de la siguiente manera:

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

donde:

$\% D_i$  = por ciento disuelto del principio activo al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

$D_i$  = miligramos del principio activo al  $i$ -ésimo tiempo de muestreo.

Dosis= miligramos del principio activo indicados en la etiqueta.

## APÉNDICE IV

Cálculos de uniformidad de dosis

$$\frac{\text{Abs mta}}{\text{Prom Abs std}} \times \frac{\text{P. std}}{50 \text{ mL}} \times \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times \frac{250 \text{ mL}}{\text{masa actv}} \times \frac{50 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times \frac{100 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times \text{pureza Std}$$

Abs mta = Absorbancia de la muestra.

Prom Abs std = Promedio de la absorbancia del estándar.

P std = Peso del estándar

masa activ= Masa del principio activo en la etiqueta.

pureza std = Pureza del estándar

Friabilidad

$$\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 = \text{No mayor al 1\%}$$

donde:

$P_i$  = Peso inicial

$P_f$  = Peso final

**Lote F1**

		Absorbancia				
		Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60	
1	0.845	0.974	1.001	0.955	0.959	
2	0.996	0.985	0.969	0.962	0.979	
3	0.858	0.974	0.934	0.953	0.878	
4	1.000	0.972	0.991	0.998	0.997	
5	0.977	0.880	0.997	0.978	0.988	
6	0.980	1.010	0.942	0.924	0.951	

**Lote F2**

		Absorbancia				
		Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60	
1	0.989	0.970	0.968	0.976	0.983	
2	0.989	0.994	0.984	0.972	0.987	
3	0.962	0.965	0.975	0.974	0.959	
4	0.959	0.980	0.990	0.980	0.972	
5	0.969	0.971	0.981	0.968	0.959	
6	0.969	0.979	0.940	0.962	0.983	

**Lote M1**

		Absorbancia				
		Tiempo de muestreo (min)				
Vaso	10	15	20	30	60	
1	0.953	0.982	0.968	0.961	0.918	
2	0.777	0.993	0.978	0.961	0.909	
3	0.999	0.979	0.956	0.898	0.867	
4	0.952	0.953	0.811	0.947	0.878	
5	0.840	1.003	1.061	0.939	0.924	
6	0.988	0.995	0.936	0.967	0.897	

**Lote S1**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	0.882	0.967	0.992	0.972	0.938
2	0.933	0.989	0.996	0.945	0.963
3	0.924	0.996	1.016	0.992	0.962
4	0.957	1.021	1.045	1.025	0.984
5	0.922	1.054	1.015	0.993	0.964
6	0.851	0.940	0.947	0.965	0.922

**Lote S2**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	1.023	0.988	0.992	0.977	0.983
2	0.972	0.972	0.993	0.965	0.986
3	1.038	1.013	1.025	1.024	1.040
4	0.993	1.005	0.991	0.998	1.009
5	1.043	1.057	1.029	1.023	1.064
6	0.962	0.950	0.938	0.943	0.946

**Lote FL1**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	0.969	0.989	0.975	0.979	0.950
2	1.011	1.003	0.988	0.980	0.978
3	0.983	0.996	0.984	0.970	0.969
4	1.001	0.979	0.967	0.988	0.986
5	0.983	0.963	0.948	0.945	0.827
6	0.986	0.984	0.976	0.962	0.969



**Lote FL2**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	1.002	0.979	1.000	1.000	0.988
2	0.981	0.962	0.945	0.963	0.967
3	1.016	0.993	0.994	0.955	0.993
4	0.992	0.993	1.013	0.991	1.001
5	1.011	1.005	0.995	1.000	1.004
6	1.018	1.013	1.007	0.979	0.976

**Lote V1**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	0.531	0.773	1.003	0.974	1.011
2	0.494	0.768	0.977	0.980	0.996
3	0.494	0.776	0.989	0.978	0.998
4	0.525	0.788	0.979	0.983	0.999
5	0.581	0.879	0.982	0.969	0.997
6	0.587	0.793	1.012	1.012	0.994

**Lote V2**

Absorbancia					
Tiempo de muestreo (min)					
Vaso	10	15	20	30	60
1	0.451	0.671	0.916	0.963	0.999
2	0.414	0.653	0.870	0.995	0.965
3	0.342	0.578	0.788	1.008	0.992
4	0.280	0.500	0.667	1.003	0.990
5	0.394	0.607	0.849	0.946	0.981
6	0.307	0.519	0.729	0.997	0.991

## APÉNDICE V

Resultados de estabilidad de la muestra a distintos tiempos

Concentración n	Inicio (hora cero)			Promedio	Desv.est	% C.V.
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
2.5	0.092	0.092	0.093	0.0923	0.00058	0.63
10	0.366	0.367	0.37	0.3677	0.00208	0.57
50	1.765	1.78	1.767	1.7707	0.00814	0.46
<b>1 Hora</b>						
2.5	0.091	0.095	0.086	0.0907	0.00451	4.97
10	0.365	0.37	0.363	0.3660	0.00361	0.99
50	1.81	1.813	1.83	1.8177	0.01079	0.59
<b>2 Horas</b>						
2.5	0.094	0.098	0.09	0.0940	0.00400	4.26
10	0.367	0.367	0.366	0.3667	0.00058	0.16
50	1.813	1.813	1.771	1.7990	0.02425	1.35
<b>3 Horas</b>						
2.5	0.092	0.094	0.092	0.0927	0.00115	1.25
10	0.369	0.368	0.369	0.3687	0.00058	0.16
50	1.81	1.83	1.774	1.8047	0.02838	1.57
<b>4 Horas</b>						
2.5	0.091	0.093	0.09	0.0913	0.00153	1.67
10	0.37	0.367	0.361	0.3660	0.00458	1.25
50	1.803	1.823	1.759	1.7950	0.03274	1.82
<b>24 Horas</b>						
2.5	0.097	0.095	0.095	0.0957	0.00115	1.21
10	0.366	0.367	0.374	0.3690	0.00436	1.18
50	1.79	1.777	1.759	1.7753	0.01557	0.88